

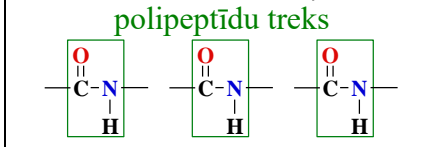
risinājumi [Aquaporin0SLat.pdf](#): ChemScape MDL  RasMol ; MAGE  FireFoxv3.5.5.

Eksperimentāls pētījums htdocsLocal: <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/AquaPorin1-0.htm>
 Rīgas Stradiņa universitātē Āra Kakša 2025 sagatavots eksperiments-pētījumu par olbaltumvielu **AQP0 acu-lēcas šūnai** [William E. C. Harries, David Akhavan, Larry J. W. Miercke, Shahram Khademi, Robert M. Stroud](#)
 Biokīmijas katedra Kalifornijas universitāte 2004 Proc.Natl.Acad.Sci. **1YMG.pdb** monomērs

Vizualizācijas - Display iespējas (izvēlnē: **Bumbiņu un Nūjiņu=Ball & Stick**
Nūjiņu=Stick Van der Vālsa rādiusus =Spacefill

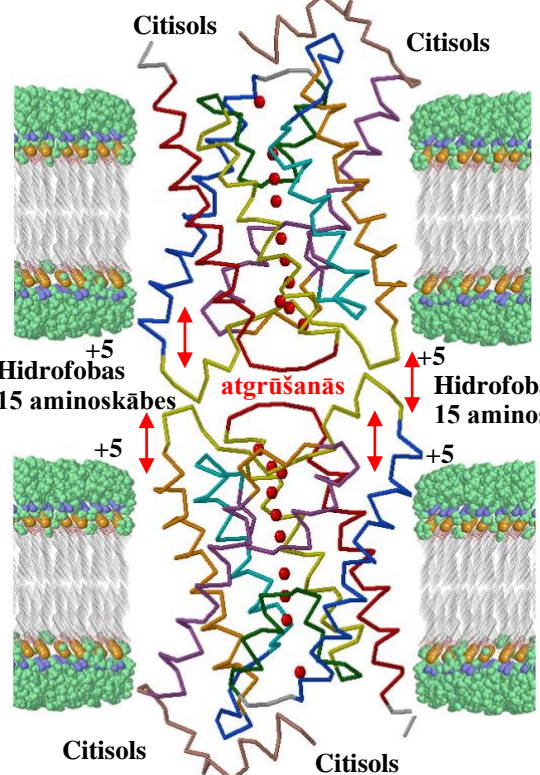
Atoms	Simbols	Krāsa	Atoma kovalento vērtību skaits
Ogleklis	C	gaiši Pelēks vai Melns	4
Ūdeņradis	H	Balts	1
Skābeklis	O	Sarkans	2 (donoru akceptoru ligandi līdz 4)
Slāpekļis	N	gaiši Zils	3 + 1 (donoru akceptoru ligandi līdz 4)
Sērs	S	gaiši Dzeltens	2 & 6
Fosfors	P	intensīvi Dzeltens	5 & 3
Nātrija jons	Na ⁺	intensīvi Zils	+1 (donoru akceptoru līdz 6)
Kalcija jons	Ca ²⁺	tumši Pelēks	+2 (donoru akceptoru līdz 6)
Magnija jons	Mg ²⁺	Zaļš	+2 (donoru akceptoru līdz 6)
Dzelzs jons	Fe ²⁺	pelēki Dzeltens	+2 (donoru akceptoru līdz 6)
Dzelzs jons	Fe ³⁺	pelēki Dzeltens	+3 (donoru akceptoru līdz 6)

Corey, Pauling, Kultins CPK krāsu shēmu **1965** patents **ASV** Olbaltumvielas **mugurkauls** ir **Aminoskābju Cα** oglekļa atomu



sānu virknes: **hidrofobas pelēkas**
polāras/polāras rozā un **gaiši zilās**
fizioloģiskā pH=7.36 vidē
skābe-COO⁻ negatīvs lādīnš
bāze-NH₃⁺ pozitīvs lādīnš

