

Olbaltumviela **ūdēns** kanāls **Aquaporīns 1 AQP1** eritrocītu šūnu **membrānā**: A. studijas pētījums ar:

ChemScape MDL  RasMol  ; MAGE  Firefox aplikāciju. Risinājumi:

Uzdevums: Aquaporin1LatAtbildes.doc httdocsLocal <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/AquaPorin1.htm>
RSU Āra Kakša 2025 pētījums Sui H, Han BG, Lee JK, Walian P, Jap BK University of California, Berkeley Nature. 2001 **1J4N.pdb** monomērs un **1j4nbio1.pdb** tetra mērs.

1. Lietojot **Backbone** Display iespēju, norādiet **N-termināla** domēna sākuma aminoskābi ... Met1... un **C-termināla** domēns beidzas ar aminoskābi Ser249. ? Cik aminoskābes veido **AQP1** akvaporīna 1 polipeptīda virknes **1J4N.pdb** primāro struktūru... 249...?
2. Nosauciet un paskaidrojiet kāda uzbūve **AQP1** molekulām, E7 klases transporta enzīmiem un akvaporīnu transportētos substrātos?...**H₂O**,**O₂**,**NO**,**CO** ir nelielas neitrālas..... molekulas un membrānās iebūvēti olbaltumvielu kanāli.....;
3. Kāds skaits **alfa spirāles** veido akvaporīna 1 polipeptīda molekulu?.....**9 alfa-spirāles**.
H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, HB, HE.
4. Vai akvaporīns 1 satur **beta struktūras** beta **plāksnītes** no **beta virknēm**? **nē nesatur**.....
5. Cik ceturtējās 4° struktūras domēnus 3° struktūras subvienības un cik trešējās 3° struktūras domēnus ar sekundārām 2° struktūras sub vienībām ir atrodamas dotajā akvaporīna 0 molekulā? Kāda tipa sekundārās 2° struktūras segmenti ir atrodamā un neatrodas akvaporīnā?
....4 tetra mēra vienības;.....**8 Alfa-spirāles; nav-paralēlo beta virkņu**.....
6. Izvēlnē Distance **tetra mēra** augstums un platums angstrēmos ir:49.Å..... 68-60.Å....
7. Izmēra **kanāla** garuma distanci un šaurajā reģionā platumu angstrēmos? ...39.Å.. .35-23.Å.
8. Definēt olbaltumvielu struktūras: pirmējo, otrējo, trešējo un ceturtējo!
Pirmējā (1°) struktūra ir polimēra polipeptīda lineāri saistītu aminoskābju virkne.....
Otrējā (2°) ir salocīta pirmējā polimēra virkne alfa..... un beta.....otrējās struktūrās
Trešējā (3°) ir salocītas alfa & beta otrējās struktūras vienības globulas un fibrilas.....
Ceturtējā (4°) ir ar pieciem starp molekulāriem spēkiem saistītas globulas un fibrilas
trešējās struktūras vienības.....
5. Cik ceturtējās 4° struktūras domēnus 3° struktūras subvienības un cik trešējās 3° struktūras domēnus ar sekundārām 2° struktūras subvienībām ir atrodamas dotajā akvaporīna 1 molekulā? Kāda tipa sekundārās 2° struktūras segmenti ir atrodamā un kuri nav akvaporīnā?
.....4 tetra mēra vienības;... **9 Alfa-spirāles; nav-paralēlo beta virkņu**.....
6. Izvēlnē Distance **tetra mēra** augstums un platums angstrēmos ir:.....48.Å.....77-58.Å.....
7. Izmēra **kanāla** garuma distanci un ieejas reģionā platumu angstrēmos!28.Å.....23.Å....
8. Cik **ūdēns** molekulu skābekļa atomu **O** atrodas kanālā akvaporīnā 1 **AQP1**?.....10.....
9. Kuri 15 aminoskābju **hidrofobie** atlikumi kanāla sienā virza **ūdēns** plūsmu vienā rindā kā sakrautu ielu no 6 **H₂O** un tuvu pie alfa spirālēm **H1, H2, HB, H4** un **H5**?
Phe24.....,Ile25.....,Ile29....(**H1**),Phe58.....,Ile62....(**H2**),Ala75.....,Leu77....(**LB**)
Val81.....,Leu85....(**HB**),Val155.....,Leu151.....(**H4**),
Ile172..... , Ile174....., Val178.....(**H5**), Ile193.....(**LE**);
10. Kuras divas **hidrofobas** aminoskābes tieši pretī iestādītas **NPA** (**asparģīns, prolīns, alanīns**) divu simetrisku pretēji vērstu **ūdēns** līniju molekulu ielu reģionā? Respektīvi, **NPA** motīvā ir simetrisks alfa pus-spirāļu **HB/HE** hidrofobs kontakts ar: **Pro79**..... un **Pro195**
NPA (**Asn, Pro, Ala**) Asn78,**Pro79**,Ala80 un Asn194,**Pro195**,Ala196
11. **NPA** (**Asn, Pro, Ala**) motīva aminoskābes ar Leu77(**LB**), Ile193(**LE**) sašaurinājuma daļā ar **ūdeņraža** saitēm apgriez **ūdēns** molekulu: Leu77....(**LB**), Asn194....., Asn78....., Ile193....(**LE**)

