

KoEnzīms vitamīns B₃ NAD⁺Ox, NADH Red. A.:alkohola_dehidrogenāze ADH pētījumam

ChemScape MDL ; RasMol ; MAGE ; FireFox v.3.5.5 aplikācija. [risinājums](#)

B. aktivē Rīgas Stradiņa universitātē Āra Kakša 2025 sagatavotu molekulāru pētījumu par olbaltumvielu ADH: <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/AlhoDeHydrogenase/NadDehydrogenase.htm>

1. Lietojot ADH **Backbone** Display iespēju, norādiet **N-termināla** domēna sākuma aminoskābi SER1... un **C-termināla** domēna aminoskābi PHE374.? Cik aminoskābes veido ADH IV pilno virkni. (skat. 2.lpp. 1AGN.pdb) 386..... un polipeptīdā **1JU9.pdb** molekulas struktūrā... 374.....?
2. Enzīma ADH klasifikācijas Nr., ja ir zināmas EC klases 1.,2.,3.,4.,5.,6.7.? EC 1.1.1.1.....
3. ADH daļiņa, kura pārnes divus reducējošos ekvivalentus (2e⁻) no spirta uz NAD⁺? H⁻jons.....(2e⁻+H⁺)
3. Daļiņa ADH, kura pārnes divus reducējošos ekvivalentus (2e⁻) uz NAD⁺? H⁻(2e⁻+H⁺) **hidrīda jons**.....
4. Summāro Red-Ox reakciju studijas (endoerģiska vai eksoerģiska) ADH ar reducēto formu etanolu un oksidēto NAD⁺ atbildēs **4.1 – 4.17** ! Davida Harrisa un KortlyShucha klasiskās potenciālu standarta E° vērtības ir dotas absolūtā elektrodu potenciālu skalā lapas puse 24 standarta apstākļiem 298,15 K..... temperatūrā .

Alkohola dehidrogenāze Spirta oksidēšana par aldehīdu (aeroba).

- 4.1 **Oks** NAD⁺+H⁻(2e⁻)=NADH ; -E°=0,38373 V **absolūtais inversais** standarta potenciāls.
- 4.2 **Red** CH₃CH₂OH+H₂O=CH₃HC=O+H₃O⁺+H⁻(2e⁻); **absolūtais** standarta potenciāls E°=-0,02923 V
- 4.3 **OksRed** summa: NAD⁺+CH₃CH₂OH+H₂O=>NADH + CH₃HC=O +H₃O⁺.....
- 4.4 ΔE°=E°_{H₂O}+E°₁=-0,02923+0,38373=0.3545..... V, pus reakciju summas standarta potenciāls ΔE°.
- 4.5 n=2; ΔG_{eq}=ΔE°•F•n=0.3545*96485*2=68,4..... kJ/mol standarta brīvās enerģijas izmaiņa.

$$1 > K_{eqstandarta} = \frac{[NADH] \cdot [CH_3CHO] \cdot [H_3O^+]}{[NAD^+] \cdot [CH_3CH_2OH] \cdot [H_2O]} = e^{-\frac{\Delta G_{eqAerobi}}{R \cdot T}} = EXP(-68400/8,314/298,15) = 1,038 \cdot 10^{-12} = 10^{-12} \dots\dots\dots$$

- 4.6 Vai ir labvēlīgs vai nelabvēlīgs aerobais līdzsvars : Nelabvēlīgs [lapas puse](#) 22-24; Hesa likumā tīras izejvielas pārvēršas tīros produktos un enerģijas endoerģiska izmaiņa ir lielāka par standarta izmaiņu: ΔG_{Hess_oxidation}=290,6..... kJ/mol > ΔG_{min}=ΔG_{eq}=68,4..... kJ/mol sasniedzot aerobo maisījumu līdzsvarā.

$$\Delta G_{Hess_oxidation} = \Delta G^\circ_{NADH} + \Delta G^\circ_{CH_3CHO} + \Delta G^\circ_{H_3O^+} - (\Delta G^\circ_{NAD^+} + \Delta G^\circ_{CH_3CH_2OH} + \Delta G^\circ_{H_2O}) = 290,6 \text{ kJ/mol.}$$

$$\Delta G_{Hess_oxidation} = 1120,09 + 24,06 - 213,275 - (1059,11 - 181,64 - 237,191) = 290,6 \text{ kJ/mol endoerģiska} \dots\dots\dots [1]$$

Nelabvēlīga **līdzsvara** konstantes **K_{eqAerobic}=10⁻¹²** vērtība uzrāda stabilu minimumu ΔG_{min} līdzsvara maisījumā.

Endotermiska un endoerģiska etanola **H₃CCH₂OH** oksidēšanās **H₃CCH=O**

- 4.7 Hesa brīvās enerģijas izmaiņa pozitīva ΔG_{Hess_oxidation}=290,6..... kJ/mol, bet
 - 4.8 minimizējas ΔG_{min}=ΔG_{eq}=68,4..... kJ/mol sasniedzot aerobo maisījumu līdzsvarā:
 - 4.9 Aeroba oksidēšana ar [NAD⁺]/[NADH]=10⁶ homeostāzē pH=7,36 ir labvēlīga .
- $$\Delta G_{AerobiOx} = 68,4 + 8,3144 \cdot 298,15 \cdot \ln(1/10^6 \cdot 1/1 \cdot 10^{-(7,36)}/55,3457)/1000 = -17,8 \dots\dots kJ/mol ;$$