- N-termināla** aminoskābe ir Ser6..... un **C-termināla** aminoskābi Gly239.....?
 Cik aminoskābes veido Akvaporīna 0 **acu-lēcas šūnas** polipeptīda virkni 263...? skat. 6.lpp
- Kāda veida otrējās struktūras satur **1YMG.pdb** akvaporīns 0?... **alfa**, nav **beta**

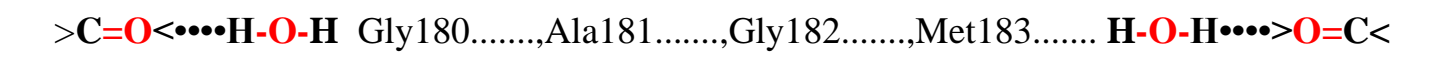


- Kāds skaits **alfa spirāles** veido akvaporīna 0 polipeptīda molekulas?..... **8+1 Alfa-spirāles**
- Vai **AQP0** satur **beta** struktūras, beta plāksnītes no **beta virknēm**? **nesatur**
- Cik **ūdens** molekulu skābekļa atomu **O** atrodas kanālā akvaporīnā 0 **1YMG.pdb**!10.....

10. Trīs aminoskābes atbildīgas par maksimālu sašaurinājumu vestibilā un viena aminoskābe ir orientēta uz centru nodrošina maksimālo sašaurinājumu! Asn15...., Thr12...., His40....

11. Piecas aminoskābes akvaporīna 0 **AQP0** polipeptīda **mugurkaula** virknē sašaurina kanāla diametru uz **1.99 Å**? Phe48, His172, Met176, Ala181, Arg187.

12. Kuru četrus aminoskābju **mugurkaula** karbonili **>C=O<...H-O-H** sekmē līnija veida **ūdens** molekulu līdzināšanos kanālā ar **ūdeņraža akceptoru mijiedarbības mehānismu saitē**?



13. Trīs aminoskābes veic līdzināšanos kanālā ar trīs **donora ūdeņraža saitēm** & četrām **ūdens** molekulām ar **akceptoru saitēm**? **4 H₂O<...H-N=C<** Asn119.....,Arg187.....,His172...

