

# Računalno istraživanje utjecaja tautomerije na vezanje formicina A u aktivno mjesto purinske nukleozid fosforilaze iz bakterije *Helicobacter pylori* ; Vizualizacija u nastavi kemije

---

Miladinović, Tin

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:701884>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Kemijski odsjek

Tin Miladinović

**Računalno istraživanje utjecaja tautomerije na  
interakcije formicina A s purinskom nukleozid  
fosforilazom iz bakterije *Helicobacter pylori***

**Vizualizacija u nastavi kemije**

**Diplomski rad**

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistra kemije

Zagreb, 2020.



Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za fizikalnu kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Branimira Bertoše

Metodički dio ovog diplomskog rada izrađen je u Zavodu za opću i anorgansku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Nenada Judaša.



## Zahvale

Najviše mojoj majci, čija ljubav, trud i posvećenost su me oblikovale u osobu kakva sam danas.

Mojim mentorima, Branimiru Bertoši, Nenadu Judašu i Marijanu Vargi, na nevjerojatnoj količini strpljenja koju su pokazali u godinama rada sa mnom kao profesori, mentori i ljudi.

Prijateljima i kolegama Marku Tominu, Luki Biliću i Mirni Kramar, čiji savjeti su uvelike olakšali sve dijelove procesa studiranja i pisanja ovog diplomskog, te mog života općenito.

Meliti Malezan-Jurić na skriptama koje su mi uvelike olakšale obradu podataka i na puno pruženih poduka iz života.

Ovaj rad posvećujem svom ocu, Radivoju Miladinoviću, kojeg nam je rak oduzeo 22. svibnja 2018.



# Sadržaj

<b>SAŽETAK.....</b>	<b>X</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XII</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>14</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED.....</b>	<b>15</b>
2.1. <b>Sinteza DNA.....</b>	<b>15</b>
2.2. <b>Purinska nukleozid fosforilaza (PNP).....</b>	<b>16</b>
2.2.1. <i>Purin nukleozid fosforilaza Helicobacter pylori.....</i>	<i>17</i>
2.3. <b>Formicin.....</b>	<b>18</b>
2.4. <b>Računalne metode.....</b>	<b>20</b>
2.4.1. <i>Polja sila.....</i>	<i>21</i>
2.4.2. <i>Metode analize promjene konformacije.....</i>	<i>23</i>
2.4.3. <i>Priprema proteina i liganada za simulaciju molekularne dinamike.....</i>	<i>24</i>
<b>§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>25</b>
3.1. <b>Priprema proteinâ i liganada.....</b>	<b>25</b>
3.2. <b>Analiza trajektorija.....</b>	<b>27</b>
3.2.1. <i>Konformacijske promjene.....</i>	<i>27</i>
3.2.2. <i>Vodikove veze.....</i>	<i>28</i>
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>29</b>
4.1. <b>Konformacijske promjene.....</b>	<b>29</b>
4.2. <b>Interakcije hidrogenfosfata.....</b>	<b>31</b>
4.2.1. <i>Interakcije hidrogenfosfata s proteinom.....</i>	<i>31</i>
4.2.2. <i>Interakcije hidrogenfosfata s ligandom.....</i>	<i>32</i>
4.3. <b>Interakcije različitih tautomera s aminokiselinama aktivnog mjesta.....</b>	<b>34</b>
<b>§ 5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>37</b>
<b>§ 6. METODIČKI DIO – VIZUALIZACIJA U NASTAVI KEMIJE.....</b>	<b>38</b>
„Slika govori 1000 riječi.“ .....	38
6.1. <b>Vizualizacija.....</b>	<b>38</b>
6.2. <b>Kurikulum za kemiju i vizualizacija.....</b>	<b>42</b>
6.3. <b>Vizualizacija u kemijskim udžbenicima.....</b>	<b>46</b>
6.4. <b>Prijedlog i objašnjenje ciljanih metoda vizualizacije.....</b>	<b>46</b>
6.5. <b>Objašnjenje predloženog nastavnog sata.....</b>	<b>47</b>



---

§ 7. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	50
§ 8. LITERATURNI IZVORI.....	51
§ 9. DODATAK.....	XV
§ 10. ŽIVOTOPIS.....	XXIV





Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Diplomski rad

## SAŽETAK

### Računalno istraživanje utjecaja tautomerije na interakcije formicina A s purinskom nukleozid fosforilazom iz bakterije *Helicobacter pylori*

#### Vizualizacija u nastavi kemije

Tin Miladinović

*Helicobacter pylori* je gram-negativna bakterija koja živi u želucu sisavaca te se procjenjuje da nastanjuje želuce preko polovice ljudske populacije. Iako je četiri petina zaraženih asimptomatsko, *H. pylori* je identificirana kao uzročnik više bolesti gastrointestinalnog trakta, uključujući i rak. Trenutni je tretman, koji uključuje kombinaciju nekoliko antibiotika kroz više tjedana, skup i agresivan. U potrazi za mogućim novim lijekom, računalnim simulacijama proučava se vezanje različitih spojeva u vezna mjesta ključnih makromolekula bakterije. Formicin A, strukturni analogon adenoizina, jedan je od spojeva koji potencijalno pruža mogućnost eliminacije *H. pylori* bez štetnih posljedica za organizam domaćina. Formicin A djeluje kao inhibitor purinske nukleozid fosforilaze iz bakterije *H. pylori*, proteina ključnog za obnovu purinskih DNA baza, a time i replikaciju *H. pylori*. Kako bismo obogatili razumijevanje interakcijskih mehanizama purinske nukleozid fosforilaze s inhibitorima tog proteina, u ovom radu istražene su interakcije različitih tautomernih oblika formicina A s purinskom nukleozid fosforilazom korištenjem računalnih simulacija.

Nastava kemije je zahtjevna – fenomene opažene na makroskopskoj razini potrebno je tumačiti na atomsko-molekularnoj razini. Drugim riječima, ono dostupno osjetilima potrebno je tumačiti promjenama na razini koju ne vidimo. Svaki način vizualizacije problema dobrodošao je u nastavi kemije. Osnovnoškolski i srednjoškolski nastavni programi iz kemije obiluju sadržajima čije je usvajanje olakšano uporabom vizualizacijskih didaktičkih sredstava i materijala. Cilj ovog diplomskog rada bio je osmišljavanje nastavne strategije koja će računalnim programom vizualizirati prostornu građu molekula. Pripremljen je potrebni nastavni materijal i razrađen prijedlog jednog 90-minutnog nastavnog sata utemeljenog na nastavnoj strategiji učenja otkrivanjem, koji može poslužiti kao predložak za uključivanje ovakvih nastavnih sadržaja u svakodnevnu nastavnu praksu.

(51 stranica, 17 slika, 6 tablica, 51 literaturni navod, jezik izvornika: Hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: formicin, *H. pylori*, modeliranje, pnp, tautomerija, vizualizacija

Mentor istraživačkog dijela: izv. prof. dr. sc. Branimir Bertoša

Mentor metodičkog dijela: izv. prof. dr. sc. Nenad Judaš

Ocjenitelji:

1. izv. prof. dr. sc. Branimir Bertoša
  2. izv. prof. dr. sc. Nenad Judaš
  3. prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić
  4. doc. dr. sc. Ivan Kodrin
- Zamjena: prof. dr. sc. Davor Kovačević

Datum diplomskog ispita: 26. veljače 2020.







University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Diploma Thesis

## ABSTRACT

### **Computational investigation the effect of tautomerisation of formycin A with *Helicobacter pylori* Purine nucleoside phosphorylase**

#### **Visualisation in chemistry teaching**

Tin Miladinović

*Helicobacter pylori* is a gram-negative bacteria that lives in the gastrointestinal tracts of mammals including humans. Even though hosts of *H. pylori* are mostly asymptomatic, there is a clear link between *H. pylori* and several gastrointestinal diseases, including cancer. Current treating methods are expensive, aggressive and involve taking several combined antibiotics over a period of several weeks. Developments in computer technology allow in silico methods for testing the viability of various molecules as inhibitors of key macromolecules in the metabolisms of pathogenic bacteria. *H. pylori* relies on a protein called Purine nucleoside phosphorylase to regenerate its DNA bases for replication, making it a key component and a target for inhibition. This thesis uses methods of molecular modeling to investigate the effect of tautomerisation on the inhibitive powers of formycin A, adenosines structural analogue and a known inhibitor of purine nucleoside phosphorylase.

Teaching chemistry is challenging, as it requires the interpretation of macroscopic phenomena on an atomic/molecular level. In other words, we need to interpret a visible change in terms of something invisible to the naked eye. Therefore, when teaching chemistry, any visualisation methods are welcome. The purpose of this thesis was to develop a teaching strategy that relies on the application of computer software to visualise the spatial structure of molecules. A single, 90 minute lesson based on the strategy of learning by discovery was developed to serve the purpose of introducing of modern visualisation techniques into the common teaching practice.

(51 pages, 17 figures, 6 tables, 51 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: formycine, *H. pylori*, modelling, pnp, tautomersation, visualisation

Mentor: Dr. Branimir Bertoša, Associate Professor

Mentor: Dr. Nenad Judaš, Associate Professor

Reviewers:

1. Dr. Branimir Bertoša, Associate Professor
  2. Dr. Nenad Judaš, Associate Professor
  3. Dr. Iva Juranović Cindrić, Professor
  4. Dr. Ivan Kodrin, Assistant Professor
- Substitute: Dr. Davor Kovačević, Professor

Date of exam: 26th of February 2020.

## § 1. UVOD

*Helicobacter pylori* je Gram-negativna bakterija koja živi u gornjem djelu gastrointestinalnog trakta sisavaca.<sup>1</sup> Rod *Helicobacter* trenutno raspoznaje oko 40 vrsta, među kojima je najpoznatija *Helicobacter pylori*, za čije otkriće i ulogu u gastritisu i želučanim čirevima su 2005. godine australski znanstvenici Robin Warren i Barry Marshall dobili Nobelovu nagradu iz medicine.<sup>2</sup> Procjene su da je prisutnost *H. pylori* kod ljudi iznad 50% te je preko 85% zaraženih asimptomatsko.<sup>3</sup> Iako dominantan, *H. pylori* nije jedini pripadnik roda *Helicobacter* nađen u ljudima; identificirano je još 5 vrsta koje su identificirane kao uobičajeni dio mikroflore želuca životinja.<sup>1,2</sup> Također, *H. pylori* nije isključivo nađena kod ljudi, već je nađena i u većim životinjama koje žive s ljudima (svinjama, teladi, konjima), no ne i u kokošima, zečevima i psima.<sup>4</sup> Nađeno je nekoliko infekcija u mačkama.<sup>5</sup>

Za ljude zaražene *H. pylori*, očekivani rizik za razvijanje želučanog čira za vrijeme života je 10-20% dok je rizik za rak želuca 1-2%. Trenutne opcije za liječenje uključuju dvotjedne programe koji kombiniraju antibiotike kao što su amoksicilin i klaritromicin s inhibitorima protonskih pumpi, lijekovima za smanjenje lučenja želučane kiseline; terapiju solima bizmuta te sekvencijalna terapija u kojoj se izmjenjuju različiti antibiotici i ostali lijekovi. Učinkovitosti terapija su podjednake te ovise o područnim rezistencijama na antibiotike, no uspješnost čak i najagresivnijih metoda je ispod 90%. S obzirom na rastuće rezistencije na antibiotike, potraga za novim lijekovima i načinima terapije je nužna.<sup>6</sup> Premda se na *H. pylori* gleda kao na štetnu vrstu, postoje indikacije da prisutnost *H. pylori* može pozitivno djelovati na astmu, rinitis i dermatitis.<sup>7</sup>

Istraživanje novih lijekova skup je i dugotrajan proces. Kada bismo sintetizirali i izolirali sve moguće kandidate za lijek te ih testirali na živim sustavima, potrošili bismo veliku količinu vremena i resursa. Srećom, znanstvenici su paralelno razvoju računalne tehnologije razvili računalne metode proučavanja kemijskih sustava i time djelomično premjestili kemiju iz laboratorija na računala. Koristeći računalne metode možemo drastično suziti izbor spojeva koje ima smisla sintetizirati u laboratorijima i testirati na živim sustavima što značajno skraćuje vrijeme pronalaska i uložene resurse.

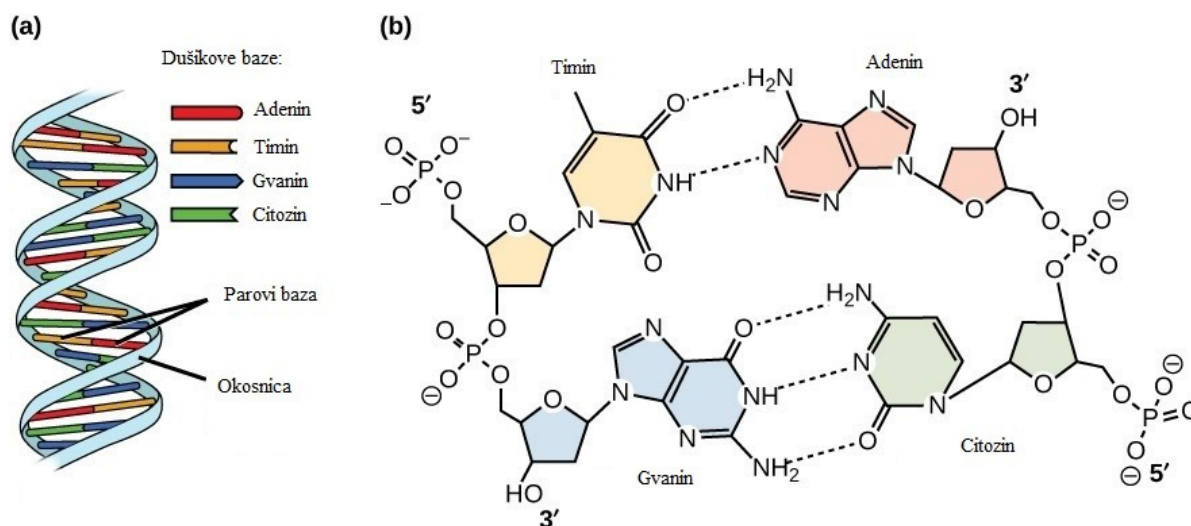
U ovom radu korištene su računalne metode molekularne mehanike i molekularne dinamike kako bi se bolje istražio utjecaj formicina A, od prije poznatog strukturnog analogona adenzina, na purinsku nukleozid fosforilazu, protein koji je ključan u replikacijskom metabolizmu bakterije *H. pylori*



## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Sinteza DNA

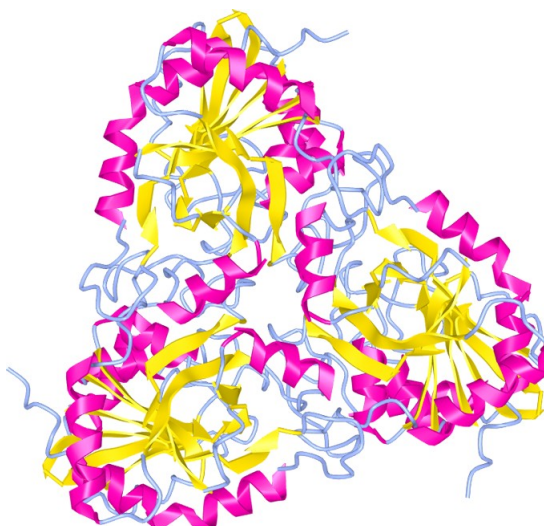
Deoskiribonukleniska kiselina (DNA) je molekula građena od dvaju nukleotidnih lanaca povezanih u dvostruku uzvojnici vodikovim vezama između komplementarnih parova baza. Svaki lanac se sastoji od šećernog mosta i četiri baze, dvije purinske (A, G) i dvije pirimidinske (T, C). U komplementarnim parovima uvijek sudjeluju jedna pirimidinska i jedna purinska baza (Slika 1). Između adenina (A) i timina (T) nastaju dvije vodikove veze, dok između citozina (C) i guanina (G) nastaju tri vodikove veze. S obzirom na udio različitih parova baza se mijenja i lokalna jačina interakcije između lanaca DNA. Na stabilnost dvostruke uzvojnice djeluju i  $\pi$ - $\pi$  interakcije (eng. *stacking*) između  $\pi$  elektrona aromatskih prstenova dušikovih baza u DNA.



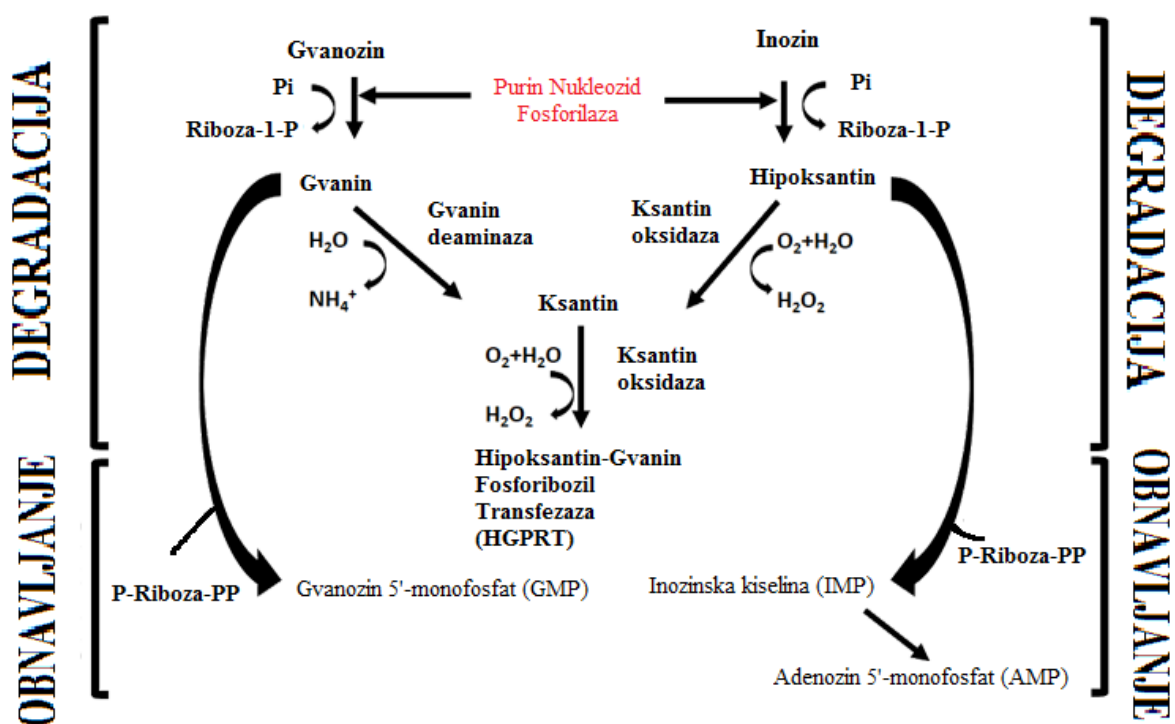
Slika 1. Struktura DNA: a) shematska struktura dvostruke uzvojnice, b) struktura dušikovih baza i vodikovih veza. Prilagođeno i prevedeno prema literaturnom izvoru, preuzeto s [https://www.oercommons.org/courseware/module/15002/student/#fig-ch14\\_02\\_03](https://www.oercommons.org/courseware/module/15002/student/#fig-ch14_02_03). Pristupljeno 31.12.2019.