12. Četras aminoskābes divas hidrofilas vienā pusē kanālam bet divas citas hidrofobas otrā pusē kanālam veido (aromātisko un arginīna sašaurinājums) Ar/R sašaurināšanās vietu?

Arg197....., His182.....hidrofilas un..... Phe58.....,Cys191.....hidrofobas .

13. Aminoskābe, kura iesaistīta ūdens transporta bloķēšanā ar dzīvsudraba katjonu Hg^{2+} vestibilā no ekstra celulārās kanāla puses? Cys191.....

13a. Aminoskābe analogs citosola membrānas pusē līdzīga Cys 191 dzīvsudraba katjonu saistīšanai Hg^{2+} ekstra celulārās kanāla puses ir Ala75..... !

14. Divas ūdens molekulas aptur dzīvsudraba katjons AQP1 **1J4N.pdb**? HOH301...,HOH346....

15. Desmit aminoskābes **NPA** , četras selektīvā filtra **SF** un **Ar/R sašaurinājuma vietas** reģionā sešas ūdens molekulas izlīdzina viena rindā (in single file) cauri kanāla porai?

Ala196.....,Pro195....., Asn194.....,Ala80.....,

Ala75.....- Asn78.....-Arg197.....,His182.....,Phe58.....,His76.....-Cys191.....

16. Kāds diametra izmērs ir kanāla šaurākajā reģionā, kurš fiziski limitē substrāta izmēru poras caurlaidībai, ļaujot šķērsot akvaporīna 1 **AQP1** poru tiem, kuri ir nedaudz lielāki par ūdens diametru 2.8 Å, jo poras sašaurinājums novērš citu lielāku molekulu caurlaidību, ieskaitot hidrātus arī jonus: hidrātus un protonus H^+ ?3 Å diametrs.....

17. Kāds ir ūdens molekulu caurlaidības ātrums sekundē mono mēram **AQP1** un tetra mērā? 3×10^9 ūdens/sekundē tetra mērā četras reizes vairāk $4 \times 3 \times 10^9 = 12 \times 10^9$ sek⁻¹

17a. Cik skābekļa molekulu O_2 sekundē šķērsos **AQP1** membrānā, ja

arteriālā koncentrācija ir $[\text{O}_2] = 6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ un $[\text{H}_2\text{O}] = 55,3 \text{ M}$ un

ja **AQP1** tiešajā saskarē ūdenī koncentrācija ir $[\text{O}_2] = 9,768 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ skābekļa molekulu

O_2 šķīdības dēļ no gaisa (20,95%)?

$[\text{O}_2] / [\text{H}_2\text{O}] \cdot 3 \cdot 10^9 = 6 \cdot 10^{-5} / 55,3 \cdot 3 \cdot 10^9 = 3255$ O_2 molekulas sekundē.