14. 4 aminoskābes kanālā sašaurina diametru uz 2.5 Å ar sānu virkni orientētu kanāla centrālās ass virzienā? Phe141.....,Leu52.....,Leu168.....,Tyr23..... kanāla centrālās ass virzienā
15. Trīs aminoskābju **NPA–NPA raksturīgais** sašaurināšanās motīvs tieši pēc Tyr23 ir orientācijas atslēga centrālai **ūdens** molekulai, tāpēc atbildīga par rotāciju 180°, tur klāt bloķē protonu vadītspēju kanālā? Asn68.....,Asn184.....
16. Četras aminoskābes citoplazmas pusē NPA raksturīgajā motīvā, sarindo **mugurkaula** trīs karbonila skābekļus $>C=O<...H-O-H$ nostājoties gar vienu kanāla sienu vērsti tieši kanālā, izbeidzoties pie Tyr149? Gly64.....,Ala65.....,His66.....,Val67.....
17. Piecas aminoskābes veido citu sašaurinājumu, kas ir šaurākais reģions kanālā? Tas ieņem **poras sfēras SF rādiusu** ~1.1 Å ir salīdzināms ar vidējo **ūdens rādiusu H–O–H** garumā 1.4 Å un 0.55 Å dipola lenķa augstuma izmērs ar maksimālo diametru 1.5 Å atbilstošs **ūdens** specifiskajai lenķiskajai struktūrai? Tyr149.....,Val56...,Gly64...,His66...,Phe75..
18. Kādu skaitu **ūdens** molekulas sarindo astoņi **mugurkaula** karbonili $>C=O<...H-O-H$ un citi kanāla-līnijas dalībnieki stabilizējot ciešu vienas-rindas kolonu iezīmētām **ūdens** molekulām **AQP0** akvaporīna kanālā?..... Astoņas **ūdens** molekulas ciešā vienas-rindas kolonā
19. Kuras aminoskābes sānu virkne no **mugurkaula** akvaporīnā 0 ir atbildīga par **ūdens** transporta ātruma inhibēšanas efektu ar **pH** vai **Ca²⁺** jonu? Nemeth-Cahalani un Halls mutācijas eksperimentā, kurā apmainīja His-40 uz alanīnu40, aspartātu40, vai lizīnu40, un tādējādi atklāja, ka mutējošās olšūnās neuzrādās **pH-atkarīga** kanāla **slēgšanās** ja **pH** palielinājās no >6.5 augstāk. Histidīna40 reakcija **AQP0** acu-lēcas šūnās ar dietilpirokarbonātu (DEPC) novērš **pH atkarību** un palielina **ūdens** vadīšanu (histidīna40-specifiskumu atjauno ar hidroksilamīnu), papildinot ar histidīna40 titrēšanas eksperimentu mainās ūdens vadītspēja. His-40..... palielina vadītspēju.
24. Divi tirozīni un trīs histidīni ekstracelulārajā pusē atrodas leļup pa z asi kanālā? Ierakstiet tirozīna atlikuma pozīciju uz olbaltumvielas virknes **mugurkaula treka** un ...pozīcijas trim histidīniem, kuri atrodas tieši kanāla vestibilā!
- Tyr23.....,Tyr149.....,His40.....,His66.....,His172....
25. Kuras trīs C-termināla **2B6P.pdb** aminoskābes Post translācijas modificēšanā, ir iesaistītas **AQP0** aktivitātes regulēšanā, jo C-termināla virkne piedalās **fosforilēšanā** un glikozilēšanā? Nosauciet pozīciju C-termināla 24 aminoskābju saturošai mobilai spirālei, olbaltumvielai un sekundārās struktūras domēnam 239–263 virknē trīs fosforilēšanai pakļautās aminoskābes! mobilā spirāle **H8**...,Ser229....., Ser231....., Ser235..... un ekstra celulārā vestibilā tiek parādītas sešas **OH** grupu saturošas fosforilējamas aminoskābes: **Ser31**....., **Thr108**....., **Ser126**....., **Thr120**....., **Thr199**....., **Thr195**..... Nosauciet C-termināla 24 aminoskābju saturošai mobilai spirālei un trīs aminoskābes, 1. Ar labo pogu spiediet uz molekulu un izvēlnē norādiet **Select>Residue>Ser** un otro reizi spiediet norādot **Display>Sticks** un **Color>CPK**: mobilā spirāle **H8**. Ser245....., Ser243....., Ser240.....

26. Acu lēcas 1SOR.pdb šķiedru audos 15 nepolāru aminoskābju atlikumi sānu virknēs ar hidrofobiem spēkiem saista divus akvaporīnus veidojot starp membrānu 16 Å spraugas cieš saistes šūnās. Katrā kontakta punktā enerģija ir -10 kJ/mol , ja 15 punkti tad summā ir -150 kJ/mol .

Leu39...., Pro38...., Gly37...., Ala35...., Gly114...., Val112...., Ala111...., Pro110...., Pro109...., Val125...., Gly124...., Pro123...., Leu121....; Phe198...., Leu194....

27. Četras aminoskābes, kā konservētas nemainīgi atrodamas visos **akvaporīnos**, mainot konformāciju lokalizētas centrālā “selektivitātes filtrā **SF**” kanālā veic **kanāla slēgšanu?** ar divām ūdeņraža saitēm no $\text{NH1Arg187...>NH...O=C<Pro191.....}$

un no $\text{NH1 Asn68...>NH...O=C<Ala-117.....}$

28. Piecas aminoskābes uz virsmas veido pozitīvu +5 lādiņu tīklojumu **atgrūšanai** AQP0 **acu-lēcas šūnas** ekstra cellulārā pusē? His40..., Arg33..., Arg113....., His122....., Arg196.....

29. Arg-187, Asn68 3. konformācija atrodas centrālā kanāla “selektivitātes filtrā **SF**” veicot kanāla slēgšanu ar divām ūdeņraža saitēm Arg-187>NH...O=C< un Asn68>NH...O=C< : $\text{>NH...O=C<Pro191....., O=C<Phe189....., O=C<Asn184, O=C<Arg187....., O=C<Ser31.....; >NH to O=C<O=C<Asn115....., O=C<Ala-117....., O=C<Asn119.... and}$

Kuras divas aminoskābes ir saglabātas visos akvaporīnos Val41...., Tyr177.... ?