Funkcija molekule DNA je pohrana i prijenos informacija potrebnih za izgradnju i održavanje svakog živog bića. Koliko je trenutno poznato, sav život na Zemlji koristi DNA za prijenos i pohranu informacija, te za dekodiranje informacija koristi identičan kod sastavljen od četiri baze i čitan u tripletima, tj. tri po tri uzastopne baze. DNA kod sadrži 64 permutacije i redundantno kodira za 20 aminokiselina. Nukleotidi potrebni za sintezu DNA dolaze iz dva izvora: sinteze *de novo* ili obnavljajućeg puta (eng. *salvaging pathway*). Sinteza *de novo* je metabolički skuplja te je poznato da organizmi koji imaju pristup oba puta preferiraju obnavljajući put umjesto *de novo* sinteze.<sup>8</sup> Neki organizmi, kao što su pripadnici reda *Helicobacter*, nemaju sposobnost *de novo* sinteze već ovisi u potpunosti o obnavljajućem putu što ključne makromolekule u tom procesu čini potencijalnim metama za djelovanje antibiotika.<sup>9</sup>

Purinska nukleozid fosforilaza (*Purine Nucleoside Phosphorylase*, EC 2.4.2.1. dalje u tekstu PNP) je protein prisutan u svim živim bićima. Njegova primarna uloga je reverzibilna kataliza fosforilacije, prvog koraka obnavljajućeg puta purinskih baza koje se potom koriste za sintezu DNA. Osim toga, ima i uloge u metabolizmu nikotinamid ribozida.<sup>10</sup> Kod svih sisavaca, pa tako i kod ljudi, PNP tvori homotrimer (Slika 2). Svaka podjedinica je mase oko 31 kDa te svaka podjedinica ima jedno aktivno mjesto. Kod ljudi, enzim PNP je kodiran u genu veličine 7716 parova baza (NCBI Homo sapiens Annotation Release 108). Može se naći u gotovo svim stanicama i tkivima, no najveće koncentracije nalazimo u perifernim krvnim stanicama, granulocitima krvi i limfoidnom tkivu. Prisutan je i u citosolu i u mitohondrijima. Kao supstrate prima gvanozin i inozin te njihove deoksi- analoge. Iako je sinteza nukleotida termodinamički povoljnija od fosforilacije, djelovanje enzima PNP je upareno s nekoliko dodatnih reakcija: 1.) fosforibozilacijom purina s pomoću hipoksantin-gvanin fosforibozil transferaze (HGPRT) uz fosforibozil pirofosfat (PRPP) kao supstrat, i 2.) oksidacijom purina s pomoću ksantin oksidaze (Slika 3). Budući da je *E. coli* modelni organizam za bakterije, PNP *E. coli* najbolje je istražena bakterijska varijanta proteina.<sup>11</sup>



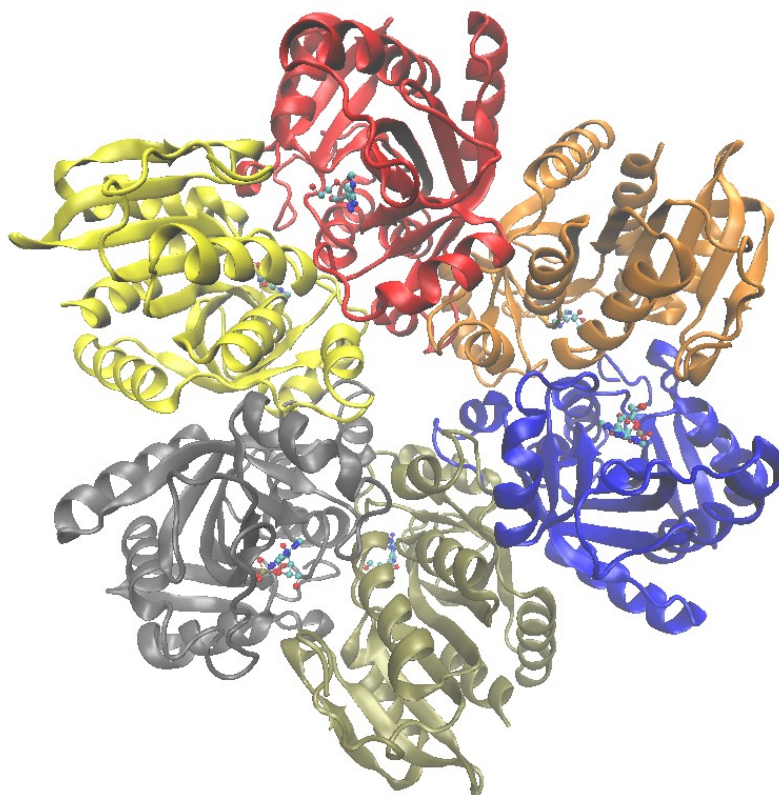
Slika 2. Struktura ljudskog enzima PNP dobivena difrakcijom X-zraka. Ružičastom bojom obojene su  $\alpha$ -uzvojnice, žutom  $\beta$ -ploče, svijetlo plavom petlje. (PDB ID: 3BGS)



Slika 3. Putevi razgradnje purinskih nukleozida. Prevedeno i prilagođeno prema literaturnom izvoru, preuzeto s [http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC\\_PNP.html](http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_PNP.html) Pristupljeno 20.2.2020.

2.2.1. Purin nukleozid fosforilaza *Helicobacter pylori*

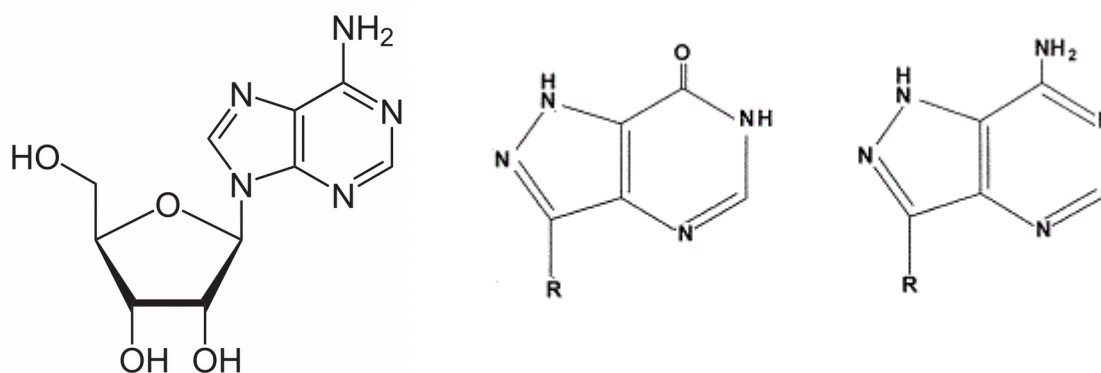
Enzim PNP u *H. pylori* (dalje u tekstu *HpPNP*) dolazi u heksamernom obliku. Svaki monomer se sastoji od 233 aminokiseline i masa mu je 25786 Da. Svaki monomer ima svoje aktivno mjesto. Aktivno mjesto može biti otvoreno ili zatvoreno, ovisno o položaju petlje H8 i pripadajućeg ostatka Arg217, čija blizina aktivnom mjestu se smatra katalitički bitnom. Sveukupno, *HpPNP* sadrži 1398 aminokiselinskih ostataka. U usporedbi s dobro poznatim PNP-om *E. coli*, *HpPNP* sadrži 50% identičnosti te 70% sličnosti u aminokiselinskom slijedu, te su unatoč tome nađene značajne razlike u enzimskoj aktivnosti.<sup>12</sup> Kod nekih mikroorganizama, kao što su *E. coli* i *H. pylori*, PNP dolazi u obliku homoheksamera, točnije trimera dimera (Slika 4). Kod tih bakterija, dimerna jedinica je najmanja teoretski funkcionalna jedinica proteina jer susjedna podjedinica doprinosi aktivnom mjestu s dvije aminokiseline (His4, Arg43). U praksi doduše, prema većini istraživanja, samo su nativni oligomeri (trimer ili heksamer) aktivni u pripadnim vrstama.<sup>13</sup> Kao što je ranije spomenuto, *H. pylori* nema sposobnost *de novo* sinteze te ovisi u potpunosti o funkcionalnosti obnavljajućeg



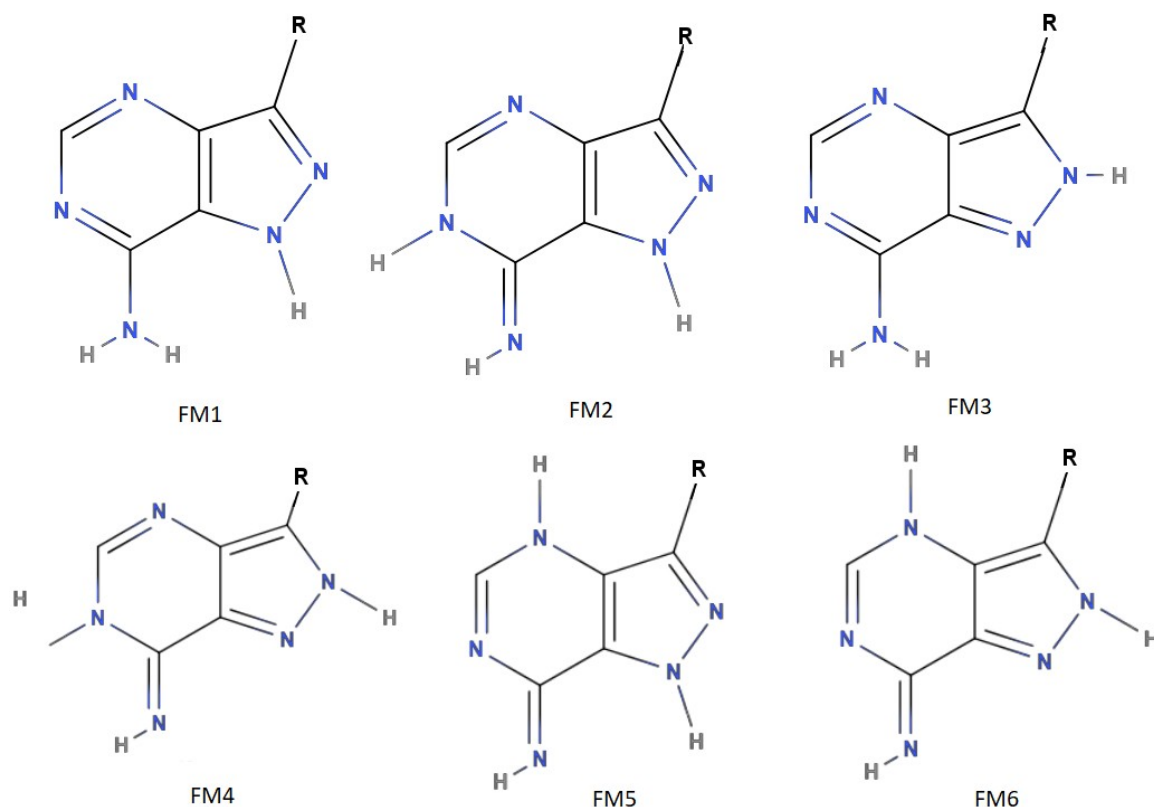
puta.

Slika 4. Heksamerni oblik PNP u *H. pylori* uz hidrogenfosfate i ligande u aktivnim mjestima; svaka podjedinica obojena je različitom bojom.

Formicin je antibiotik otkriven u Japanu 1964.<sup>14</sup>, strukturni je analogon adenzinu te dolazi u dva oblika, formicin A i formicin B (Slika 5).<sup>15</sup> Formicinski prsten gotovo je izostrukturan s purinima, uz razliku zamjene imidazalnog prstena pirazolnim. S obzirom na moguću prototropsku tautomeriju između N8 i N9 te imino-amino tautomeriju na amino skupini (s oba atoma dušika u pirimidinskom djelu prstena), formicin A tvori šest različitih tautomera (Slika 6). Ponukani istraživanjima koja pokazuju da formicin A, za razliku od adenzina, ima sklonosti tautomerizaciji, G.P.Caesar i J.J. Greene koriste varijantu teorije molekulskih orbitala u kombinaciji s <sup>13</sup>C NMR spektrima kako bi ustvrdili rasprostranjenosti tautomera. U skladu s rezultatima prijašnjih studija, navedenim računalnim metodama u sprezi s NMR mjerenjima, identificirano je četiri od šest tautomera, pri čemu su glavni oblici FM1 i FM3, predstavljajući 73% i 26% formicina A.<sup>16</sup> Ostali oblici tautomera predstavljaju manje od 1% ukupne populacije. Ovi su rezultati dobiveni na temelju jedne od prvih semiempirijskih metoda iz 1973. godine i ne ukazuju nužno na rasprostranjenost tautomera pri staničnim uvjetima.



Slika 5. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2215469> pristupljeno 23.12.2019.



Slika 6. Svi tautomeri formicina A s imenima pridruženim pojedinim tautomerima u ovom radu, R predstavlja šećerni ostatak.

Prijašnja istraživanja ustanovila su da formicin A reagira kao inhibitor PNP kod bakterijskih stanica poput *E. coli*, no ne pokazuje interakcije s PNP sisavaca, što ga čini vrlo podobnim za primjenu u liječenju ljudi.<sup>17</sup> Budući da je strukturni analogon adenzina, formicin A dijeli mnoge interakcije s adenzinom, te se zbog toga njegova primjena istražuje u raznim poljima. Osim kao antibiotik, primjenu formicina istražuje se i u liječenju nekih vrsta raka crijeva,<sup>18</sup> utjecaja na virus HIV-a<sup>19</sup> te u dijagnozi specifične vrste imunodeficiencije imena ADA (eng. *Adenosine deaminase deficiency*).<sup>20</sup> Također se istražuje i utjecaj formicina A u obliku trifosfata na metabolizam inzulina i ATP-a te moguća primjena na liječenje inzulinski neovisne šećerne bolesti.<sup>21,22</sup> Osim mogućih primjena u liječenju, formicin i njegovi derivati koriste se i u analitičke svrhe, kao fluorescentna nukleobaza koja se ugrađuje u DNA umjesto adenzina.<sup>23,24</sup>

Središnji model u računalnoj kemiji danas jest koncept plohe potencijalne energije (*potential energy surface*, PES), tj. ploha ovisnosti energije molekule o položaju jezgara njenih atoma.<sup>25</sup> PES možemo računati koristeći klasične ili kvantno-mehaničke metode. Klasične metode kao što je molekularna mehanika računaju energiju preko polja sila, koristeći harmonijski oscilator kao aproksimaciju kemijske veze. Energija sustava ovisi o međusobnom položaju jezgara atoma, a elektroni se modeliraju implicitno, preko parametara polja sila. Takav pristup omogućuje rad s velikim sustavima poput proteina ili polimera, ali onemogućuje modeliranje kemijskih reakcija ili određivanje elektronske strukture. Kvantno-mehaničke metode oslanjaju se na rješavanje Schrödingerove jednadžbe za predviđanje energije i svojstava sustava. Budući da je nemoguće dobiti analitičko rješenje Schrödingerove jednadžbe sustava s više od jednog elektrona, uvode se aproksimacije koje olakšavaju izračun. Osnovna aproksimacija koja nam omogućava računanje jest Born-Oppenheimerova aproksimacija, koja pretpostavlja da je kretanje jezgara zanemarivo u odnosu na kretanje elektrona te se jezgre smatraju potpuno statičnima. Kako kvantno-mehaničke metode eksplicitno modeliraju elektrone, vrijeme računanja i potrebna računalna moć rastu eksponencijalno, te su stoga te metode ograničene na male sustave od nekoliko stotina (*ab initio*) do nekoliko tisuća atoma (DFT, semiempirija).

U ovom radu korištene su klasične metode molekularne dinamike i molekularne mehanike, u kojima energiju računamo preko polja sila.