$[\text{O}_2] / [\text{H}_2\text{O}] \cdot 3 \cdot 10^9 = 9,768 \cdot 10^{-5} / 55,3 \cdot 3 \cdot 10^9 = 5299$ O_2 molekulas sekundē.

18. Kuru vielu vadītspēju strikti novērš **AQP1**, kas ir fizioloģiski ļoti nozīmīgi, jo šo vielu caurlaidība cauri membrānas porai anihilētu protona gradientus abpus šūnu membrānām, kas ir galvenais mehānisms enerģijas pārnesei no taukskābju molekulu enerģijas krājumiem un glikozes ? H^+ protons.....

19. Kuru divu aminoskābju atlikumu pozitīvie lādiņi $-\text{NH}_3^+$ ekstracelulārā vestibilā tāpat kuru sešu aminoskābju atlikumi citoplazmas vestibilā veic protonu atgrūšanu no poras kanāla ieejas?

.....Arg197,His182.....His71,His76,Arg162,Arg163,Arg164,Thr159.....

Arg197,His182 ; His71,His76,Arg162,Arg163,Arg164,Thr159

20. Veikt **AQP1** izoelektriskā punkta $IEP=pH=pK_{a-vid}$ analīzi fizioloģiskajā $pH=7,36$ vidē .

Noteikt ūdens šķīduma pH ar **AQP1** koncentrāciju $C=0.000000082=10^{-7,082}$ M (mol/Litrā)!

Eritrocītu akvaporīns-1 (AQP1) specifiska ūdens pora $3 \cdot 10^9$ H_2O , O_2 molekulas sekundē

<http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/IJ4NpIStudLat.doc> ; <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/IJ4NpI.xls>

Virkne 271 AA aminoskābēm AQP1 molekulā 1J4N.pdb :

10 20 30 40 50 60 70 80
MASEFKKKLFWRAVVAEFLAMILFIFISIGSALGFHYPIKSNQTTGAVQDNVQVSLAFGLSIATLAQSVGHISGAHLNPA
VTLGLLLSCQISVLRAIMYIIAQCVGAIIVATAILSGITSSLPDNLGLNALAPGVNSGQGLGIEIIGTLQLVLCVLLATTD
RRRRDLGGSGPLAIGFSVALGHLLAIDYTGCGINPARSFGSSVITHNFQDHWIFWVGPFIGAALAVLIYDFILAPRSSDL
TDRVKVWTSQVVEEYDLADADDINSRVMKPK; Summa no 46 pKa vērtībām tabulā 412,45; $pK_{a-vid}=7,64$

AA	pK_{aCOO}	pK_{aNH_3}	pK_{RR}	Nr
M	9,21	1	1	1
E	4,25	4	2	2
K	10,53	6	3	3
K	10,53	7	4	4
K	10,53	8	5	5
R	12,48	12	6	6
E	4,25	17	7	7
H	6	36	8	8
Y	10,07	37	9	9
K	10,53	40	10	10
D	3,65	50	11	11
K	10,53	53	12	12
H	6	71	13	13
H	6	76	14	14
C	8,18	89	15	15
R	12,48	95	16	16
Y	10,07	99	17	17
C	8,18	104	18	18
D	3,65	123	19	19
E	4,25	144	20	20
C	8,18	154	21	21
D	3,65	160	22	22
R	12,48	161	23	23
R	12,48	162	24	24
R	12,48	163	25	25
R	12,48	164	26	26
D	3,65	165	27	27
H	6	182	28	28
D	3,65	187	29	29
Y	10,07	188	30	30
C	8,18	191	31	31
R	12,48	197	32	32
H	6	206	33	33
D	3,65	210	34	34
H	6	211	35	35
Y	10,07	229	36	36
D	3,65	230	37	37
R	12,48	236	38	38
D	3,65	239	39	39
D	3,65	242	40	40
R	12,48	243	41	41
K	10,53	245	42	42
E	4,25	253	43	43
E	4,25	254	44	44
Y	10,07	255	45	45
D	3,65	256	46	46
D	3,65	258	47	47
D	3,65	260	48	48
D	3,65	261	49	49
R	12,48	265	50	50
E	4,25	267	51	51
K	10,53	269	52	52
K 2,18	10,53	271	53	53

Ir uzskaitīti 4 cisteīna Cys atlikumi ar $pK_{RR} = 8,18$;

Saskaitītas 54 pK_a vērtības no tabulām 412,45.....