23. Nosauciet šūnu un organellu lokalizēšanās vietas, kurās transporta enzīmi **AQP0** atrasti!

.....**acu-lēcas šūnas kā starpšūnu**.....**savienojums vai kā pārmija**.....

un.....starp **šķiedru audu šūnās**.

20. Kādi pieci 5 starp molekulārie spēki zināmi olbaltumvielu bioķīmijā un fizioloģijā? ...

1...Ūdeņraža saite. 2...Hidrofobās 3...Sāls tiltiņi, 4.-**S-S**-...disulfīda saites 5...koordinatīvās saites

21. Kādi trīs 3 starp molekulārie spēki saloka olbaltumvielu **AQP0**? Nosauciet trīs 3 klātesošos!

1...Ūdeņraža saite. 2...Hidrofobās 3...Sāls tiltiņi,

22. Aminoskābju nummuri 28-Å-garam, **cilindriskam** AQP0 kanālam, kuram seklie vestibili atrodas abos kanāla galos! Kanāla tilpuma virsma attēlota fonā ar svarīgākajiem kanālu-veidojošiem aminoskābju atlikumiem! Centrālais reģions ar diametru no <2.5 Å, reģioni abās pusēs parādīti ar diametru lielāku par >2.5 Å un kanāla garuma distance līdz <10 Å no centrālā reģiona centra 0! Sākot no ekstra celulārās puses, vestibils attēlots piltuvē diametrā ap 10 Å un satur 10 ūdens molekulas **H₂O** 405, 415, 455, 411, 426, 407, 436, 439, 451, 435, 465 **skābekļa** atomus **H₂O** starp aminoskābju atlikumiem. Ūdens molekulas orientētas uz kanāla centru līnijā. Centrs ir atbildīgs par maksimālu sašaurinājumu no vestibila līdz kanāla šaurākajam diametram 1.99 Å ! Izkārtoti 7 lādiņus **-NH₃⁺** + un **-COO⁻** abās pusēs kanālam!