#### 2.4.1. Polja sila

Polja sila (*force fields*) su skupovi parametara i jednadžbi koje opisuju ovisnost energije molekule o njenoj geometriji, koristeći pritom modele klasične fizike kao što su harmonijski oscilator i Coulombova sila. U teoriji polja sila, ukupna energija molekule dobiva se kao suma individualnih interakcija ([jednadžba 1](#)). Kako se elektroni ne modeliraju izravno već preko parametara, računalno vrijeme potrebno za izračune je nekoliko redova veličine manje nego kada bismo ih modelirali eksplicitno.

$$E = \sum_{(AB)} k_{(AB)}(r_{(AB)} - r_{e(AB)})^2 + \sum_{(ABC)} k_{(ABC)}(\theta_{(ABC)} - \theta_{e(ABC)})^2 + \sum_{n,(ABCD)} \frac{V_{n,(ABCD)}}{2} [1 + \cos(n\phi_{(ABCD)} - \phi_{e(ABCD)})] + \sum_i \sum_{j>i} \left[ \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right] + \sum_i \sum_{j>i} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} \right] \quad 1$$

Prvi doprinos predstavlja potencijalnu energiju kovalentnih veza između svakog vezanog para atoma AB, te je modelirana kao harmonijski oscilator ([jednadžba 2](#)). Iako je dobra aproksimacija za energiju veza pri sobnoj temperaturi, vrijedi samo za udaljenosti između atoma koje su bliske ravnotežnim i ne može modelirati pucanje kemijske veze.

$$E_{b(AB)} = \sum_{\text{veze}} k_r (r_{(AB)} - r_{e(AB)})^2 \quad 2$$

Parametar  $k$  predstavlja konstantu opruge,  $r_{e(AB)}$  je definirana kao optimalna udaljenost između atoma, odnosno u slučaju da je duljina veze  $r_{AB}$  jednaka optimalnoj, potencijalna energija veze je po definiciji nula. Sličan pristup primjenjuje se na modeliranje interakcija između susjednih atoma ABC. Potencijalna energija računa se u ovisnosti o kutu  $\theta_{(ABC)}$  koji zatvaraju atomi ABC ([jednadžba 3](#)).

$$E_{a(ABC)} = \sum_{(ABC)} k_{\theta_{(ABC)}} (\theta_{(ABC)} - \theta_{e(ABC)})^2 \quad 3$$

S obzirom na to da su torzijske interakcije četiri atoma ABCD kompleksnije, modeliramo ih Fourierovim nizom, tj. periodičkom funkcijom dobivenom zbrojem proizvoljnog broja sinusa i kosinusa ([jednadžba 4](#)).



$$E_{diedri} = \sum_{n,(ABCD)} \frac{V_{n,(ABCD)}}{2} [1 + \cos(n\phi_{(ABCD)} - \phi_{e(ABCD)})]$$

4

Budući da ovim modelom ne obuhvaćamo sve interakcije između atoma koji su unutar iste molekule, a udaljeni za više od 2 atoma, u sumu priključujemo doprinos Van der Waalsovih interakcija, modeliranih Lennard-Jonesovim potencijalom ([jednadžba 5](#)). Parametri  $A_{ij}$  i  $B_{ij}$  su empirijski parametri koji se mogu tek procijeniti na temelju eksperimentalnih podataka.

$$E_{vdw} = \sum_i \sum_{j>i} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} \right]$$

5

Elektrostatske interakcije računaju se korištenjem izraza za Coulombov potencijal ([jednadžba 6](#)). Parametar  $\epsilon$  predstavlja permitivnost medija tj. opisuje kako medij reagira na prisutnost naboja. Veća vrijednost  $\epsilon$  za isti naboj rezultira slabijim električnim poljem u danom mediju. U računanju Coulombovih interakcija, parametar  $\epsilon$  dodatno se modificira u ovisnosti o povezanosti atoma; kod AB i ABC parova vrijedi  $\epsilon = \infty$  budući da su njihove interakcije opisane jednadžbama [2](#) i [3](#). Za interakcije između A i C u nizu ABCD,  $\epsilon$  iznosi dvostruko više od osnovne vrijednosti  $\epsilon$  za medij, umanjujući doprinos interakcije za pola i time kompenzirajući za nedostatke aproksimacije u jednadžbi [4](#).

$$E_c = \sum_i \sum_{j>i} \left[ \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right]$$

6

Pri gradnji i parametrizaciji polja sila moramo imati na umu omjer preciznosti modela i računalne moći potrebne za provedbu računa. Kako bismo osigurali preciznost računa, grade se specijalizirana polja sila za specifične skupine atoma, kao što su organske molekule ili

proteini, dok modeliranje proteina koji sadrže metalne centre zahtijeva dodatnu parametrizaciju.

#### 2.4.2. Metode analize promjene konformacije

Za analizu promjene položaja atoma koristimo *RMSD* (*root mean square deviation*), tj. korijen srednjeg kvadratnog odstupanja od referentnog položaja kroz vrijeme. Za dva skupa  $n$  točaka  $\mathbf{v}$  i  $\mathbf{w}$ , *RMSD* se računa po jednadžbi 7:

$$\begin{aligned} \text{RMSD}(\mathbf{v}, \mathbf{w}) &= \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \|v_i - w_i\|^2} \\ &= \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n ((v_{ix} - w_{ix})^2 + (v_{iy} - w_{iy})^2 + (v_{iz} - w_{iz})^2)} \end{aligned} \quad 7$$

U našem slučaju,  $n$  točaka predstavlja broj atoma u proteinima čije strukture uspoređujemo,  $\mathbf{w}$  predstavlja početnu (referentnu) strukturu, dok  $\mathbf{v}$  predstavlja strukturu proteina koji uspoređujemo s referentnom u svakoj točki u vremenu.

*RMSF* (*root mean square fluctuation*) je varijanta *RMSD* vrijednosti koja predstavlja mjeru fluktuiranja čestica ili skupina od referentne pozicije unutar zadanog vremena. *RMSF* vrijednost daje dobar uvid u raznolikost konformacija koje je zadani skup atoma poprimio kroz simulaciju te se računa prema jednadžbi 8:

$$\text{RMSF}_i = \left[ \frac{1}{T} \sum_{t_j=1}^T |\mathbf{r}_i(t_j) - \mathbf{r}_i^{\text{ref}}|^2 \right]^{1/2} \quad 8$$

$T$  predstavlja vrijeme unutar kojeg računamo *RMSF*,  $\mathbf{r}_i(t_j)$  predstavlja položaj čestice u vremenu  $t_j$  dok  $\mathbf{r}^{\text{ref}}$  predstavlja referentni položaj.

#### 2.4.3. Priprema proteina i liganada za simulaciju molekularne dinamike

Iako u teoriji moguće, još uvijek nemamo sposobnost odrediti tercijarnu strukturu proteina iz primarne strukture; stoga pri modeliranju proteina prostornu strukturu baziramo

na eksperimentalnim podacima dobivenim spektroskopijom ili difrakcijom X-zrakama na monokristalu. Budući da metodom difrakcije X-zraka ne možemo detektirati vodike, potrebno ih je naknadno dodati u strukturu proteina. Potrebno je istaknuti distinkciju između nepolarnih i polarnih vodika. Napolarni vodici, koji su vezani na ugljik, se ponekad uključuju u parametrizaciju implicitno kao naboj na susjednom ugljiku. Polarne vodike, kao one amino ili hidroksilnih skupina uvijek modeliramo eksplicitno, te ih se obično dodaje unutar programskog paketa koji sadrži polje sila. Osim vodika, potrebno je parametrizirati i ligande (ako nisu već parametrizirani unutar polja sila) te bilo koje nestandardne molekule za polja sila koja koristimo.

Algoritmi koji pretvaraju podatke iz kristalografskih i spektroskopskih pokusa u tro-dimenzionalnu strukturu nisu savršeni te je potrebno dodatno ručno modificirati sustav prije pokretanja simulacije. Na primjer, neki od algoritama dodavanja vodika protoniraju bazu koja je pri staničnom pH u neprotoniranom obliku pa ih treba ručno ukloniti iz strukture. Nakon ispravljanja svih grešaka, potrebno je odrediti kako ćemo modelirati otapalo. Glavna podjela metoda je na eksplicitne, koje modeliraju svaku pojedinačnu molekulu otapala unutar kutije zadane veličine; te implicitne metode, koje modeliraju otapalo kao kontinuirano polje konstantne permitivnosti  $\epsilon$ . Postoje i hibridne, tako zvane *cluster-continuum* metode, koje okružuju sustav koji proučavamo eksplicitno modeliranim molekulama, dok ostatak otapala modeliraju kao polarizabilan kontinuum. Pošto smo odabrali model otapala i dodali otapalo, sustav prolazi kroz nekoliko stupnjeva minimizacije u pripremi za početak simulacija molekularne dinamike.

## § 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Priprema proteinâ i liganada

Za gradnju liganada korišten je programski paket ChemDraw. Za pripremu proteina te minimizaciju i parametrizaciju liganada korišten je programski paket AmberTools16, specifično njegovi dijelovi: programi za pripremu antechamber i tleap te programi za molekularnu dinamiku sander i pmemd. Za vizualizaciju, dio pripreme i analize korišten je VMD.<sup>26</sup> Nakon crtanja osnovne strukture formicina A, struktura je minimizirana koristeći program sander, te su iz nje generirani ostali tautomeri. Svakom tautomeru pridruženo je ime od FM1 do FM6 (vidi Slika 6 u poglavlju 2.3) te je parametriziran uz pomoć modula antechamber koristeći GAFF, tj *general Amber force field*, kao polje sila. Za simulaciju molekularne dinamike korišteno je amber polje sila ff14SB.

Izvorna struktura HpPNP dobivena je kristalografijom.<sup>27</sup> Dobivena struktura sadrži molekulu formicina A u svakom aktivnom mjestu, te po jednu molekulu hidrogenfosfata po dimeru. Monomeri HpPNP imenovani su redom od A do F. U početnoj strukturi, sva aktivna mjesta su zatvorena. Polarni vodici dodani su programskim paketom WHATIF.<sup>28</sup> Napolarni vodici dodani su programom tleap. Dodani su hidrogenfosfati u preostala aktivna mjesta uz pomoć kombinacije programa tleap i VMD preslikavajući položaj hidrogenfosfata u odnosu na formicin A iz aktivnih mjesta koja sadrže oba spoja. Od tako obrađenog proteina napravljeno je sedam kopija; jedna apoproteinska tj. bez liganada i hidrogenfosfata (u ovom radu imenovan kao „Sustav 0“), te po jedna kopija s hidrogenfosfatom i formicinom A u svakom aktivnom mjestu za svaki tautomer formicina A.

Preostalih šest sustava imenovano je rednim brojem koji odgovara našem imenovanju tautomera (Tablica 1): Sustav 1 sadrži FM1 i hidrogenfosfat, Sustav 2 sadrži FM2 i hidrogenfosfat itd. Molekule formicina A smještene su u protein uz pomoć programa VMD, vizualnim preklapanjem formicina A iz kristalne strukture s novim ligandima te provjerom preko RMSD poklapanja do minimalno 0,09 nm. Budući da protein ima 1398 aminokiselina, dodanim hidrogenfosfatima i formicinima A pridruženi su brojevi prema tablici 2.

Tablica 1. Imenovanje sustava u odnosu na tautomer formicina A koji sadrže

Ime sustava	Ime liganda
Sustav 0	Nema liganda
Sustav 1	FM1
Sustav 2	FM2
Sustav 3	FM3
Sustav 4	FM4
Sustav 5	FM5
Sustav 6	FM6

Tablica 2. Numeriranje hidrogenfosfata i formicina

Podjedinica (lanac)	Hidrogenfosfat	Formicin A
A	1399	1400
B	1401	1402
C	1403	1404
D	1405	1406
E	1407	1408
F	1409	1410

Sljedeći korak je solvatacija, napravljena uz pomoć programa tleap. Odabran je TIP3P model vode te je protein smješten u kocku definiranu tako da je udaljenost od atoma proteina do ruba kocke najmanje 0,1 nm. Naposljetku su dodani kloridni anioni za neutralizaciju naboja. Kao izlazne podatke imamo topologiju proteina i koordinate atoma u formatu spremnom za simulaciju. Prije početka simulacije određujemo dužinu jednog koraka u simulaciji. U ovom radu za dužinu jednog koraka odabrana je vrijednost od 1 fs.

Minimizacija energije, odnosno optimizacija strukture, odrađena je u 5 faza:

1. 5000 koraka s ograničenim kretanjem cijelog proteina
2. 1000 koraka s ograničenim kretanjem svih atoma proteina osim vodika

3. 1000 koraka s ograničenim kretanjem samo proteinske okosnice
4. 1000 koraka s upola slabije ograničenim kretanjem proteinske okosnice
5. 1000 koraka bez ograničenja

Protein optimizirane strukture zatim prolazi dvije ekvibracijske faze u ukupnom trajanju od 500 ps. Prvih 300 ps predstavlja prvu ekvibracijsku fazu, tijekom koje je ograničeno kretanje svih atoma osim atoma molekula vode i iona otapala te se temperatura sustava postepeno diže s 0 do 300 K. U drugoj fazi ekvibracije u trajanju od 200 ps kretanje atoma nije ograničeno, ali je zagrijavanje usporeno i dopuštene fluktuacije kinetičke energije sustava su veće nego tijekom produkcijske faze. Nakon završetka obje ekvibracijske faze počinje produkcijska faza, koja traje 20 ns.

## 3.2. Analiza trajektorija

### 3.2.1. Konformacijske promjene

Za mjerenje konformacijskih promjena, izračunate su vrijednosti *RMSD* i *RMSF* uz pomoć programa *cpptraj*, djela programskog paketa *Amber*. Vrijednost *RMSD* je izračunata uzevši u obzir samo okosnicu proteina. Za vizualnu usporedbu početne i konačne konformacije korišten je program *VMD*.

Kao referentna struktura s kojom su uspoređivane sve konformacije tijekom cijele simulacije uzet je Sustav 0 tj. protein bez prisutnosti hidrogenfosfata i liganda u aktivnom mjestu čija je početna struktura građena na temelju kristalografskih podataka.

### 3.2.2. Vodikove veze

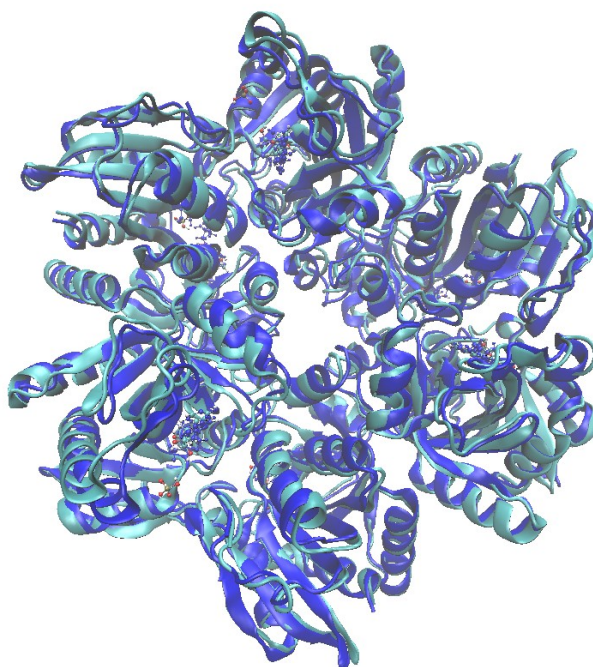
Prisutnost i zastupljenost vodikovih veza izmjereni su uz s pomoću opcije *hbonds* opcije unutar programa VMD. Izmjerene su interakcije svakog liganda s aminokiselinama u aktivnom mjestu, interakcije svakog liganda s hidrogenfosfatom u aktivnom mjestu te interakcije hidrogenfosfata s aminokiselinama u aktivnom mjestu. Kako bi se istražio čim veći dio interakcija, granična vrijednost (eng. *cutoff value*) udaljenosti jezgara je namještena na 3,3 nm, a kao granična vrijednost kuta odabrana je vrijednost od 130°. Opcija *hbonds* izračunava zastupljenost vodikove veze između zadanih molekula tijekom trajektorije te ih izražava kao postotak. Prisutnost jedne veze kroz cijelu simulaciju izražava kao 100% zastupljenosti; prisutnost dvije veze između (različitih) atoma iste dvije molekule prikazuje kao 200%. itd.

Pri mjerenju interakcija individualnih liganda, promatrani su atomi preko kojih su ostvarene veze kako bi se ustvrdile razlike između tautomera liganda. Pri mjerenju ostalih vrsta interakcija gledana je samo prisutnost vodikove veze bez razlikovanja specifičnih atoma unutar liganda kako bi se dobila i generalna distribucija interakcija specifičnog liganda s aminokiselinama aktivnog mjesta.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Konformacijske promjene

Tijekom simuliranja Sustava 2 uočene su tehničke smetnje koje su učinile rezultate tog sustava nepouzdanim. Unatoč višestrukim pokušajima izvor problema nije otkriven ni ispravljen. U skladu s tim, rezultati povezani sa Sustavom 2 nisu uključeni u analizu. Na temelju vizualne provjere uočeno je da nema velikih odstupanja od početne konformacije (Slika 7). Uočene razlike u konformaciji proteinske okosnice ne prelaze udaljenost od 0,10 nm. Nema promjene u otvorenosti aktivnog mjesta, sva aktivna mjesta ostaju zatvorena od početka do kraja simulacije.