Uzdevums akvaporīna 1 molekulas AQP1 aprēķinam

Protolītisko konstanti pK_a izoelektrisko punktu $IEP=pK_a$ aprēķina saskaitot sānu virkņu ΣpK_{aR} sānu grupa, un pK_{aN} termināls NH_3 un pK_{aC} termināls COO^- konstanšu summu izdalot ar skābes grupu skaitu molekulā NpK_a :

$$IEP=pK_a=(\Sigma pK_{aR} \text{ sānu grupa} + pK_{aN} \text{ termināls} + pK_{aC} \text{ termināls})/NpK_a$$

20.1 Summārais protolītisko līdzsvaru skaits ir $NpK_a=52.....+2.....=54.....$

271 aminoskābes no tām ar 52+2 protolītiskām pK_a sānu grupām

N-termināla metionīns M $pK_{aN} \text{ termināls}=9,21$ un

C-termināla leicīns L $pK_{aC} \text{ termināls}=2,18$

Summa ir saskaitāma kā

$$\Sigma pK_{aR} \text{ side group} + pK_{aN} \text{ terminal} + pK_{aC} \text{ terminala} = 412,45.....$$

20.2 Vidējā konstante $pK_{vid}=pK_a=IEP$ **IZO ELEKTRISKAIS PUNKTS**

$$NpK_a=52.....+2.....=54.....$$

$$IEP=412,45 / 54 = 7,637963.....$$

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

plus (+) — nulles lādiņš „0” $IEP=pH$ — mīnus (-) —> 14 pH skala

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

Pasvītro eksistējošu: pozitīvu (+) vai nulles lādiņu vai negatīvu (-)!

20.3 AQP1 molekulas lādiņa zīmi (+). nulli „0” vai (-) fizioloģiskā $pH=7.36$

Pasvītro eksistējošu:

-COOH, -NH₃⁺ pozitīvu (+) $pH=7.36 < IEP=7,64$ negatīvu (-) **-COO⁻, -NH₂**.

20.4 AQP1 molekulas lādiņa zīmi (+). nulli „0” vai (-) **aelektroforēzes pH 8.8**

Pasvītro eksistējošu:

-COOH, -NH₃⁺ pozitīvu (+) $IEP=7,64 < pH=8,8$ negatīvu (-) **-COO⁻, -NH₂**.

20.5 Aprēķina $C=0.000000082=10^{-7,082}$ M AQP1 šķīduma pH

Ostvalda atšķaidīšanas likumā logaritmam no C:

$$pH = \frac{pK_a - \log C}{2} = \frac{7,637963 - \log 0.000000082}{2} =$$

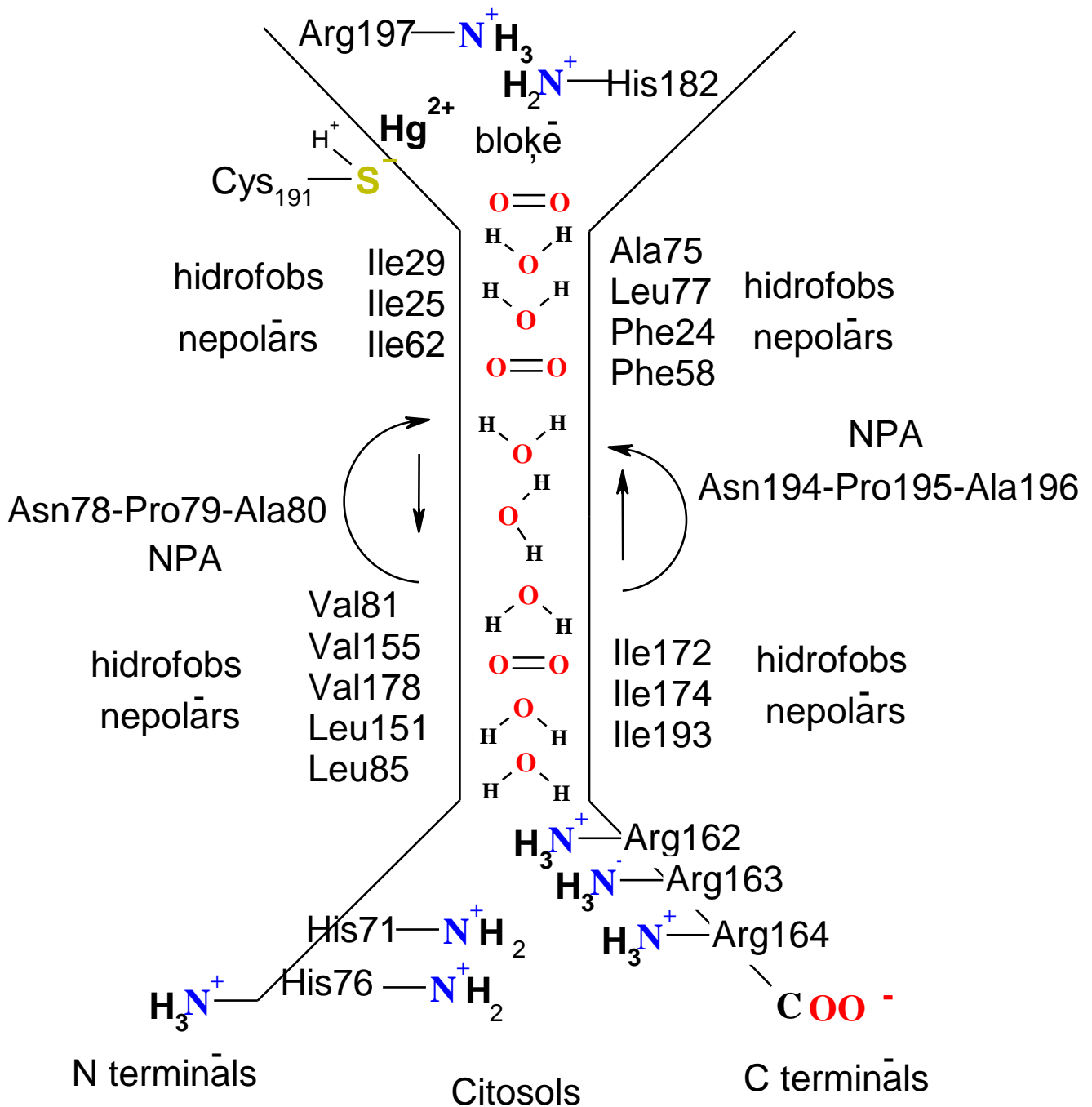
$$pH = \frac{pK_a - \log C}{2} = \frac{7,637963 + 7,082}{2} = 14,719963 / 2 = 7,36.....$$

Atraktora $pH=7,36$ AQP1 koncentrācija ir $C=10^{-7,082}.....M$.

21. Ievietot aminoskābju nummus 28-Å-garam, **cilindriskam AQP1 kanālam**, kuram seklie vestibili atrodas abos kanāla galos! ! Kanāla tilpuma virsma attēlota ar svarīgākajām kanālu-veidojošām aminoskābēm (ievietojiet nummus)! Centrālais reģions dots 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 ekstracelulārās puses, vestibils līdz 10 Å un kanālā četru ūdens molekulu **HOH** 301,302,303,304 **skābekļus H₂O** starp aminoskābju atlikumiem. Ūdens molekulas **HOH** 301,302,303,304 orientētas uz kanāla centru līnijā. Centrs ir atbildīgs par maksimālu sašaurinājumu no vestibila līdz kanāla šaurākajam diametram 1.99 Å ! Izkārtoti lādiņi **-NH₃⁺** + un **-COO⁻** abos kanāla vestibilos ekstracelulārā un citosolā!

Asins plazma Eritrocīta citosols

Ekstracelulāra



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