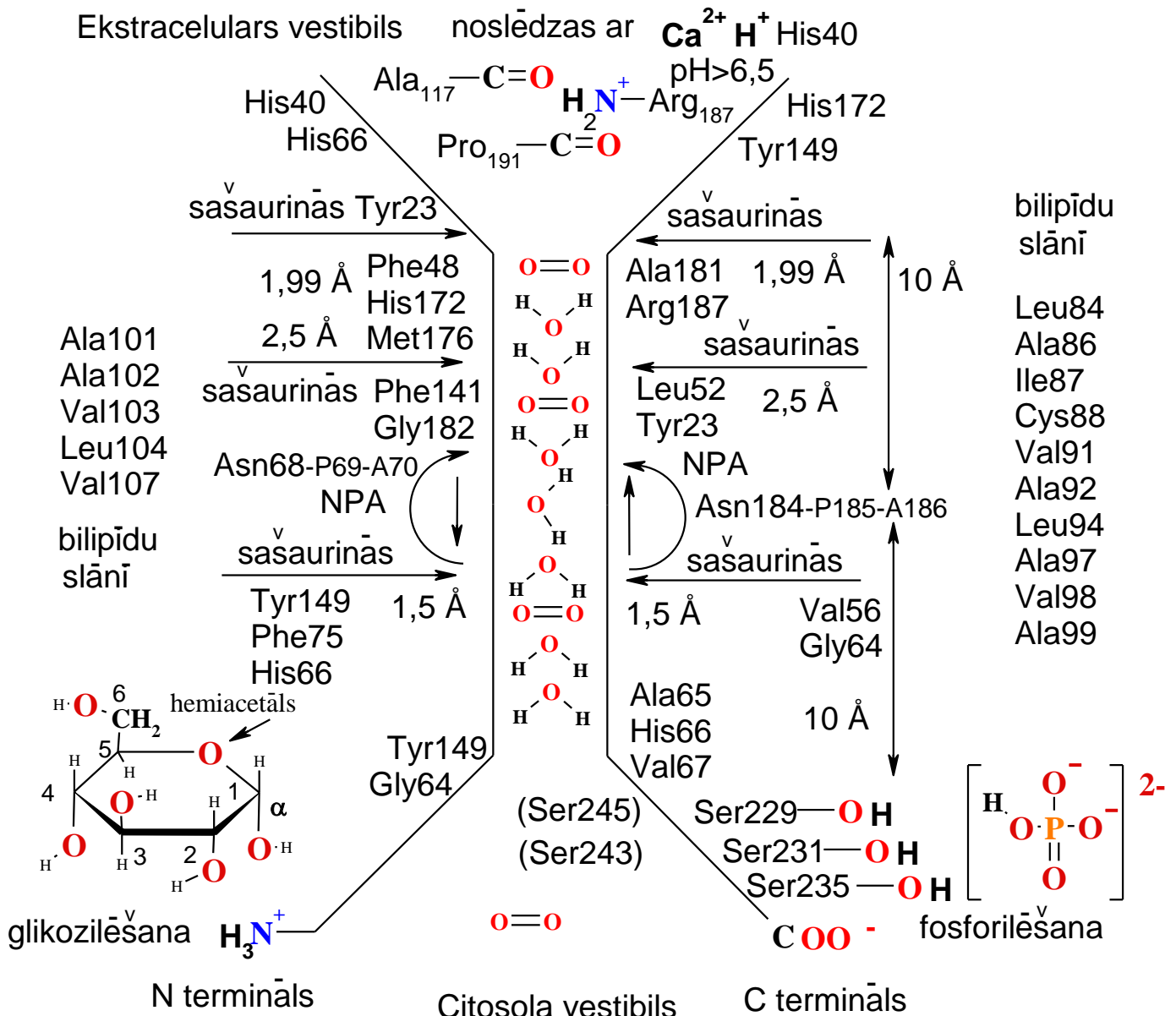
hidrofobs savienojums (junction)

Gly124, Pro123, Leu121, Phe198, Leu194

Leu39, Pro38, Gly37, Ala35, Gly114 Val112, Ala111, Pro110, Pro109; Val125

pozitīvu lādiņu tīklojums atgrūžas

His40 Arg33 Arg113 His122 Arg196



Lejuplādēt: <http://aris.gusc.lv/06Daugavpils/Research/tgf/AQP0skemLatS.tgf>

<http://aris.gusc.lv/06Daugavpils/Research/jpg/AQP0Lat.jpg>

30. Veikt **AQP0** izoelektriskā punkta $IEP=pH=pK_{a-vid}$ analīzi fizioloģiskajā $pH=7,36$ vidē .
 Noteikt ūdens šķīduma pH ar **AQP0** koncentrāciju $C=0.00000063=10^{-6,2}M$ (mol/Litrā)!

21 L- α -aminoskābes olbaltumvielu-polipeptīdu protolīzes pK_a vērtība izoelektriskais punkts **IEP**

Fizioloģiskajā $pH=7,36 \pm 0,01$ vidē karbonskābes grupas eksistē negatīvi lādēta **-COO⁻** un amino grupas **R-NH₃⁺** pozitīvi lādētas, kā piemērā ar glutamīnskābes pK_a vērtībām salīdzinājumā ar fizioloģisko pH vērtību ir mazāka karbonskābes grupām: $pK_{aR-COOH}=4,25 < 7,36$, $pK_{a-COOH}=2,19 < 7,36$ vai protonētai amino grupai lielāka $7,36 < 9,67 = pK_{a-NH_3^+}$.