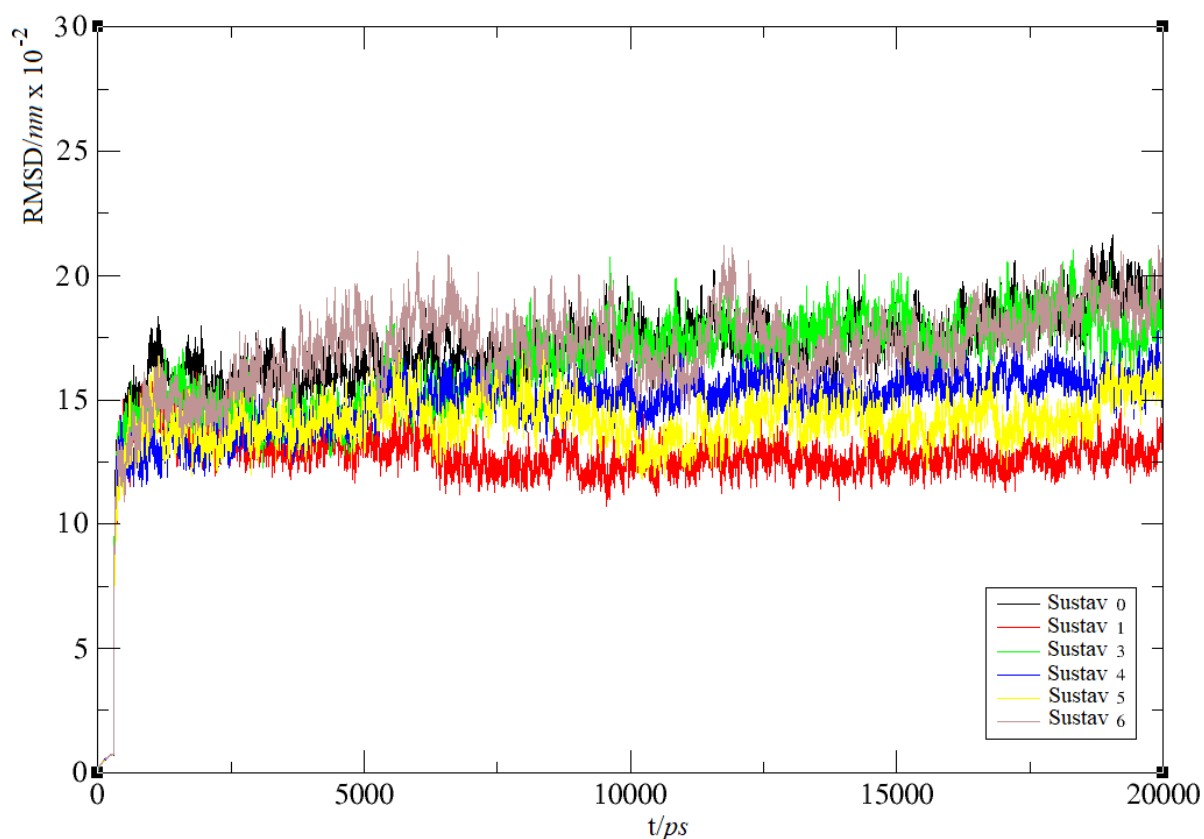


Slika 7. Vizualna usporedba početne (tamno plava) i konačne (tirkizna) konformacije proteinske okosnice Sustava 5.

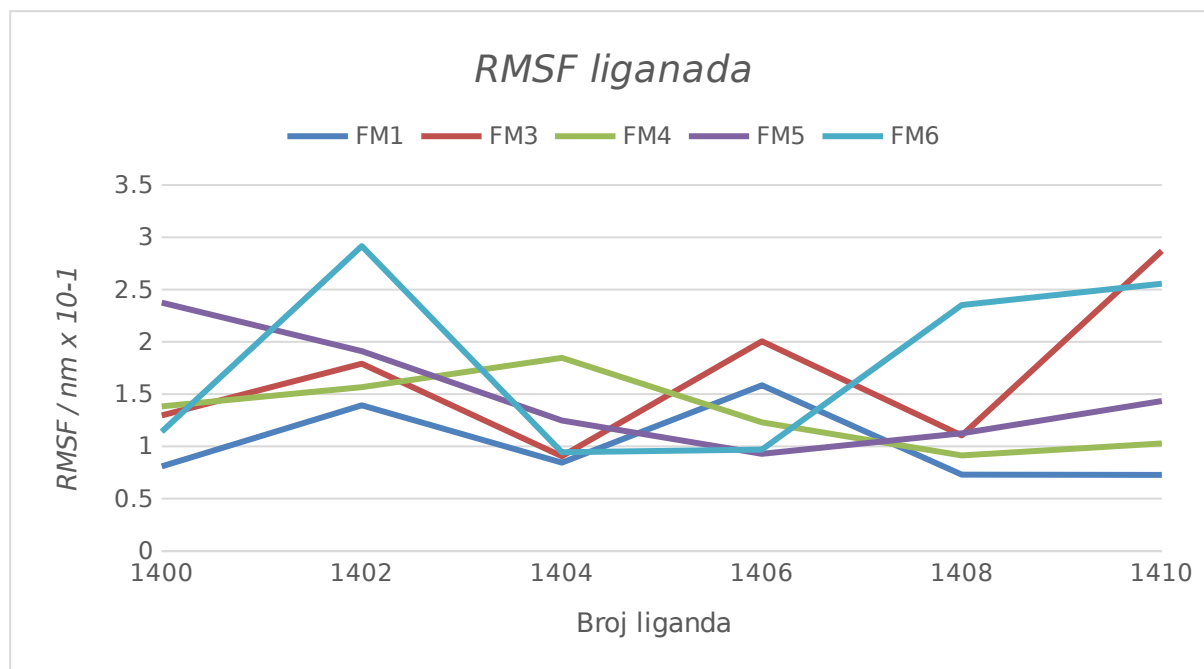


Vrijednosti *RMSD* proteinske okosnice svih proteina tijekom simulacija molekularne dinamike (MD) su međusobno slične i ostaju unutar 0,1 nm (Slika 8). U odnosu na apoprotein (Sustav 0), holoproteini 1, 4 i 5 imaju niže vrijednosti *RMSD*. Prvih 500 ps predstavlja ekvilibracijsku fazu, tijekom koje protein u sustavu ne prolazi velike strukturne promjene, što se može vidjeti iz male promjene *RMSD* sustava u odnosu na početnu strukturu ( $t = 0$  ps). Nakon 500 ps sva počinje produkcijska faza i sustavi brzo poprimaju ravnotežnu konformaciju, što se očituje naglim skokom *RMSD*.

Niža vrijednost *RMSD* Sustava 1, 4 i 5 u odnosu na Sustav 0 ukazuju na mogući blagi stabilizacijski učinak popratnih liganada na stabilnost proteina. Vrijednosti *RMSF* za ligand svojom distribucijom ukazuju na korelaciju stabilizacije liganda sa stupnjem interakcije koji ligand ostvaruje s hidrogenfosfatom.



Slika 8. *RMSD* vrijednosti proteinske okosnice tijekom MD simulacija. Prikazane su vrijednosti za sve simulirane sustave, boje pripružene pojedinom sustavu prikazane su na legendi.



Slika 9. Vrijednosti *RMSF* liganada tijekom simulacija prema podacima iz Tablica 4.

## 4.2. Interakcije hidrogenfosfata

### 4.2.1. Interakcije hidrogenfosfata s proteinom

Glavnina interakcija molekule hidrogenfosfata u aktivnom mjestu su s argininima Arg217 i Arg87, obližnjim Thr90, Asp21 i Glu20 te s argininima iz susjedne podjedinice Arg43 i Arg24. Hidrogenfosfati koji se udalje od aktivnog mjesta skloni su kratkim interakcijama s aminokiselinama dostupnim na izlasku iz aktivnog mjesta. Kod hidrogenfosfata koji ostaju blizu početnog položaja, odnosno unutar aktivnog mjesta, no bez interakcije s ligandom, često pokazuju snažne interakcije s argininom iz susjedne podjedinice, koji im ne dopušta da napuste protein (Tablica 3).

Tablica 3. Najzastupljenije interakcije hidrogenfosfata 1399 tijekom MD simulacije Sustava 1.

donor	acceptor	zastupljenost
THR90-Side-OG1	PO41399-Side-O4P	25,84%
ARG742-Side-NH2	PO41399-Side-O1P	30,68%
ARG742-Side-NH1	PO41399-Side-O2P	13,79%
ARG742-Side-NH2	PO41399-Side-O3P	16,26%
THR90-Side-OG1	PO41399-Side-O2P	16,11%
ARG742-Side-NH2	PO41399-Side-O4P	10,26%

Već je otprije poznato da u simulacijama vezanja liganada u aktivnom mjestu PNP hidrogenfosfat ima tendenciju izlaska iz aktivnog mjesta neovisno o otvorenosti aktivnog mjesta.<sup>29, 30</sup> Taj rezultat reproduciran je i u ovom radu. Od 30 hidrogenfosfata smještenih u aktivna mjesta, njih 5 je izašlo iz proteina, te još njih 19 je pokazalo malo ili ništa interakcija s ligandom (Tablica 4). Nije ustvrđena povezanost konformacije proteina s izlaskom hidrogenfosfata budući da sva aktivna mjesta ostaju zatvorena. Također, nije ustvrđen utjecaj izlaska hidrogenfosfata na vezanje liganada ili hidrogenfosfata ostalih podjedinica.

#### 4.2.2. Interakcije hidrogenfosfata s ligandom

Prema interakcijama između hidrogenfosfata i liganda u aktivnom mjestu, sustave možemo podijeliti u tri kategorije:

- 1) Hidrogenfosfat ostaje u aktivnom mjestu i interreagira s ligandom.
- 2) Hidrogenfosfat ostaje u aktivnom mjestu, no udaljen je od liganda uz vrlo malo interakcije
- 3) Hidrogenfosfat izlazi iz aktivnog mjesta

Pregledom *RMSD* vrijednosti samih liganada unutar aktivnog mjesta, te skupa aminokiselina s kojima ligand interreagira, uočena je pravilnost: ligandi iz prve skupine obično imaju niže *RMSD* vrijednosti u odnosu na ostale, tj položaj liganda se ne mijenja značajno kroz vrijeme (Tablica 4). Kod takvih slučajeva, interakcije liganda su velikom većinom s malim skupom aminokiselina u aktivnom mjestu, te su u pitanju aminokiseline čija važnost za vezanje je ustanovljena prijašnjim radovima.<sup>29,30</sup> (Slika 10) Ligandi koji spadaju u drugu i treću skupinu

pretežito imaju manje interakcija s najznačajnijim aminokiselinama aktivnog mjesta i češće reagiraju s ostalim aminokiselinama koje su dublje ili pliće u aktivnom mjestu od uobičajene pozicije liganda. Sveukupna stabilnost takvih liganada je manja, čemu svjedoče *RMSD* vrijednosti te zbroj ukupnih interakcija sa svim aminokiselinama.

Tablica 4. *RMSF* vrijednosti liganada u ovisnosti o razini interakcije s hidrogenfosfatom. Razine interakcija između liganda i hidrogenfosfata označene su bojama; zelenom za redovite interakcije (više od 50%), žutom neredovite interakcije (5-50%) i crvenom za odsustvo interakcija (0-5%).

ligand	FM1	FM3	FM4	FM5	FM6
1400	0,810	1,30	1,38 <sup>1</sup>	2,37 *	1,14 *
1402	1,39	1,79	1,57	1,91	2,92 *, <sup>1</sup>
1404	0,846	0,906	1,85	1,25	0,945
1406	1,59 *	2,01 *, <sup>1</sup>	1,23 <sup>1</sup>	0,931 *	0,969
1408	0,731	1,11	0,914	1,13	2,35 *
1410	0,727	2,87 <sup>1</sup>	1,03	1,43 *	2,56 *
srednji RMSF:	1,02	1,66	1,33	1,50	1,81

\* - trajektorije gdje interakcija postoji samo u počnim djelovima simulacije.

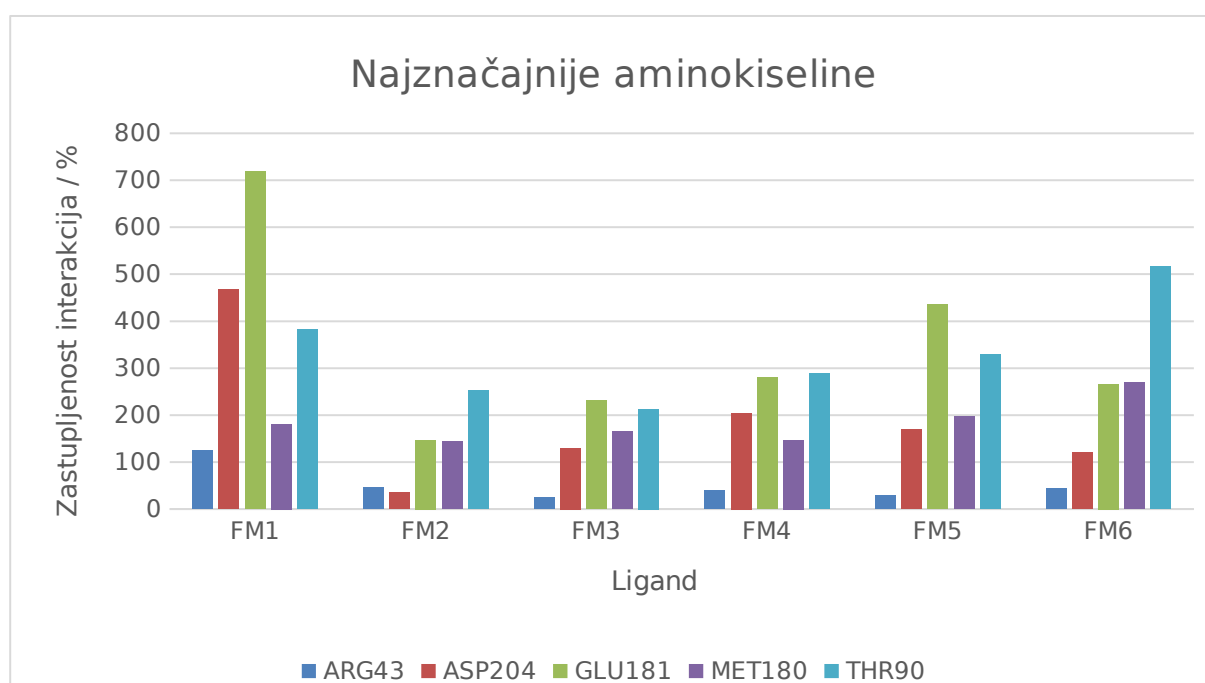
<sup>1</sup> - hidrogenfosfati koji izlaze iz aktivnog mjesta

Na temelju podataka iz Tablica 4 možemo zaključiti da prisutnost hidrogenfosfata u aktivnom mjestu stabilizacijski djeluje na vezanje liganda samo ako ima interakcija između liganda i hidrogenfosfata. To ne znači da je interakcija s hidrogenfosfatom apsolutno nužna za vezanje liganda u aktivnom mjestu (FM6 1400 i 1406 su primjeri iznimaka); takvo vezanje se može dogoditi i slučajno. Da bismo to provjerili, trebalo bi ponoviti simulacije s dužim vremenom simuliranja i samo s formicinom A, bez prisutnosti hidrogenfosfata. Interakcije između liganda i hidrogenfosfata događaju se isključivo sa šećernim djelom formicina A.

### 4.3. Interakcije različitih tautomera s aminokiselinama aktivnog mjesta

Primarni cilj ovog rada bio je ustvrditi postoje li razlike u vezanju između različitih tautomera formicina A. Sveukupno, ligandi pokazuju interakcije sa sveukupno 44 različite aminokiseline, što daje sveukupno 148 jedinstvenih interakcija od kojih 25 ima veću zastupljenost od 100 %, a 77 ima manju zastupljenost od 10 %. Specifičan broj interakcija s jedinstvenim aminokiselinama po proteinu varira između 23 i 35. (Dodatak 1)

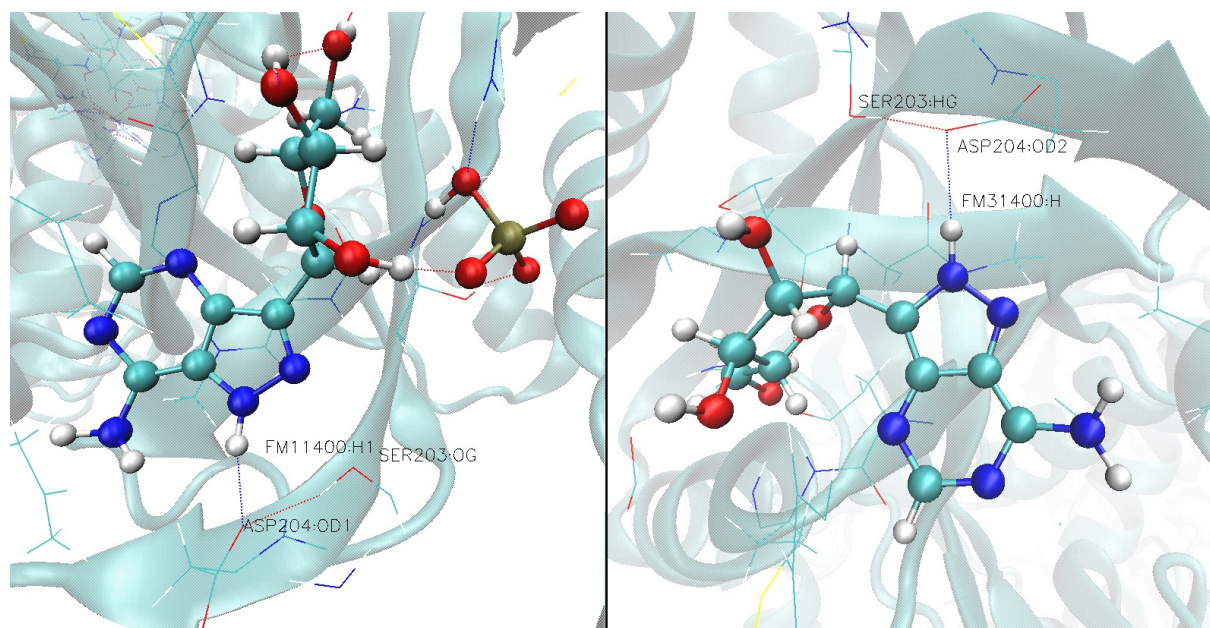
Provjerom pojedinih vodikovih veza koje su nastajale tijekom simulacije, ustvrđeno je da, iako razlike postoje, prisutnost ili neprisutnost hidrogenfosfata u aktivnom mjestu čini veću razliku kod stabilnosti liganda i konačnih interakcija nego razlike u protoniranosti tautomera (Slika 8, Tablica 4). Također, većina razlika u interakcijama dolazi od šećernog djela formicina A, a ne od različitog rasporeda vodika na purinskom djelu formicina A. Jedina značajna razlika vidi se na primjeru Glu179, s kojom FM3, FM4 i FM6 imaju učestalije interakcije upravo preko slobodnog, glikozidnoj vezi distalnog dušikovog atoma N9 koji dijele. Uz kontekst *RMSD* vrijednosti tih proteina možemo zaključiti da stabilizacijski utjecaj interakcije s Glu179 nema veliki doprinos konačnoj stabilnosti proteina.



Slika 10. Zastupljenost interakcija između pet najznačajnijih aminokiselina aktivnog mjesta i tautomera formicina A, prema podacima iz Dodatak 1

Kod purinskog djela, bez obzira na konkretni tautomer, ako je hidrogenfosfat prisutan u aktivnom mjestu, formicin A ima interakcije s istim aminokiselinama no preko drugog

vodika. (Slika 11). Alternativno, aminokiseline aktivnog mjesta mogu sudjelovati u vezanju kao donor protona elektronegativnijem dušiku purinskog djela formicina A.



Slika 11. Primjer veze s istom aminokiselinom (ASP204) ostvarenom preko različitih vodikovih atoma (ligandi 1400; FM1 i FM3)

U slučajevima gdje nije bilo interakcija između hidrogenfosfata i liganda, ligand tvori interakcije s više različitih aminokiselina unutar ili blizu aktivnog mjesta. Velikom većinom su te interakcije slabije zastupljenosti u usporedbi sa zastupljenošću interakcija s glavnim aminokiselinama (Tablica 5, Tablica 6). Osim navedenih glavnih aminokiselina, formicini A i hidrogenfosfati pokazuju mnogo manjih interakcija s aminokiselinama blizu aktivnog mjesta. Neke od tih interakcija su poznate, poput onih s fenilnim skupinama Phe158 i Phe159.<sup>29</sup>

Tablica 5. Interakcije liganda FM1 1400, koji je stabiliziran hidrogenfosfatom.

donor	akceptor	zastupljenost
-------	----------	---------------

FM11400-Side-O5'	GLU181-Side-OE1	100,00%
FM11400-Side-N7	ASP204-Side-OD2	81,82%
HIP4-Side-NE2	FM11400-Side-O3'	63,64%
FM11400-Side-O3'	MET180-Side-SD	54,55%
FM11400-Side-O5'	GLU181-Side-CD	81,82%
FM11400-Side-O5'	GLU181-Side-OE2	45,45%
FM11400-Side-N6	ASP204-Side-OD2	54,55%
THR90-Side-OG1	FM11400-Side-N8	36,36%
FM11400-Side-N7	SER203-Side-OG	9,09%
FM11400-Side-N6	GLY92-Main-CA	9,09%
THR90-Side-OG1	FM11400-Side-C9	18,18%
THR90-Side-OG1	FM11400-Side-C1'	9,09%
MET180-Side-CB	FM11400-Side-O5'	9,09%
HIP4-Side-NE2	FM11400-Side-O2'	27,27%
FM11400-Side-O5'	GLU181-Side-OE1	100,00%

Tablica 6. Interakcije liganda FM4 1400, koji nije stabiliziran hidrogenfosfatom.

donor	akceptor	zastupljenost
FM41400-Side-O1	SER203-Side-OG	5,00%
FM41400-Side-O1	ASP204-Side-OD1	10,00%
GLY92-Main-N	FM41400-Side-O3	5,00%
FM41400-Side-N2	SER156-Side-OG	10,00%
FM41400-Side-N2	PHE158-Main-O	5,00%

## § 5. ZAKLJUČAK

Primarni cilj ovog rada bio je ustvrditi utjecaj tautomerije formicina A na njegove interakcije s aminokiselinama aktivnog mjesta *Hp*PNP te na njegove interakcije s hidrogenfosfatom u aktivnom mjestu.

U vezanju liganda i hidrogenfosfata u aktivno mjesto sudjeluju aminokiseline iz susjednih podjedinica enzima PNP, specifično His4, Arg43 i Arg24. Osim toga, većina interakcija molekule hidrogenfosfata u aktivnom mjestu je s argininima Arg217 i Arg87 te obližnjim Asp21 i Glu20. Glavnina interakcija liganda odvija se s aminokiselinama Met180, Glu181 i Asp204. Ligand i hidrogenfosfat dijele česte interakcije s Thr90.

Pronađene su razlike u interakcijama između tautomera formicina A koje su uzrokovane tautomerijom, no njihov utjecaj na sveukupnu stabilnost proteina nisu značajne. Uočene razlike u vezanju liganda s proteinom dolaze pretežito preko šećernog djela formicina A, što iziskuje detaljniju provjeru interakcija *Hp*PNP s drugim strukturnim analogonima adenzina čije razlike se nalaze na purinskom djelu, kao što je formicin B.

Najveći utjecaj na skup aminokiselina s kojim ligand interreagira te na stabilnost samog liganda u aktivnom mjestu ima zastupljenost interakcija liganda s hidrogenfosfatom. Prisutnost hidrogenfosfata u aktivnom mjestu sama za sebe nije dovoljna za stabilizacijski efekt na vezanje liganda. Ligandi koji slabije interreagiraju s hidrogenfosfatom skloniji su kratkotrajnim interakcijama s aminokiselinama blizu aktivnog mjesta. Hidrogenfosfat može izaći iz aktivnog mjesta iako su sva aktivna mjesta zatvorena.

Potrebno je dalje istražiti utjecaj hidrogenfosfata na vezanje liganada te općenitu funkciju proteina. Opcije za daljnje istraživanje uključuju simulacije s dužim trajanjem od 20 ns, simulacije interakcija tautomera formicina A i drugih strukturnih analogona adenzina bez prisutnosti hidrogenfosfata. Također, s obzirom na sveprisutnost adenzina u metaboličkim putevima i konsekvantan utjecaj na veliku količinu receptora i proteina u stanicama svih živih bića, potrebno je ustvrditi hoće li formicin A imati zasad nepredviđene negativne ili pozitivne učinke na druge dijelove ljudskog metabolizma.



## § 6. METODIČKI DIO – VIZUALIZACIJA U NASTAVI KEMIJE

**„Slika govori 1000 riječi.“**

-Arthur Brisbane<sup>31</sup>

### 6.1. Vizualizacija

Sva živa bića koriste se osjetilima kako bi prikupljala informacije iz svijeta oko sebe. Tradicijski je definirano pet osnovnih osjetila: sluh, njuh, okus, miris i vid.<sup>32</sup> Danas znamo da to nisu jedina osjetila, već da postoje i osjetila za podražaje kao što su ravnoteža, glad, žeđ, prolaznost vremena, toplina, kretanje, bol i mnoga druga. Ljudi se, od svih osjetila, najviše oslanjaju na osjetilo vida – prema procjenama do 80 % informacija koje koristimo dolazi upravo iz vida.<sup>33</sup> Stoga nije ni čudo da je vizualni izražaj pratio razvoj ljudske kulture još od kamenog doba; najstariji do sad nađeni primjer vizualnog izražavanja Homo Sapiensa je 73 000 godina stari crtež nađeni na kamenu u špilji u južnoj Africi.<sup>34</sup> Najstariji do sad pronađeni crtež nađeni na zidovima špilje na Borneu je star 40 000 godina.<sup>35</sup>

Vizualizacija je metoda predočavanja, prijenosa i pohrane informacija slikama, dijagramima ili animacijama. Razvoj kulture i znanja ljudske vrste neraskidivo je vezan uz vizualizaciju; trenutno još uvijek najrasprostranjenija forma vizualizacije u svijetu je vizualni prikaz izgovorenog jezika, to jest pisanje. Osim govornog jezika, tijekom vremena ljudi su razvili metode vizualnog zapisa glazbe (glazbena notacija), odnosa fizikalnih i apstraktnih svojstava (dijagrami), modela predmeta iz svijeta (arhitektura itd...) što nam je omogućilo prijenos i pohranu podataka te planiranje kompleksnih pothvata kao što su gradnja stambenih objekata i, kasnije, automobila i strojeva koji su olakšali obradu i korištenje materijala.<sup>36,37</sup>

Razvoj digitalne tehnologije uvelike je olakšao primjenu i svestranost metoda vizualizacije koje sada prate svaki korak ljudskog života; znanost, edukacija, planiranje infrastrukture, osmišljavanje novih tehnologija, obrada podataka... Gotovo da i nema ljudske aktivnosti koja se na neki način ne oslanja na metode vizualizacije.

### 6.1.1. Vizualizacija u nastavi kemije

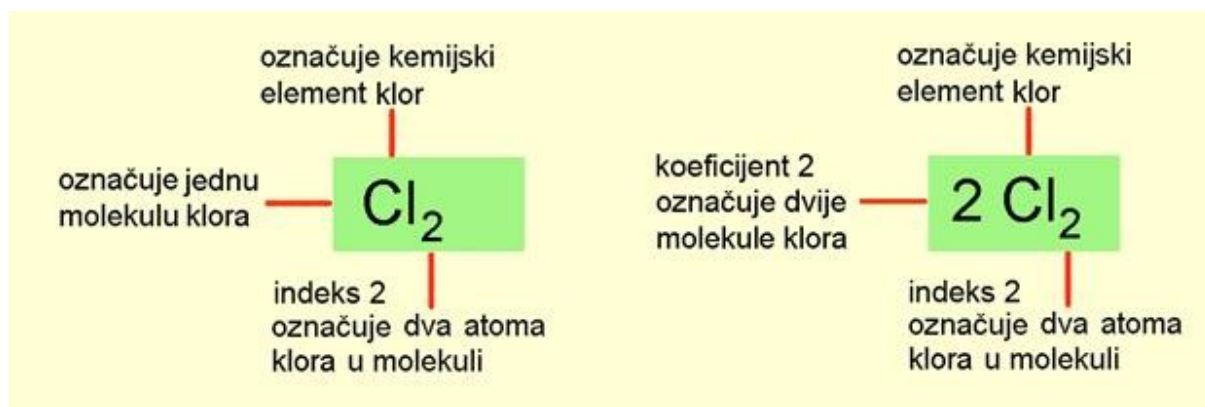
Vizualizacija je neizostavni dio obrazovnog procesa bez obzira na područje kojim se bavimo. Kemija je prirodoslovna znanstvena disciplina koja se bavi građom, svojstvom i promjenom kvalitete tvari. Kako su atomi i molekule, glavni interes istraživanja kemije, premali da bismo ih mogli vidjeti golim okom, nužno je koristiti metode vizualizacije kako bismo približili atomski svijet našim osjetilima i time drastično povećali uvid u njihova svojstva.

Osnovni vizualizacijski model u kemiji su kemijski simboli, međunarodno dogovoreni simboli koji označavaju vrstu i brojnost atoma. Kombinacijom kemijskih simbola tvorimo kemijske formule, koje opisuju sastav tvari i daju uvid u brojčane omjere pojedinih vrsta atoma u nekoj tvari. Kemijskim formulama možemo prikazati molekule, tvari koje se sastoje od više istih ili različitih atoma nemetala ili polumetala međusobno povezanih kovalentnim vezama, te takve kemijske formule nazivamo molekulskim formulama. Tvari tvorene od atoma metala i atoma nemetala koji su povezani ionskim vezama prikazujemo formulskim jedinkama, koje predstavljaju najjednostavniji cjelobrojni omjer pojedinih vrsta atoma (iona) u kristalnoj strukturi (Slika 12, Slika 13).

formula željezova sulfida	formula pirita	formula srebrova sulfida
<b>FeS</b>	<b>FeS<sub>2</sub></b>	<b>Ag<sub>2</sub>S</b>
Atomi željeza i sumpora u željezovu sulfidu vezani su u omjeru 1 : 1.	Atomi željeza i sumpora u piritu vezani su u omjeru 1 : 2. Indeks 2 označuje 2 atoma sumpora.	Atomi srebra i sumpora u srebrovu sulfidu vezani su u omjeru 2 : 1. Indeks 2 označuje 2 atoma srebra.

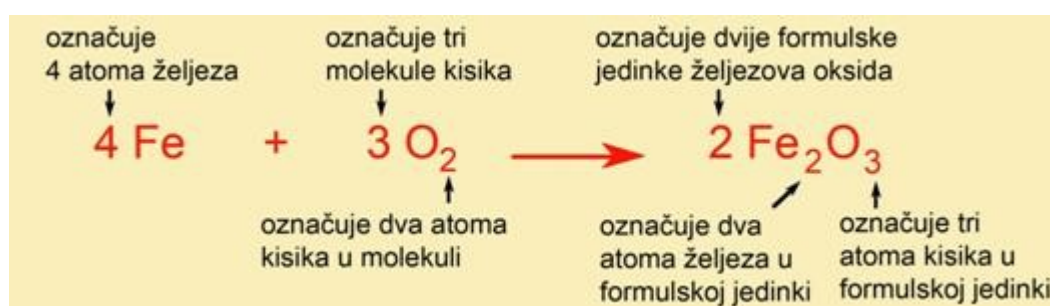
Slika 12. Formule nekih sumporovih soli. Preuzeto s

[http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web\\_Sikirica/index.htm](http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web_Sikirica/index.htm) Pristupljeno 15.2.2020.



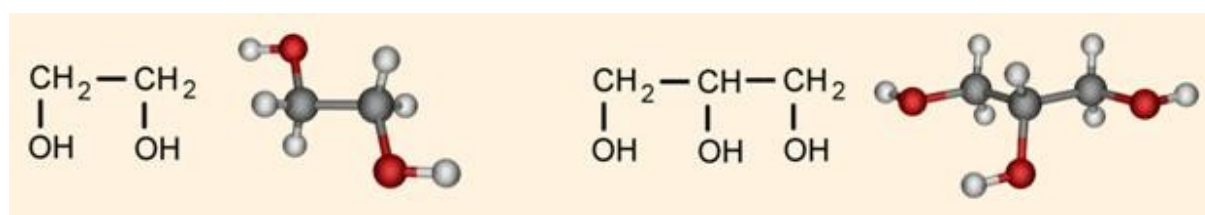
Slika 13. Kemijski simboli za molekule klora. Preuzeto s [http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web\\_Sikirica/index.htm](http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web_Sikirica/index.htm) Pristupljeno 15.2.2020.

Kako bismo opisali kemijske promjene, koristimo jednadžbe kemijskih reakcija koje uz kemijske simbole također sadrže skup međunarodno dogovorenih simbola kao što su  $\rightarrow$  i  $\rightleftharpoons$ . (Slika 14)



Slika 14. Formula kemijske reakcije nastajanja željezova oksida iz elemenata. Preuzeto s [http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web\\_Sikirica/index.htm](http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web_Sikirica/index.htm) Pristupljeno 15.2.2020.

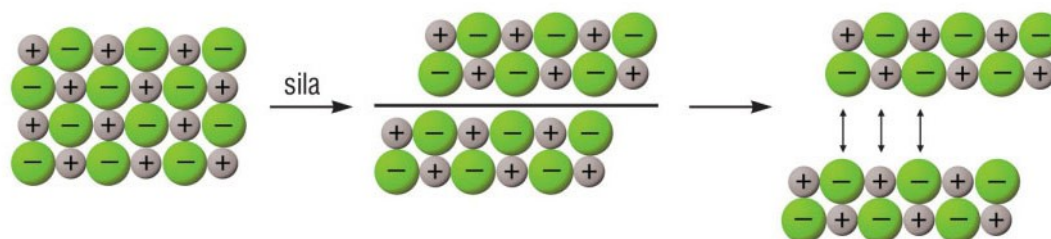
Čitamo: Iz četiri atoma željeza i tri molekule kisika u jednoj elementarnoj pretvorbi nastaju dvije formulske jedinice željezova oksida.



Slika 15. Strukturne formule etilen-glikola i glicerola. Preuzeto s

[http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web\\_Sikirica/index.htm](http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web_Sikirica/index.htm) Pristupljeno 15.2.2020.

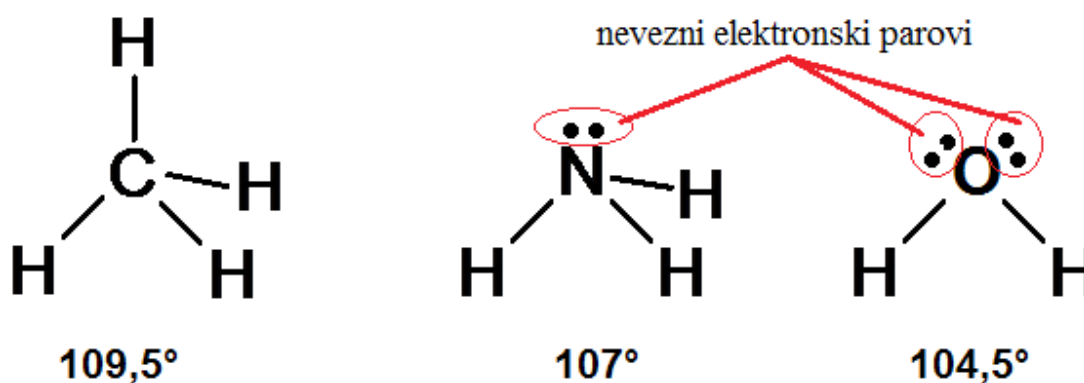
Osim omjera pojedinih vrsta atoma u kemijskom spoju, kemijskim formulama možemo prikazati i strukturu tvari tako da koristimo strukturne formule (Slika 15).



Slika 16. Kalavost kristala. preuzeto s

<https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/f969a6ae-b7e6-4724-a2fa-e56b4012d63b/kemija-1/m03/j06/index.html> Pristupljeno 16.2.2020.

Vizualizaciju u kemiji koristimo i za modeliranje samih atoma i molekula. Makroskopska svojstva tvari, npr. kalavost kristala, intuitivno postaju jasna primjenom modela kristalne strukture (Slika 16). Osim čestica, koje su premale da bismo ih mogli vidjeti ljudskim okom, vizualno možemo prikazati i koncepte koji su nam nevidljivi ne samo zbog svoje veličine, već i zbog drugih svojstava koje ih čine nevidljivima; na primjer nevezni elektronski parovi (Slika 17). Prikazom neveznih elektronskih parova molekule vode, kao i vodikovih veza koje molekule vode tvore, možemo lakše razumjeti zašto su talište i vrelište vode toliko viši od tališta i vrelišta molekule metana, koja ne može ostvariti tu vrstu međumolekulskih interakcija.