Tabulā dotas konstantes pK_a četru veidu paralēliem protolītiskiem līdzsvāriem katrā aminoskābes molekulā:
 skābe \leftrightarrow bāze $+H^+$; Paralēlo protolītisko līdzsvaru skaita NpK_a vidējā konstantes
 1. **R-COOH** \leftrightarrow **R-COO⁻** $+H^+$; izoelektriskā punkta $IEP= pK_a$ vērtība ir aprēķināma kā
 2. **R-NH₃⁺** \leftrightarrow **R-NH₂** $+H^+$; $IEP= pK_a=(\sum pK_{aR\ grupas}+ pK_{a-NH_3^+}+ pK_{a-COOH})/NpK_a$
 3. **Tirozīna-fenols-OH** \leftrightarrow **Tirozīna-fenols-O⁻** $+H^+$, Ostvalda atšķaidīšanas likumā aprēķina pH šķīduma
 4. Cisteīns-SH \leftrightarrow Cisteīns-S⁻ $+H^+$ koncentrācijas C logaritmā: $pH= \frac{pK_a - \log C}{2} = \dots$

Aminoskābju un olbaltumvielu izoelektriskā punkta vērtībā $pH=IEP$ jona lādiņa summa ir nulle
 0 — skābā vidē plus (+) — nulles lādiņš, „0” **IEP** — bāziskākā vidē mīnuss (-) — 14 pH skala
-COOH & **-NH₃⁺** pozitīvs lādiņš **-COO⁻** & **-NH₂** lādiņš ir negatīvs **-COO⁻** & **-NH₂**

Amino Acid	pK_{aCOOH}	$pK_{aNH_3^+}$	$pK_{aRgrupa}$	
Izoleicīns	I	2,36	9,68	
Valīns	V	2,32	9,62	
Leicīns	L	2,36	9,60	
Fenilalanīns	F	1,83	9,13	
Cisteīns	C	1,96	10,28	8,18
Metionīns	M	2,28	9,21	
Alanīns	A	2,34	9,69	
Prolīns	P	1,99	10,96	
Glicīns	G	2,34	9,60	
Treonīns	T	2,11	9,62	
Serīns	S	2,21	9,15	
Triptofāns	W	2,38	9,39	
Tirozīns	Y	2,20	9,11	10,07
Histidīns	H	1,82	9,17	6,00
Aspartāts	D	1,88	9,60	3,65
Glutamāts	E	2,19	9,67	4,25
Aspargīns	N	2,02	8,80	
Glutamīns	Q	2,17	9,13	
Lizīns	K	2,18	8,95	10,53
Arginīns	R	2,17	9,04	12,48

Tabula5.3: Reginald H. Garrett, Charles M. Grishman, **Biochemistry**, University of Virginia 1995;

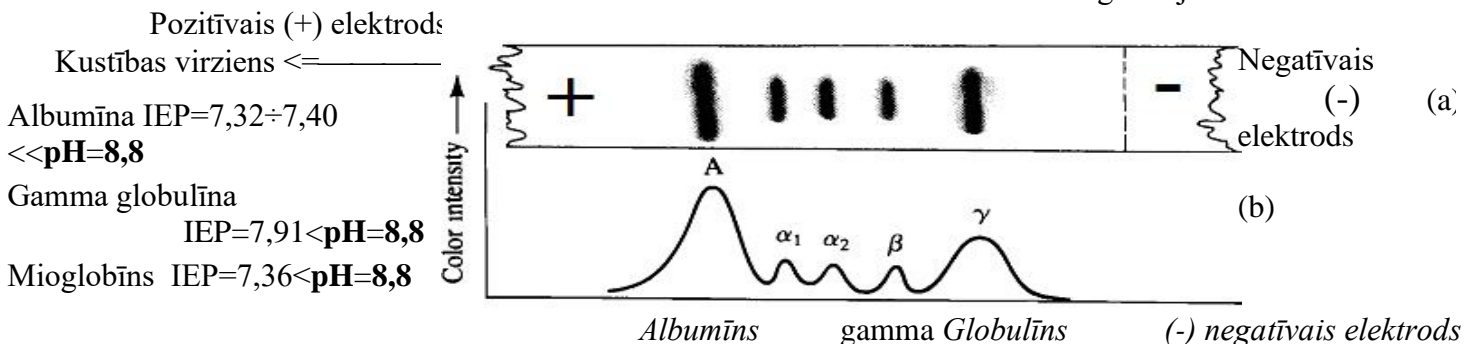
Albumīns E7G.pdb 7,32= IEP 7 taukskābes mazs (-) lādiņš un bez 7 taukskābēm 7,40= IEP mazs (+) pozitīvs fizioloģiskā $pH=7,36$, bet *Gamma globulīna* IgG1.pdb molekulai ir pozitīvs (+) lādiņš, jo fizioloģiskais $pH=7,36 <$ ir mazāks par 7,91= IEP .