Slika 17. Utjecaj neveznih elektronskih parova na usmjerenost kovalentne veze.

Osim građe tvari, vizualizaciju koristimo kako bismo opisali odnose svojstava tvari. (fazni dijagram vode, ovisnost gustoće o temperaturi...) Dijagramski prikazi svojom jednostavnošću omogućuju nam veliku gustoću informacija; detaljan opis odnosa faznih stanja tvari o temperaturi i tlaku je zahtijevan, ali ga se jednostavno može prikazati jednim faznim dijagramom.

Periodni sustav elemenata, tzv. najbolji prijatelj svakog kemičara, najbolji je primjer prikaza velike količine informacija jednim prikazom. Periodni sustav elemenata najčešće eksplicitno navodi vrste kemijskih elemenata, njihove redne brojeve i relativne atomske mase, podjelu na metale, nemetale i polumetale te agregacijsko stanje kemijskog elementa pri normalnim uvjetima tlaka i temperature, no oni koji znaju i više o uzrocima strukture periodnog sustava elemenata mogu iščitati mnoge implicitno zapisane informacije kao što su elektronska konfiguracija, relativna veličina atoma, odnos energija ionizacije ili elektronegativnosti i mnoge druge informacije. Uz vizualizaciju apstraktnih koncepata i odnosa svojstava, u kemiji koristimo i skice laboratorijskih aparatura i općenito skice kemijskih pokusa, koji su fundamentalni dio kemije kao eksperimentalne znanosti. Kako vizualizacija ne služi samo prikazu već i pohrani podataka, rađanje skice pokusa nužno je kako bismo se kasnije, u procesu učenja, lakše prisjetili što se događalo za vrijeme pokusa i koja su nam bila opažanja i uvjeti izvođenja pokusa.

## 6.2. Kurikulum za kemiju i vizualizacija

18. siječnja 2019. objavljen je „Kurikulum nastavnog predmeta kemija za osnovne škole i gimnazije” te se na njega referira ostatak ovog poglavlja.<sup>38</sup> Iako se metode vizualizacije koriste doslovno u svakom dijelu učenja, sljedeći primjeri ističu najbitnija područja unutar kurikuluma kemije u osnovnim i srednjim školama u kojima vizualizacija koncepata i svojstava uvelike pridonosi razumijevanju tih tema:

U 7. razredu, vizualizacijom možemo približiti apstraktne ideje građe pomoću slika i animacija te time postići sljedeće obrazovne ishode:

- razlikuje nezasićenu, zasićenu i prezasićenu otopinu
- određuje kemijsku formulu iz digitalnog modela

- opisuje strukturu periodnoga sustava elemenata
- određuje valencije atoma (I i II skupina, C, N, O, S, F, Cl, Br, I) na temelju položaja elementa u periodnom sustavu elemenata.
- uspoređuje oblike i veličine molekula
- razlikuje pojmove okolina i sustav
- prikazuje podatke prikupljene pokusima ili radom na tekstu, novim tekstom, tablicama i grafovima.

Za 8. razred, u kojem se uvodi organska kemija, gdje građa molekula uvelike određuje njihova svojstva, vizualizacija je neizostavna. Trodimenzijski prikaz građe molekula uvelike olakšava razumijevanje odnosa građe i ostalih svojstava tvari. Vizualizaciju možemo koristiti u ostvarivanju sljedećih obrazovnih ishoda:

- uočava različite strukture organskih i anorganskih spojeva i povezuje s njihovim makroskopskim svojstvima.
- povezuje čestičnu građu (molekule i formulske jedinice) anorganskih i organskih tvari s njihovim fizikalnim i kemijskim svojstvima.
- opisuje građu iona, molekula elementarnih tvari i kemijskih spojeva
- prikazuje kemijskim formulama elementarne tvari i kemijske spojeve
- uspoređuje veličinu proteina (makromolekula) u odnosu na manje molekule
- primjenjuje kemijsko nazivlje i simboliku za opisivanje promjena
- uočava zakonitosti uopćavanjem podataka prikazanih tekstom, crtežom, modelima, tablicama i grafovima.

Nastavni program srednjih škola nastavlja se na nastavne sadržaje obrađene u osnovnoj školi te proširuje i utvrđuje naučeno. Kako srednjoškolsko obrazovanje podrazumijeva različita usmjerenja, nastavni program kemije nije jednoznačan; gimnazijski programi podrazumijevaju četiri godine učenja kemije dok strukovni (osim struka srodnih kemiji) podrazumijevaju jedno- i dvogodišnje programe. Za konkretne primjere primjene vizualizacije u srednjoj školi može se odabrati program za gimnazije, budući da je najobuhvatniji te time sadrži sve elemente ostalih programa.

Kemija prvog razreda gimnazije fokusira se na područje opće kemije. Vizualizacijom se mogu postići sljedeći obrazovni ishodi:

- opisuje svojstva agregacijskih stanja tvari
- uspoređuje polumjere atoma, relativni koeficijent elektronegativnosti, afinitet prema elektronu, energiju ionizacije atoma.
- uspoređuje temeljna svojstva tekućina
- analizira dipolni moment molekula
- prikazuje Lewisovom simbolikom atome, molekule i ione
- povezuje građu tvari s njihovim svojstvima
- uspoređuje Lewisovu strukturnu formulu i digitalni model
- opisuje kemijske veze i međudjelovanja između molekula koristeći se Lewisovom simbolikom.
- povezuje potencijalnu energiju s kemijskim vezama između atoma unutar molekule te s međučestičnim djelovanjima
- opisuje agregacijska stanja tvari i promjene agregacijskih stanja ovisno o temperaturi i tlaku. – povezuje kinetičku energiju s brzinom gibanja atoma i molekula u sustavu te prosječnu kinetičku energiju s temperaturom sustava
- uočava zakonitosti uopćavanjem podataka prikazanih tekstom, crtežom, modelima, tablicama i grafovima.

Drugi razred gimnazije usmjerava se prema području fizikalne kemije. Vizualizacija grafovima i dijagramima naročito je korisna za uvid u povezanost i odnos fizikalnih svojstava, na primjer odnos agregacijskog stanja s tlakom i temperaturom sustava. Stoga se vizualizacija, dijagramima, grafovima i slikama ili animacijama, može koristiti u svrhu stjecanja sljedećih obrazovnih ishoda:

- prikazuje čestičnu građu oksida, kiselina, baza, soli, ugljikovodika i halogenalkana
- analizira brzine različitih promjena
- analizira izmjenu energije između sustava i okoline i povezuje ih s promjenama tijekom kemijske reakcije

– uočava zakonitosti uopćavanjem podataka prikazanih tekstom, crtežom, modelima, tablicama i grafovima

U trećem se razredu obrađuje organska kemija. S obzirom na to da se organska kemija bavi kemijom primarno ugljika i njegovih spojeva s vodikom, kisikom, dušikom, fosforom i sumporom (znači 6 od 118 kemijskih elemenata), veći je naglasak na građu tvari nego na prisutne vrste atoma. Stoga je korištenje vizualizacije, primarno prikazom strukturnih formula, neizostavan dio cijelog područja organske kemije. Kao primjere obrazovnih ishoda potpomognutih vizualizacijom mogu se istaknuti:

- uspoređuje organske tvari po sastavu, vrsti i svojstvima.
- analizira kemijske promjene na primjerima reakcija anorganskih i organskih tvari
- povezuje rezultate pokusa s konceptualnim spoznajama
- povezuje dužinu lanca alkana s fizikalnim svojstvima tog alkana
- uspoređuje fizikalna svojstva alkana s fizikalnim svojstvima alkena i alkina
- povezuje razlike u topljivosti alkana, alkohola i kiselina u vodi s funkcijskim skupinama koje spoj sadrži i građom tvari
- uočava zakonitosti uopćavanjem podataka prikazanih crtežima, grafikonima i tablicama

Četvrti razred uglavnom obrađuje područje biokemije, koja se izravno nadovezuje na organsku kemiju te su ishodi organske kemije apsolutno nužni za daljnje usvajanje znanja iz biokemije. Uz to, u četvrtom se razredu biokemija može povezati s nastavnim sadržajima iz biologije preko animacijskih vizualizacija procesa u stanici. Ishodi:

- objasniti na temelju molekulske građe zašto se lipidi? i voda ne miješaju
- objasniti na temelju molekulske građe kako djeluju emulgatori
- usporediti topljivost mono- i disaharida s topljivosti polisaharida u vodi na temelju njihove molekulske građe
- razlikovati primarnu, sekundarnu, tercijarnu i kvaternu strukturu proteina
- usporediti veličine molekula, proteina, stanica i višestaničnih organizama



### 6.2.1. Kemija i susjedne discipline

Analogno novom kurikulumu iz kemije, kurikularna reforma donosi nove kurikulume i za fiziku<sup>39</sup>, biologiju<sup>40</sup> i matematiku.<sup>41,42</sup>

Kemija, kao središnja prirodoslovna znanost, prodire svojom tematikom u susjedna područja fizike i biologije.<sup>43</sup> Stoga, razumijevanje koncepata iz tih disciplina može olakšati razumijevanje koncepata iz kemije i obratno. Uz fiziku i kemiju, matematika paralelno uvodi nužne koncepte za razumijevanje vizualizacije i obrade podataka kao što su omjer i proporcija, prikazivanje i analiza podataka, sustavi linearnih jednadžbi i koncept funkcije i njenog grafičkog prikaza te baratanje korijenima i eksponentima. Sposobnost čitanja grafova je za fiziku i kemiju jednako elementarna kao i sposobnost čitanja riječi. Kako je matematika jezik kojim opisujemo svijet u svim područjima znanosti, čak i izvan prirodoslovlja, matematička pismenost jednako je ključna kao i poznavanje govornog jezika.

Fizika i kemija dijele mnoge koncepte, jer atomi i molekule slijede zakone fizike. Dapače, gotovo da i nema koncepata koji se obrađuju tijekom nastave fizike koji se ne mogu primijeniti na kemiju. Moglo bi se reći da su kemija i fizika dva različita pristupa istom području – ponašanju tvari od kojih je građen svijet. Tijekom osnovne škole, nastavni sadržaji fizike i kemije se uvelike prožimaju, jer uvode ne samo nove nastavne sadržaje već i nove načine razmišljanja na kojima se temelji znanstveni pristup svijetu. Promatranje, usporedba i predviđanje svojstava tvari te razumijevanje načina na koji nam poznavanje tih svojstava služi kako bismo izgradili temelje modernog društva postavljaju se kao opći nastavni cilj. Bez poznavanja svojstava raznih materijala nikad ne bismo mogli izgraditi energetske učinkovite i izdržljive infrastrukture na kojoj počiva moderan stil života. Osnovnoškolski nastavni program fizike obrađuje osnove građe tvari, energije, struje i optike. Svakom kemičaru nužno je barem osnovno razumijevanje koncepata iz termodinamike kao što su energija, toplina, tlak, dinamika fluida pa čak i gravitacijska sila (koja nije dio termodinamike, ali izrazito utječe na ponašanje gotovo svih sustava na Zemlji) kako bi mogao razumjeti i primjenjivati plinske zakone. Sva ova područja obrađuju se na satima fizike u prvom razredu gimnazije.

Drugi razred sadrži područja kao što su elektrostatika, elektrodinamika i magnetizam; oni su pak nužni za razumijevanje elektrokemije i redukcijsko-oksidacijskih promjena. U trećem razredu fizika obrađuje harmonijsko titranje, valnu mehaniku i optiku te općenito uvodi koncept valova. Osim što se zakoni optike u kemiji primjenjuju na analitičke metode poput

spektrofotometrije, razumijevanje ideje valova temelj je za razumijevanje apstraktnijih koncepata u kemiji poput molekularnog modeliranja te ponašanje elektrona općenito, budući da se najbolji trenutni model za opisivanje ponašanja elektronskog oblaka temelji na kvantnoj fizici i modeliranju elektrona i kao vala i kao čestice.

U četvrtom razredu se područja fizike i kemije ponovo temeljito podudaraju unutar nuklearne i čestične fizike, budući da se sad pristupa atomima i subatomske česticama, koje su osnovni gradivni elementi koje se proučava i unutar kemije.

S druge strane prirodoslovnog spektra kemija usko surađuje s disciplinom biologije. Živa bića izgrađena su od atoma i molekula, te je jedan od osnovnih preduvjeta života, metabolizam, upravo skup kemijskih reakcija čija je svrha prerada hrane radi osiguravanja za život potrebne energije i proizvodnja potrebnih gradivnih tvari za naša tijela, ali i izbacivanje nepotrebnih i otrovnih tvari iz tijela.

U osnovnoj školi, nastava biologije počinje od definicije života, koji je sam po sebi skup kemijskih procesa. Osnovne gradivne jedinice živih bića, stanice, same su građene od osnovnih gradivnih jedinica kemije – atoma i molekula. Tako su od samog početka kemija i biologija neraskidivo povezane. Nastava osmog razreda biologije sadrži uvod u genetiku preko molekula DNA kao nasljedne tvari i osnovnih informacija potrebnih za građu i rast živih organizama. Te se godine unutar biologije obrađuju i osjetila, koja spajaju područja kemije, fizike i biologije u jednu jedinstvenu cjelinu.

Jedna od početnih tema u srednjoškolskom programu biologije prvog razreda gimnazije je „kemijska osnova života”. Najveća preklapanja disciplina kemije i biologije nalaze se u područjima organske i biološke kemije (skraćeno poznate kao biokemija), koje se bave osnovnim gradivnim jedinicama života. Treći razred nastave biologije bave se biološkim procesima fotosinteze, staničnog disanja i ostalim mehanizmima metabolizma. U četvrtom razredu, biologija se bavi primarno genetikom i ekologijom, disciplinama koje svoje temelje nalaze upravo u kemiji.

#### *6.2.2. Prednosti korištenja računala i računalnih programa u vizualizaciji u nastavi kemije*

Za razliku od fizičkih modela, npr. kalotnih modela atoma i molekula, koje se koristi u nastavi kemije, računalni program je manje ograničen brojem i vrstama „kuglica” koje možemo kupiti. Računalnim programom može se prikazati tisuće molekula te svaka pojedina vrsta

atoma. U odnosu na neinteraktivne statične slike, digitalni modeli molekula su interaktivni. Moguće ih je rotirati i pomicati, staviti u omjer da se bolje prikažu relativne veličine itd. Iako je digitalni prikaz još uvijek dvodimenzijski, rotacijom modela molekula u simuliranom trodimenzijском prostoru dobivamo veći uvid u dimenzije molekula u pravom svijetu. Osim samih molekula, možemo vizualizirati kemijske procese kao što su nastajanje kemijskih veza, međumolekulske interakcije, raspadanje ili nastajanje kristalne strukture...

Dok analogne modele molekula nakon rada s njima moramo rastaviti i pospremiti u kutije, digitalne modele možemo spremiti na računalo, poslati preko interneta ili jednostavno nositi sa sobom, zajedno s programom za vizualizaciju, na USB disku, te ih pokrenuti na gotovo svakom računalu. Naravno, samim time, nedostatak digitalnih modela je što moramo imati pristup računalu.

### 6.3. Vizualizacija u kemijskim udžbenicima

Udžbenici iz kemije za osnovne i srednje škole se, kao što je i za očekivati, koriste raznim metodama vizualizacije u svrhu približavanja koncepata kemije učenicima. Nakon osnovne škole, kroz razrede je veća razlika u temama koje se vizualiziraju nego li metodama vizualizacije koje su korištene. Kroz sedmi razred najviše se koriste sheme odnosa definicija (tvari se dijele na čiste tvari i smjese, koje se pak dijele na homogene i heterogene smjese itd.), shematski prikazi i slike aparatura. Uvode se kemijski simboli te modeli atoma i molekula, jednadžbe kemijskih reakcija i grafovi (npr. omjeri elemenata u atmosferi).<sup>46,47</sup> U osmom se razredu uvode strukturne formule kako bi se lakše približila svojstva organskih spojeva, čija svojstva uvelike ovise o prostornoj građi molekula.<sup>48,49</sup>

Srednjoškolski udžbenici ne uvode nove metode vizualizacije, nego već postojećim metodama prikazuju kompleksnije sadržaje, kao što su fazni dijagrami, tablice standardnog elektrodnog potencijala, rezonantne strukture molekula poput ozona itd.<sup>50,51</sup>

#### 6.4. Prijedlog i objašnjenje ciljanih metoda vizualizacije

Računalna tehnologija postala je životna svakodnevnica. Kako 21. stoljeće napreduje, sve više tehnologije poprima *smart* računalne elemente – kuhinjski aparati, automobili, kuće... Najveća promjena životne paradigme ne dolazi samo od računala, već od načina na koji su sva računala povezana – internetom. Moderni internet pruža nam mogućnost da se povežemo s ljudima iz cijelog svijeta te pristupamo dosad neviđenoj količini informacija, koja već aktivno oblikuje društvo na globalnoj razini. Korištenje moderne tehnologije, specifično računala i interneta, postaje neizostavni dio modernog života te mu se treba pristupiti s oprezom. S obzirom na intenzitet interakcija novijih generacija s računalima, stariji mediji kao što su knjige polako gube bitku za pažnjom mladih.

Da bi nastava svojim oblikom ostala relevantna nadolazećim generacijama, koje rukuju računalima gotovo od rođenja, nužno je ugraditi računalnu tehnologiju u sam nastavi proces. Stoga valja u nastavi kemije iskoristiti urođenu bliskost nadolazećih generacija s tehnologijom kako bismo im, *njihovim jezikom*, približili kemijske koncepte. Osim pristupa većini znanja koje ljudska vrsta posjeduje, internet nam pruža mogućnost dijeljenja edukacijskih materijala koji svojim pristupačnim i slikovitim izgledom olakšavaju apsorpciju znanja te pobuđuju želju za učenjem.

Računalni program *Visual Molecular Dynamics* (dalje u tekstu VMD) omogućuje prikaze digitalnih modela atoma na više različitih načina. *VDW* opcija prikazuje atome kao kuglice van der Waalsovih polumjera. Opcija *CPK*, nazvana po njenim tvorcima Robertu Coreyu, Linusu Paulingu i Walteru Koltunu, prikazuje atome kao tvrde kuglice povezane *štapićima* koji predstavljaju kemijske veze. *CPK* model je zapravo dogovoreni set boja za prikaz različitih atoma. VMD odstupa od pravila *CPK* modela time da atome ugljika prikazuje svijetloplavo, da se bolje vide u kontrastu s pozadinom, koja je po osnovnim postavkama crna.

Prilika za korištenje računala u nastavi kemije ima mnogo, s obzirom na rastuću količinu računalnih programa za vizualizaciju. Stoga je osmišljen 90-minutni nastavni sat u kojem će se započeti s uporabom računalnog programa *Visual molecular dynamics*, koji je besplatan, lako dostupan i svestraniji u odnosu na druge slične programe.

## 6.5. Objašnjenje predloženog nastavnog sata

### 6.5.1. Potrebni materijali i metode za provedbu nastavnog sata

**Vježba:** Kemija u računalu

**Pribor:** Računala (idealno dva učenika po računalu), računalni program *Visual Molecular Dynamics*

**Primjeri molekula:** H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, NH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub>.<sup>44,45</sup>

#### Ključna opažanja tijekom vježbe

Usporedba veličina atoma uporabom VDW modela (C > N > O > H). Upozoriti učenike na ograničenost uporabe digitalnih modela (primjer molekule ozona i usporedba karakteristika CPK modela i stvarnih detalja građe molekule ozona). Prikazati razlike između valentnih kutova srodnih molekula [vode (104,5°), amonijaka (107°) i metana (109,5°)] i povezati ih s rezultatima primjene VSEPR modela.

#### Glavni nastavni ciljevi

Uporabom računalnog programa upoznati učenike s različitim načinima prikazivanja modela molekula te s njihovim prednostima i nedostacima.

**Razred:** 3. razred srednje škole, gimnazija

**Oblik rada:** rad u paru

**Nastavni koncept:** Tvar

**Odgojno-obrazovni ishodi:** Primjenjivati kemijsko nazivlje i simboliku za opisivanje sastava tvari.

#### Prethodno potrebne vještine, znanja i sposobnosti

**Rukovati** računalnom periferijom (miš i tipkovnica)

**Slijediti** upute za rad u novom računalnom programu

**Nacrta** Lewisove strukturne formule zadanih kemijskih vrsta

**Predvidjeti** prostornu građu molekula uporabom VSEPR modela (na temelju LSF)

**Predvidjeti** relativne duljine veza na temelju reda veze

**Izračunati** broj veznih i neveznih elektrona na temelju Lewisovog strukturnog prikaza

**Usporediti** polumjere atoma

### **Procjena opasnosti i rizika**

Nema.

### **Povezanost s drugim nastavnim predmetima**

#### Informatika

Informatička znanja potrebno je integrirati u kemijske sadržaje radi lakšega rješavanja kemijskih problema, oblikovanja kemijskih modela, obrade i prikaza podataka te pristupa informacijama.

#### Matematika

Analiza, izračun, prikaz i interpretacija podataka nije moguća bez odgovarajućih matematičkih znanja i vještina.

### **Primjena računala u vizualizaciji u nastavi kemije**

Istražiti mogućnosti digitalnih prikaza modela molekula. Istražiti mogućnosti računalnih programa za vizualizaciju kemijskih vrsta. Povezati već poznate nastavne sadržaje s novim pristupom vizualizaciji (uz nastavnikovo navođenje).

#### *6.5.2. Tijek nastavnog sata*

Učenici su podijeljeni u parove. Svaki učenik ima radni listić, a svaki par jedno računalo. Na početku nastavnog sata učenici moraju utvrditi imaju li sav potreban pribor za izvođenje nastavnog sata – je li na računalu instaliran potreban program te sadrži li sve potrebne datoteke. Nakon toga, prvi nastavni sat posvećen je upoznavanju s funkcijama računalnog programa *VMD*, što se postiže čitanjem prve stranice radnog listića (Upute za rad) uz navođenje nastavnika. Kad je priprema obavljena, učenici u parovima započinju rješavanje zadataka s radnog listića.

Cilj KORAKA 1 do 4 je razvijanje učenikove sposobnosti slijeđenja uputa u radu s nepoznatim programom i razvijanje vještine rukovanja računalnim programom i digitalnim

modelima molekula. Dodatno, cilj KORAKA 3 je potaknuti samostalno istraživanje opcija računalnog programa. Za uvođenje računalnih programa u nastavu kemije potrebno je 45 minuta za upoznavanje učenika s odabranim programom. Za samostalno rješavanje zadataka s radnog listića predviđeno je drugih 45 minuta (nastavak lekcije).

Da bi riješili Zadatak 1 učenici trebaju primijeniti već usvojena znanja kako bi prikazali Lewisove strukturne formule zadanih molekula, povezali dogovorene boje za prikaz modela atoma s prikazom poznatih kemijskih vrsta i pravilno identificirali modele molekula. Zadatak 2 nadovezuje se na Zadatak 1 te zahtijeva primjenu VSEPR modela i predviđanje prostorne građe zadanih kemijskih vrsta.

Nakon Zadatka 1 i Zadatka 2, učenici trebaju opisati rješenja za svaku kemijsku vrstu, a nastavnik će se uporabom Power Point prezentacije pobrinuti da svi učenici imaju točna rješenja. Tijekom diskusije učenici se moraju ispravno izražavati i na taj način uspješno prenijeti poruke o broju veznih i neveznih elektronskih parova neke kemijske vrste i karakteristikama izrađenih modela.

Da bi riješili Zadatak 3 učenici moraju korektno uporabiti računalni program kako bi popunili tablicu u radnom listiću (tablica 1). Cilj podzadataka 3.1 i 3.2 je usporedba otprije poznatih svojstava molekula s rezultatima koji su dobiveni rješavanjem zadatka.

Cilj Zadatka 4 je povezivanje vizualnog prikaza i podatke iz Zadatka 3 sa svojstvima atoma koja se može iščitati u periodnom sustavu elemenata (npr. smanjenje radijusa atoma unutar iste periode porastom atomskog broja).

Ukupni cilj predloženog nastavnog sata je upoznati učenike s novim metodama interakcije s kemijskim nastavnim sadržajima i time osvijestiti mogućnost samostalnog učenja otkrivanjem koje ne zahtijeva klasičan kemijski pribor i kemikalije te povezati kemijske koncepte s konceptima informatike. Sekundarni cilj predloženog nastavnog sata je ponavljanje nastavnih sadržaja i provjera ostvarenih obrazovnih ishoda povezanih s građom tvari, Lewisovom simbolikom i razumijevanjem VSEPR modela.

## § 7. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

Da – Dalton

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

DFT – density functional theory, teorija funkcionala gustoće

FM1-FM6 – tautomeri formicina A

GAFF – general Amber force field

H. pylori – *Helicobacter pylori*

HGPRT – hipoksantin-gvanin fosforibozil transferaza

PNP – purin nukleozid fosforilaza

*Hp*PNP – Purin nukleozid fosforilaza *Helicobacter pylori*

m – metar

ns – nanosekunda

ps – pikosekunda

fs – femtosekunda

PES – *potential energy surface*, ploha potencijalne energije

PRPP – fosforibozil pirofosfat

RMSD – root mean square distance

RMSF – root mean square fluctuation

VMD – visual molecular dynamics

VDW – van der Waals



## § 8. LITERATURNI IZVORI

1. I. Mladenova-Hristova, O. Grekova, A. Patel, *J Microbiol Immunol Infect* **50** (2017) 265–269.
2. M. Baele, F. Pasmans, B. Flahou, K. Chiers, R. Ducatelle, F. Haesebrouck, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **55** (2009) 306–313.
3. P. Bytzer, J. F. Dahlerup, J. R. Eriksen, D. E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt, Danish Society for Gastroenterology, *Dan Med Bull* **58** (2011) C4271.
4. S. Dimola, M. L. Caruso, *Anticancer Res.* **19** (1999) 3889–3894.
5. R. Neiger, K. W. Simpson, *J. Vet. Intern. Med.* **14** (2000) 125–133.
6. L. Gatta, N. Vakil, D. Vaira, C. Scarpignato, *BMJ* **347** (2013) f4587.
7. N. R. Salama, M. L. Hartung, A. Müller, *Nat. Rev. Microbiol.* **11** (2013) 385–399.
8. J. S. Gots, *J. Biol. Chem.* **228** (1957) 57–66.
9. G. Liechti, J. B. Goldberg, *J. Bacteriol.* **194** (2012) 839–854.
10. P. Belenky, F. G. Racette, K. L. Bogan, J. M. McClure, J. S. Smith, C. Brenner, *Cell* **129** (2007) 473–484.
11. A. Bzowska, E. Kulikowska, D. Shugar, *Pharmacology & Therapeutics* **88** (2000) 349–425.
12. M. Luić, Z. Štefanić, *2016* **89** 1–6.
13. A. Modrak-Wójcik, K. Stępiak, V. Akoev, M. Żółkiewski, A. Bzowska, *Protein Sci* **15** (2006) 1794–1800.
14. M. Hori, T. Takita, G. Koyama, T. Tadeuchi, H. Umezawa, *J. Antibiot.* **17** (1964) 96–99.
15. *Formycin* (n.d.). <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/smb00287>.  
Pristupljeno 14. studenog 2019.
16. G. P. Ceasar, J. J. Greene, *J. Med. Chem.* **17** (1974) 1122–1124.
17. A. Bzowska, E. Kulikowska, D. Shugar, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* **1120** (1992) 239–247.
18. pubmeddev, G. R. and L. LS, (n.d.). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7150349>.  
Pristupljeno 14. studenog 2019.
19. pubmeddev, D. M. al et, (n.d.). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24155391>.  
Pristupljeno 14. studenog 2019.
20. R. P. Agarwal, G. W. Crabtree, R. E. Parks, J. A. Nelson, R. Keightley, R. Parkman, F. S. Rosen, R. C. Stern, S. H. Polmar, *J. Clin. Invest.* **57** (1976) 1025–1035.
21. pubmeddev, M. W. al et, (n.d.). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7857678>.  
Pristupljeno 14 studenog 2019.
22. pubmeddev, M. W. al et, (n.d.). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8812726>.  
Pristupljeno 14. studenog 2019.
23. W. Xu, K. M. Chan, E. T. Kool, *Nature Chemistry* **9** (2017) 1043–1055.
24. E. F. Rossomando, J. H. Jahngen, J. F. Eccleston, *Proc Natl Acad Sci U S A* **78** (1981) 2278–2282.
25. J. H. Jensen, *Molecular Modeling Basics*, CRC Press, 2010.
26. W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, *Journal of Molecular Graphics* **14** (1996) 33–38.
27. Z. Štefanić, G. Mikleušević, M. Luić, A. Bzowska, I. Leščić Ašler, *International journal of biological macromolecules* **101** (2017) 518–526.

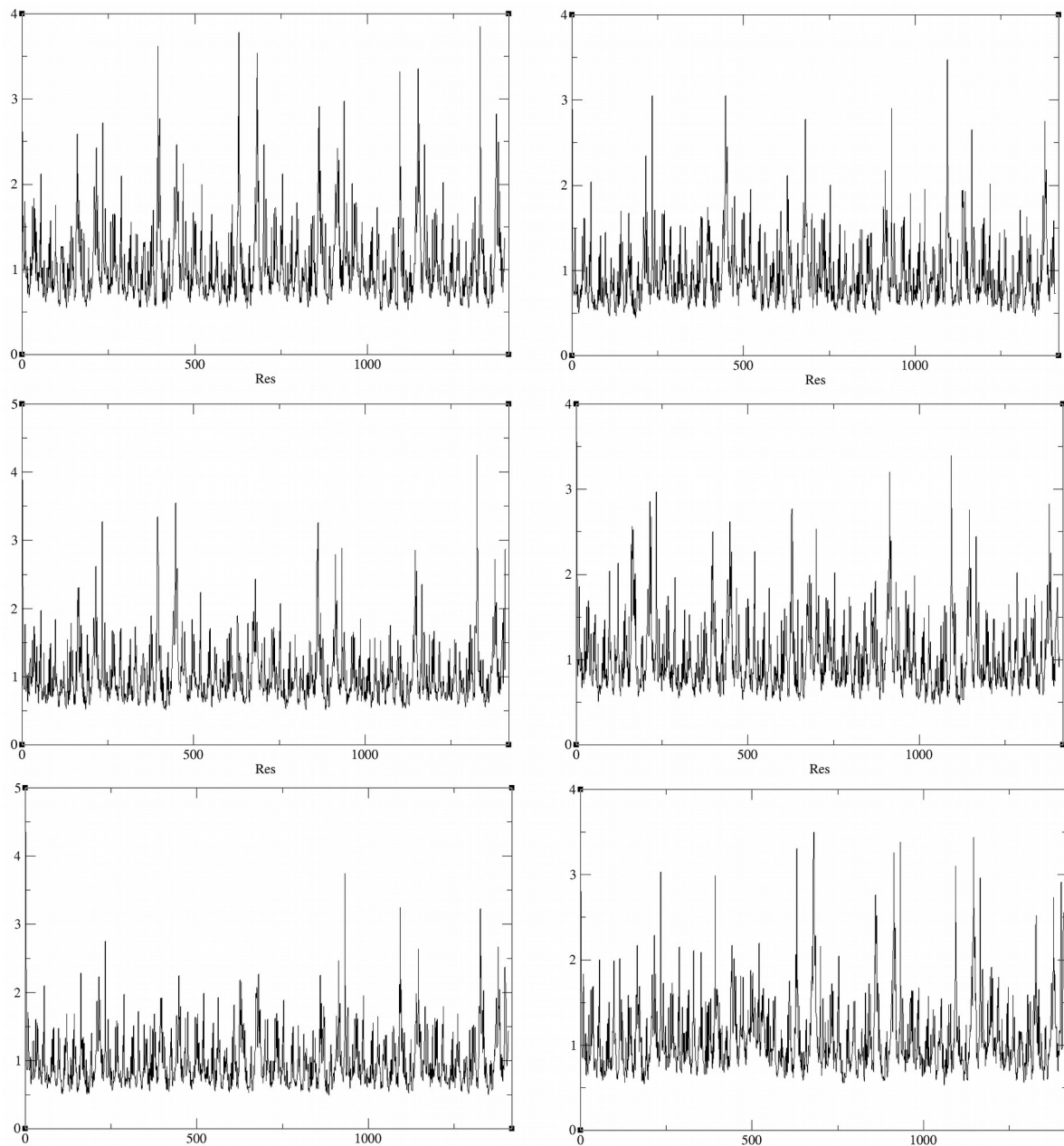
28. G. Vriend, *WHAT IF: A molecular modeling and drug design program*. *J. Mol. Graph.* (1990) 8, 52-56.,
29. V. Vuković, Računalno istraživanje purinske nukleozidne fosforilaze iz bakterije *Helicobacter pylori*, master's thesis, University of Zagreb. Faculty of Science. Department of Biology., 2018. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:904676>. Pristupljeno 29. kolovoza 2019.
30. B. Bertoša, V. Vuković, M. Luić, *7th EuCheMS* (2018) PL04.
31. (n.d.). <http://www2.cs.uregina.ca/~hepting/projects/pictures-worth/>. Pristupljeno 15. veljače 2020.
32. A. B.-L. S. C. October 24, 2017, *Livescience.Com* (n.d.). <https://www.livescience.com/60752-human-senses.html>. Pristupljeno 15. veljače 2020.
33. *BrainLine* (2008). <https://www.brainline.org/article/vision-our-dominant-sense>. Published November 6, 2008. Pristupljeno 15. veljače 2020.
34. N. S. Fleur, *The New York Times* (2018).
35. M. Aubert, P. Setiawan, A. A. Oktaviana, A. Brumm, P. H. Sulistyarto, E. W. Saptomo, B. Istiawan, T. A. Ma'rifat, V. N. Wahyuono, F. T. Atmoko, J.-X. Zhao, J. Huntley, P. S. C. Taçon, D. L. Howard, H. E. A. Brand, *Nature* **564** (2018) 254–257.
36. E. R. Tufte, *Envisioning information*, Cheshire, Conn. Graphics Press, 1990. <http://archive.org/details/envisioninginfor00tuft>. Pristupljeno 15. veljače 2020.
37. J. K. Gilbert, ed., *Visualization in Science Education*, Springer Netherlands, 2005.
38. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_01\\_10\\_208.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_01_10_208.html). Pristupljeno 15. veljače 2020.
39. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_01\\_10\\_210.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_01_10_210.html). Pristupljeno 15. veljače 2020.
40. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_01\\_7\\_149.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_01_7_149.html). Pristupljeno 15. veljače 2020.
41. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_01\\_7\\_146.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_01_7_146.html). Pristupljeno 15. veljače 2020.
42. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_01\\_10\\_209.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_01_10_209.html). Pristupljeno 15. veljače 2020.
43. [http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web\\_Sikirica/index.htm](http://eskola.chem.pmf.hr/udzbenik/web_Sikirica/index.htm). Pristupljeno 16. veljače 2020.
44. [https://ww2.chemistry.gatech.edu/~lw26/structure/small\\_molecules/index.html](https://ww2.chemistry.gatech.edu/~lw26/structure/small_molecules/index.html). Pristupljeno 16. veljače 2020.
45. <http://www.ch.ic.ac.uk/rzepa/mim/environmental/html/index.htm>. Pristupljeno 16. veljače 2020.
46. A.B. Pecha, Ž. Mrklič, M. Petković, *Svijet stvari 1*, Profil, Zagreb, 2001
47. M. Bukovac, D. Magdalenić, M. Sikirica, *Kemija otkrivanjem za 7. razred*, Školska knjiga, Zagreb, 2004.
48. M. Bukovac, D. Magdalenić, M. Sikirica, *Kemija otkrivanjem za 8. razred*, Školska knjiga, Zagreb, 2004.
49. D. Mrvoš-Sermek, N. Ribarić, *Kemija 8*, Alfa, Zagreb, 2014.
50. A. Habuš, V. Tomašić, *Opća kemija*, Profil, Zagreb, 1998.
51. Z. Popović, Lj. Kovačević, *Kemija 3*, Alfa, Zagreb, 2009.