Mioglobīns $IEP=7,36$ ir neitrāla nulles „0” lādiņa molekula, jo $IEP=7,36$ ir vienāds ar fizioloģisko $pH_{asins}=7,36$ 1MBO.pdb

Protolītisko konstanti-izoelektrisko punktu pK_a aprēķina saskaitot sānu virkņu $\sum pK_{aRsānu\ grupa}$, $pK_{aNterminālsNH_3}$ un $pK_{aCterminālsCOO}$ -konstanšu summu izdalot ar skābes grupu skaitu molekulā NpK_a :
 $IEP=pK_a=(\sum pK_{aRsānu\ grupa}+pK_{aNtermināls}+pK_{aCtermināls})/NpK_a$

Zīmējums Seruma **olbaltumvielu** sadalīšana ar **elektroforēzi**. (a) Paraugs tiek uzlikts kā tieva līnija sākumā. Pēc **elektroforēzes** pie **pH 8,8**, papīrs tiek žāvēts un iekrāsots. (b) Krāsu intensitātes līknes plankumiem uz papīra. γ -Globulīns kustas lēnāk par *Albumīnu*.

Olbaltumvielas kustas šinī virzienā \leftarrow —Parauga līnija sākumā



Seleno cisteīns 21. L- α -aminoskābe?

Seleno cisteīns ir L- α -aminoskābe kura atrodas enzīmu olbaltumvielās, ieskaitot noteiktas **peroksidāzes** un **reduktāzes** kuras piedalās katalītiskās elektronu pārnese reakcijās. Seleno cisteīna nosaukums jau norāda ka selēna **Se** atoms aizvieto sēra **S** atomu strukturālajā analogā cisteīnā. Konstantes pK_3 vērtība seleno cisteīnā 5,2 ir par 3 vienībām mazāka nekā cisteīnā 8,18. Kopš seleno cisteīns ir iekļauts polipeptīdos translēšanas procesos ribosomās, tas tiek klasificēts kā "21 aminoskābe." Tāpat kā 20 ģenētiski iekodētām aminoskābēm, seleno cisteīns ir iekodēts ar vienkāršu trīs burtu kodonu **UGA** (skat 16 nodarbību Nukleo proteīni tRNS 62 kodoni).

Acu lēcu akvaporīns-0 (AQP0) specifiska ūdens pora un savienojums starp šķiedru šūnām acu lēcā

<http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/1YMGpILat.doc>; <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/1YMGpI.xls>

Virkne 263 AA aminoskābēm Albumīna molekulā 1YMGpI.pdb : $80 \times 3 + 23 = 263$

	10	20	30	40	50	60	70	80		
MWELRSASFWR	ICAEFFASLFYVFFGLGASLRWAPGPLHVLQVALAFGLALATLVQAVGHISGAHVNP	AVTFAFLVGSQ	MSLLRAICYMVAQLL	GAVAGA	AVLYSVTPPAVRGNLALNTLHPGVSVGQ	ATIVEIFLTLQFVLCIFATYDERRN	GRGLGSV	ALAVGFSLTLGHLFGMYT	GAGMNP	PARSFAPAILTRNFTNHVWYVWGPVIGAGLGSLLYDFLLFPRLKSVSERLSILKGS
RPSE	NGQPEVTGEPVELKTQAL									