## § 9. DODATAK

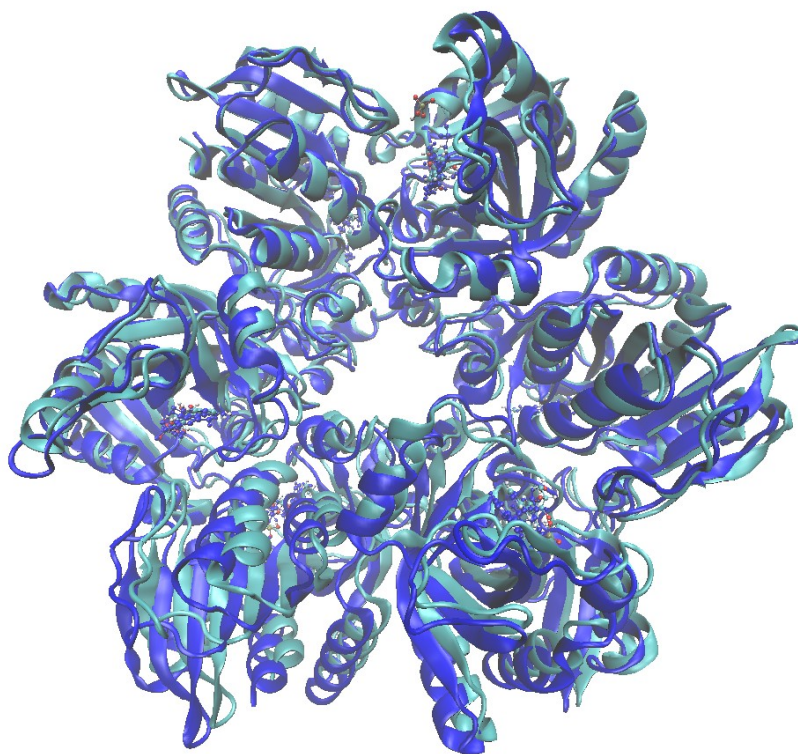
Dodatak 1- sume zastupljenosti i interakcija liganada i aminokiselina

	FM1	FM3	FM4	FM5	FM6
ARG43	124,16	25,37	40,11	29,57	44,32
ARG87	20,15	34,63	11,66	38,86	38,16
ARG21					
7	5,26	2,39	3,13	65,71	6,36
ASP21	1,26	0	1,1	0	1,84
ASP11					
2	0	3,72	0	0	0
ASP15					
7	0	0,53	0	0	0
ASP20					
4	466,68	130,03	204,48	168,88	119,91
CYS91	5,76	10,33	7,81	7,4	4,47
CYS20					
0	0	0	0	0	0,1
GLU16					
3	0	0,85	0	0	0,1
GLU17					
9	29,1	53,98	55,32	19,29	88,9
GLU18					
1	719,47	231,97	279,12	435,98	266,2
GLY20	0,79	1,02	14,17	0,63	3,74
GLY63	0	0,11	0,57	0	0,24
GLY65	19,58	6,38	47,19	0	0
GLY89	1,53	0,96	0,26	2,41	2,43
GLY92	8,63	11,05	10,26	13,32	8,98
HID4	83,95	28,04	39,53	73,03	2,67
HID62	0	0	0,05	0	0,05
HIE123	0	0,48	0	0	0
HIE205	0	0,05	0	0	0,97
HIP4	102,84	0	42,18	0	10
ILE71	0	0,7	1,98	2,15	0
ILE178	3,01	13,41	8,64	55,27	13,46
LEU20					
6	1,84	7,75	4,84	4,2	4,79
MET1	0	0	0	0	0,73
MET64	17,64	5,1	12,02	2,06	7,69

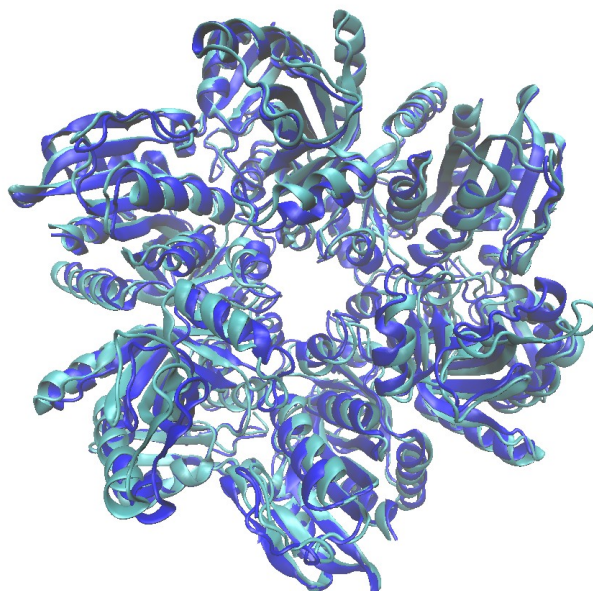
MET17					
0	0	0,37	0	0	0
MET18					
0	180,91	164,68	146,99	196,84	270,07
THR2	0	0,05	0	0	0
THR90	381,49	212,97	287,63	328,4	517,46
THR16					
4	0	0,05	0	0	1,46
PHE15					
4	0	0	0	0	0,19
PHE15					
8	16,57	100,27	10,47	5,28	1,41
PHE15					
9	30,01	45,51	35,87	69,65	105,41
PHE16					
2	0	0,69	0	0	0
PHE16					
7	0,89	7,22	5,67	0,09	0,15
SER15					
6	0	152,32	6,86	5,18	1,07
SER16					
1	1,64	76,12	16,51	0,72	5,39
SER20					
3	77,99	49,63	20,98	20,81	17,05
SER21					
3	0	0	1,45	0	0
TYR16					
0	1,05	18,3	4,11	0	2,09
PRO3	0	0	0,1	0	0,05
LYS	0	0	0	0	0,19



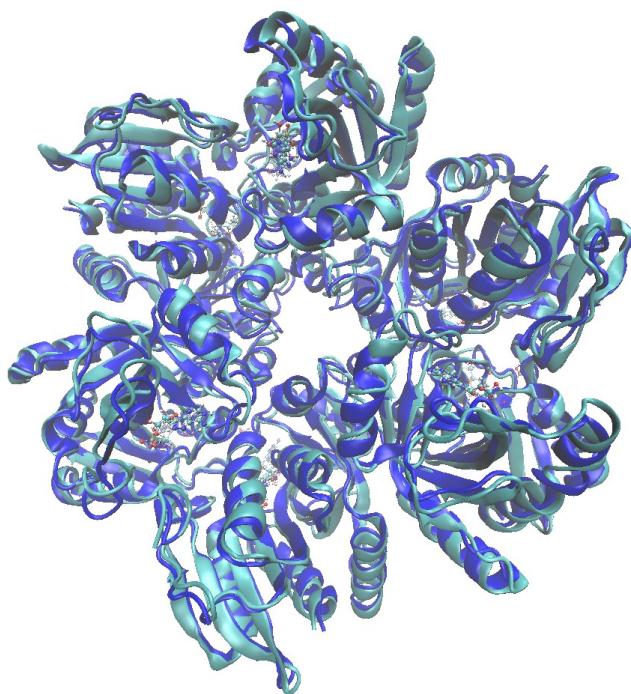
Dodatak 2. RMSF vrijednosti, s lijeva na desno, odozgo prema dolje: Sustav 0, Sustav 1, Sustav 3, Sustav 4, Sustav 5, Sustav 6



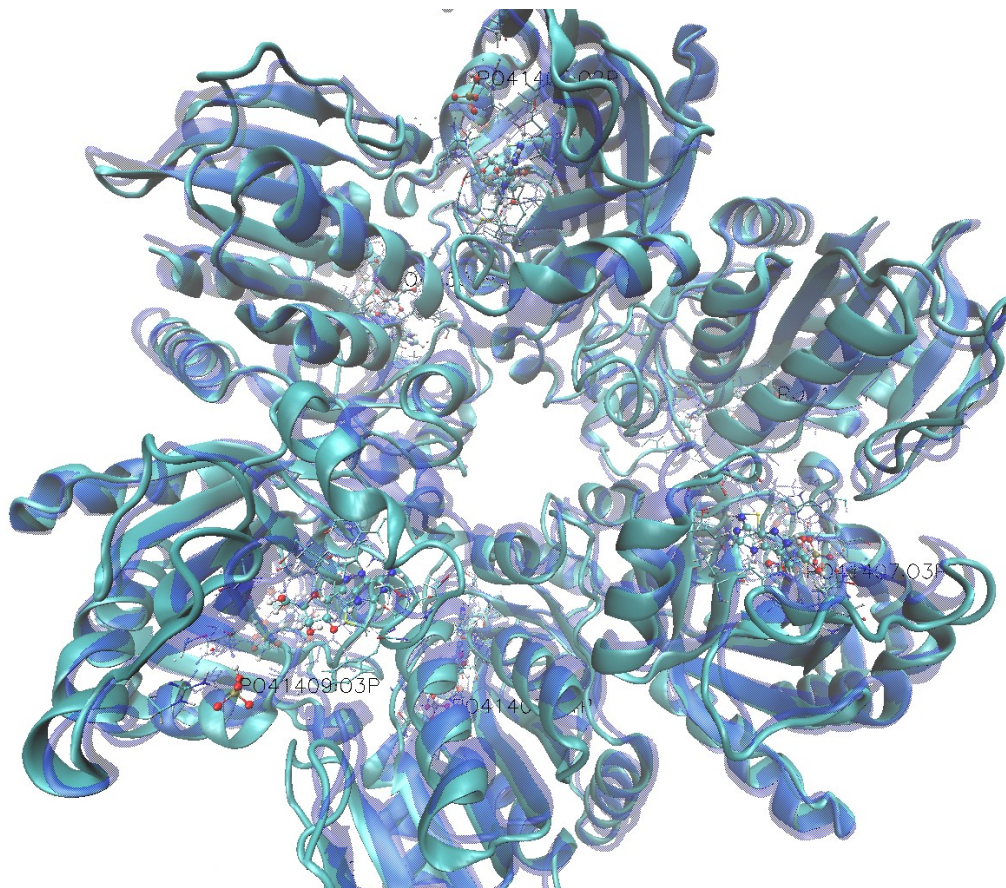
Dodatak 3. Vizualna usporedba početne (tamno plava) i konačne (tirkizna) konformacije Sustava 1.



Dodatak 4. Vizualna usporedba početne (tamno plava) i konačne (tirkizna) konformacije Sustava 3.

A 3D ribbon diagram of a protein complex, similar to the one in Dodatak 4. It shows two conformations: dark blue (initial) and cyan (final). In addition to the protein, there is a small, light-colored ligand or cofactor bound to the protein. The ligand is visible in both conformations, and its position appears to be relatively stable, though there might be slight adjustments in its orientation or interaction with the protein.

Dodatak 5. Vizualna usporedba početne (tamno plava) i konačne (tirkizna) konformacije Sustava 4



Dodatak 6. Vizualna usporedba početne (tamno plava) i konačne (tirkizna) konformacije  
Sustava 6.



Dodatak 7. Radni listić za nastavni sat, dio 1.

## Uputa za rad u programu

### KORAK 1 Učitavanje datoteke

Program pokreni dvoklikom na VMD ikonu na radnoj površini. Otvaraju se dva prozora, glavni prozor (*VMD Main*) i prozor za vizualizaciju. U glavnom prozoru kursorom miša klikni redom na **File – New Molecule – Browse** te potraži datoteku *Digitalni modeli*. U toj datoteci odaberi *Priprema1.pdb* te klikni na **Load**

### KORAK 2 Vizualizacija

U *VMD Main* prozoru klikni redom na **Graphics – Representations**, otvorit će se novi prozor (*Graphical Representations*) koji sadrži prozor s odabirom datoteka, atoma unutar datoteka (default: all tj. svi atomi). U padajućem izborniku odaberi opciju CPK. Isprobaj i druge opcije ovog padajućeg izbornika.

### KORAK 3 Upravljanje molekulama u prozoru za vizualizaciju

**VMD** dopušta pomicanje i rotiranje svake molekule zasebno te pomicanje i rotiranje kamere. Mod za rotaciju kamere uključi se pritiskom na tipku **R**, a mod za pomicanje (translaciju) uključuje se pritiskom na tipku **T**.

### KORAK 4 Mjerenje svojstava molekula u prozoru za vizualizaciju

Pritiskom na numeričku tipku 1 uđi u mod za označavanje atoma. Dovedi kursor na željeni atom u prikazu pa lijevom tipkom miša klikni na atom kako bi program prikaza vrstu atoma.

Pritiskom na numeričku tipku 2 uđi u mod za mjerenje udaljenosti. Odabirom željenih atoma (uzastopno klik lijevom tipkom miša) prikazat će se njihova međusobna udaljenost. Ako su ta dva atoma povezana kovalentnom vezom, program će prikazati duljinu veze. Udaljenost je izražena u angstromima, Å, tj.  $1 \times 10^{-10}$  m.

Pritiskom na numeričku tipku 3 uđi u mod za označavanje kuta. Uzastopni klik lijevom tipkom kursora na tri lančano povezana atoma u molekuli prikazat će se vrijednost valentnog kuta u stupnjevima.

Pritiskom na numeričku tipku 7 uđi u mod za pomicanje modela molekula. Klik lijevom tipkom miša (uz stalno držanje) omogućuje translaciju modela molekule, dok istovremeni pritisak tipke SHIFT i pomicanje miša omogućuju rotiranje modela molekule oko odabranog atoma.

Dodatak 8. Radni listić za nastavni sat, dio 2.

**ZADATAK 1** Učitaj datoteku *Zadatak 1.pdf* i slijedi upute dane u KORACIMA 1 do 3 u *Uputama za rad u programu*.

Nacrtaј Lewisove strukturne formule molekula koje su prikazane na ekranu računala.

1) 2)

3) 4)

5) 6)

**ZADATAK 2** Popuni tablicu.

Molekula	Broj elektronskih parova			Oblik molekule
	veznih	neveznih	ukupan	
H <sub>2</sub> O	2	2	4	kutni, V-oblik
CO <sub>2</sub>	4	0	4	linearan
O <sub>2</sub>	2	4	6	linearan
O <sub>3</sub>	3	6	9	kutni, V-oblik
NH <sub>3</sub>	3	1	4	trigonska piramida
CH <sub>4</sub>	4	0	4	tetraedar

**ZADATAK 2.1** Usporedi svoje predviđene oblike molekula s prikazom u računalnom programu.

Prikaz u računalnom programu odgovara predviđenim oblicima molekula.

**ZADATAK 3** Slijedi upute iz KORAKA 4 uputa za rad u programu i izmjeri duljinu veza i kuteve za navedene molekule iz datoteke *Zadatak 1.pdb*.

molekula	duljina veze	kut
$\text{H}_2\text{O}$	duljina O–H veze	kut H–O–H
$\text{CO}_2$	duljina C=O veze	kut O–C–O
$\text{O}_2$	duljina O=O veze	–
$\text{O}_3$	duljina O–O veze	–
$\text{O}_3$	duljina O=O veze	kut O–O–O
$\text{NH}_3$	duljina N–H veze	kut H–N–H
$\text{CH}_4$	duljina C–H veze	kut H–C–H

**ZADATAK 3.1.** Usporedi duljine dviju veza u modelu molekule ozona. Objasni uočenu razliku s Lewisovim prikazom molekule ozona.

Molekula ozona sadrži dvije veze, jednu dulju i jednu kraću. Dulja veza predstavlja jednostruku a kraća dvostruku vezu.

**ZADATAK 3.2.** Usporedi valentne kutove u modelima molekula  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$  i  $\text{CH}_4$ . Objasni razliku pomoću VSEPR modela.

U molekuli metana su svi valentni kutevi jednaki, tj.  $109,5^\circ$ . Prema VSEPR modelu, nevezni elektronski parovi se jače odbijaju nego vezni, prema tome je valentni kut između atoma vodika u molekuli amonijaka manji nego u molekuli metana, jer nevezni elektronski par odbija atome vodika jače nego li se oni međusobno odbijaju. Iz istog razloga je valentni kut između atoma vodika u molekuli vode još manji, jer ona sadrži dva nevezna elektronska para.

**ZADATAK 4** Slijedi upute iz KORAKA 2 u Uputama za rad u programu te prikaži modele VDW načinom prikaza. Koristeći taj prikaz i podatke iz ZADATKA 3, poredaj vrste atoma od najvećeg prema najmanjem. Poveži dobiveni redosljed s položajem pojedinih vrsta atoma u periodnom sustavu elemenata.

$\text{C} > \text{N} > \text{O} > \text{H}$

Na zadnjem mjestu je atom vodika, koji je najmanji atom jer je građen od jednog protona i jednog elektrona. Ostali atomi su poredani po rastućem atomskom broju, što odgovara činjenici da se unutar iste periode rastom atomskog broja polumjer atoma smanjuje.

## § 1. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci

Ime i prezime: Tin Miladinović

Datum rođenja: 08. rujna 1989.

Mjesto rođenja: Varaždin

### Obrazovanje

1996-2004 Osnovna škola [II. osnovna škola, Varaždin]

2004-2008 Srednja škola [Rudarska i kemijska škola, Varaždin]

2008-2015 Preddiplomski studij [preddiplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb]

### Nagrade i priznanja

2002 Najčitatelj grada Varaždina

2018 Izniman uspjeh u studiranju

### Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2005-2008 Otvoreni dan Rudarske i kemijske škole

2015-2017 Otvoreni dan kemije

2016 Čime se bavi kemija? - radionica Školske knjige

2016 Dan škole, Pitomača

2017 Ljetna škola kemije Varaždin