AA pKa_{COO}; pKa_{NH3+}; pK_{RR}; NchainAA; Nr

M		9,21	1	1
E		4,25	3	2
R		12,48	5	3
R		12,48	11	4
C		8,18	14	5
E		4,25	16	6
Y		10,07	23	7
R		12,48	33	8
H		6	40	9
H		6	61	10
H		6	66	11
R		12,48	85	12
C		8,18	88	13
Y		10,07	89	14
Y		10,07	105	15
R		12,48	113	16
H		6	122	17
E		4,25	134	18
C		8,18	144	19
Y		10,07	149	20
D		3,65	150	21
E		4,25	151	22
R		12,48	152	23
R		12,48	153	24
R		12,48	156	25
H		6	172	26
Y		10,07	177	27
Y		10,07	178	28
R		12,48	187	29
R		12,48	196	30
H		6	201	31
Y		10,07	204	32
Y		10,07	219	33
D		3,65	220	34
R		12,48	226	35
K		10,53	228	36
E		4,25	232	37
R		12,48	233	38
K		10,53	238	39
R		12,48	241	40
E		4,25	244	41
E		4,25	250	42
E		4,25	254	43
E		4,25	257	44
K		10,53	259	45
L	2,63		263	46

Ir uzskaitīti 3 cisteīna Cys atlikumi ar pK_{RR} = 8.18;

Saskaiftās 46 pKa vērtības no tabulām 389,69.....

Uzdevums akvaporīna 0 molekulas AQP0 aprēķinam

Protolītisko konstanti pK_a izoelektrisko punktu IEP = pK_a aprēķina saskaitot sānu virkņu ΣpK_aRsānu grupu, un pK_aNterminālsNH₃ un pK_aCterminālsCOO⁻ konstanšu

summu izdalot ar skābes grupu skaitu molekulā NpK_a:

$$IEP = pK_a = (\Sigma pK_{aRsānu\ grupu} + pK_{aNtermināls} + pK_{aCtermināls}) / NpK_a$$

Sumārais protolītisko līdzsvaru skaits ir NpK_a = 44..... + 2..... = 46.....

263 aminoskābes no tām ar 44+2 protolītiskām pK_a sānu grupām

N-termināla metionīns M pK_aNtermināls = 9,21 un

C-termināla leicīns L pK_aCtermināls = 2,36

Summa ir saskaitāma kā

$$\Sigma pK_{aRside\ group} + pK_{aNterminal} + pK_{aCterminal} = 389,69.....$$

1. Vidējā konstante pK_{vid} = pK_a = IEP IZO ELEKTRISKAIS PUNKTS

$$NpK_a = 44..... + 2..... = 46.....$$

$$IEP = 389,69 / 46 = 8,5228261.....$$

Isoelektriskā punkta pH = IEP vērtībā aminoskābes un olbaltumvielas kopējais lādiņš ir nulle „0”

$$IEP = pH$$

0 — plus (+) — nulles lādiņš „0” — mīnus lādiņš (-) — 14 pH skala

Pasvītro eksistējošu: pozitīvo (+) vai nulles lādiņu vai negatīvo (-)!

-COOH & -NH₃⁺ pozitīvs **-COO⁻ & -NH₂** negatīvs lādiņš **-COO⁻ & -NH₂**

2. AQP0 molekulas lādiņa zīmi (+). nulli „0” vai (-) fizioloģiskā pH = 7.36

Pasvītro eksistējošu: pozitīvo (+) vai nulles lādiņu vai negatīvo (-)!

-COOH, -NH₃⁺ pozitīvs (+) pH = 7.36 < IEP = 8,52 negatīvs (-) **-COO⁻, -NH₂**.

3. AQP0 molekulas lādiņa zīmi (+). nulli „0” vai (-) elektroforēzē pH 8.8

Pasvītro eksistējošu: pozitīvo (+) vai nulles lādiņu vai negatīvo (-)!

-COOH, -NH₃⁺ pozitīvs (+) IEP = 8,52 < pH = 8,8 negatīvs (-) **-COO⁻, -NH₂**.

4. Aprēķina C = 0.00000063 = 10^{-6,2} M AQP0 šķīduma pH Ostvalda atšķaidīšanas likumā logaritmam no C:

$$pH = \frac{pK_a - \log C}{2} = \frac{8,5228261 - \log 0.00000063}{2} = \frac{8,5228261 + 6,2}{2} = 14,723 / 2 = 7,36.....$$

Atraktora 7,36 AQP0 koncentrācija ir C = 10^{-6,2}.....M .

12 nodarbība pētījums AQP1 no eritrocītu šūnu membrānām!