Inversā simetrija: aeroba oksidēšana ir **inversi** simetriska anaerobai reducēšanai :

$$10^{-12} = \frac{[NADH] \cdot [CH_3CHO] \cdot [H_3O^+]}{[NAD^+] \cdot [CH_3CH_2OH] \cdot [H_2O]} = K_{eqAerobi} < 1 < K_{eqAnaerobi} = \frac{[NAD^+] \cdot [CH_3CH_2OH] \cdot [H_2O]}{[NADH] \cdot [CH_3CHO] \cdot [H_3O^+]} = 10^{12}.$$

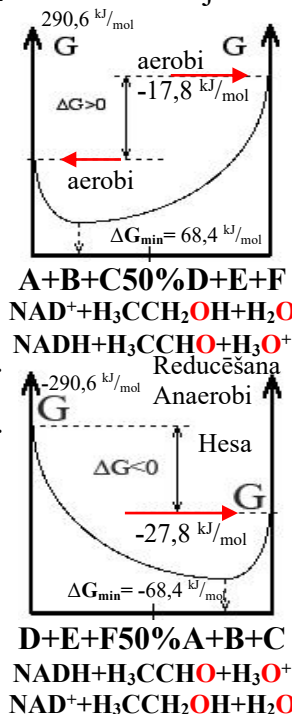
Viens skaitlis |ΔG_{Hess_oxidation}|=|290,6.....| kJ/mol = |ΔG_{Hesa}|=|-290,6.....| kJ/mol ar pretēju zīmi.

Inversa eksotermiska un eksoerģiska etanāla **H₃CCH=O** reducēšana **H₃CCH₂OH**

- 4.10 hipoksijā anaeroba etanāla reducēšana ir negatīva: ΔG_{Hesa}=-290,6..... kJ/mol, bet
- 4.11 minimizējas par ΔG_{eq}=ΔE°•F•n=-0,3545 V•2 mol•96485 C/mol=-68,4.... kJ/mol.
- 4.12 Etanāla reducēšana par **etanolu** ar anaerobo attiecību [NAD⁺]/[NADH]=1/10 un pH=7,36 ir labvēlīgi negatīva. Eksoerģiska brīvās enerģijas izmaiņa rūgšanas process ir

$$\text{patvaļīgs process } \Delta G_{anaerobi} = -68,4 + 8,3144 \cdot 298,15 \cdot \ln\left(\frac{1}{10} \frac{1}{10} \frac{55,3}{10^{-7,36}}\right) = -27,8 \dots\dots kJ/mol ;$$

$$\Delta G_{AnaerobiReducēšana} = -68,4 + 8,3144 \cdot 298,15 \cdot \ln(1/10 \cdot 1/10 \cdot 55,3457/10^{-(7,36)})/1000 = -27,8 \dots\dots kJ/mol ;$$



5.0 Veikt ADHIV izoelektriskā punkta IEP=pH=pK_{a-vid} analīzi fizioloģiskajā pH=7,36 vidē .
Noteikt ūdens šķīduma pH ar ADHIV koncentrāciju C=10^{-7,05339} M (mol/Litrā)!

Alkohola dehidrogenāze ADH E.1.1.1.1. oksidoreduktāze

Virrne no 386 AA aminoskābēm ADHIV molekulā human 1AGN.pdb:
MFAEIQIQDKDRMGTAGKVIKCKAAVLWEQKQPFSEIEIEVAPPKTKEVRIKILATGICRTDDHVIKGTMTVSKFPVIVGH
EATGIVESIGEGVTTVKPGDKVIPLFLPQCRECNACRNPdGNLCIRSDITGRGVLDGTTTRFTCKGKPVHHFMNTSTFTE
YTVVDESSVAKIDDAAPPEKVKCLIGCGFSTGYGAAVKTGKVKPGSTCVVFGGLGGVGLSVIMGCKSAGASRIIGIDLNKDK
FEKAMAVGATECISPkdSTKPISEVLSEMTGNNVGYTFEVIghLETMIDALASCHMNYGTSVVVGVPpSAKMLTYDPMLL
FTGRTWKGCVFGLKSRDDVPKLVTEFLAKKFDLDQLITHVLPFKKISEGFELLNSGQSIRTVLTF

AA	pK _{aCOO-}	pK _{aNH3+}	pK _{RR}	Nr	AA	pK _{aCOO-}	pK _{aNH3+}	pK _{RR}	Nr
M	9,21			1	D	3,65			59
E	4,25			2	E	4,25			60
D	3,65			3	K	10,53			61
K	10,53			4	C	8,18			62
D	3,65			5	C	8,18			63
R	12,48			6	Y	10,07			64
K	10,53			7	K	10,53			65
K	10,53			8	K	10,53			66
C	8,18			9	K	10,53			67
K	10,53			10	C	8,18			68
E	4,25			11	C	8,18			69
K	10,53			12	K	10,53			70
E	4,25			13	R	12,48			71
E	4,25			14	D	3,65			72
E	4,25			15	K	10,53			73
K	10,53			16	D	3,65			74
K	10,53			17	K	10,53			75
E	4,25			18	E	4,25			76
R	12,48			19	K	10,53			77
K	10,53			20	E	4,25			78
C	8,18			21	C	8,18			79
R	12,48			22	K	10,53			80
D	3,65			23	D	3,65			81
D	3,65			24	K	10,53			82
H	6			25	E	4,25			83
K	10,53			26	E	4,25			84
K	10,53			27	Y	10,07			85
H	6			28	E	4,25			86
E	4,25			29	H	6			87
E	4,25			30	E	4,25			88
E	4,25			31	D	3,65			89
K	10,53			32	C	8,18			90
D	3,65			33	H	6			91
K	10,53			34	Y	10,07			92
C	8,18			35	K	10,53			93
R	12,48			36	Y	10,07			94
E	4,25			37	D	3,65			95
C	8,18			38	R	12,48			96
C	8,18			39	K	10,53			97
R	12,48			40	C	8,18			98
D	3,65			41	K	10,53			99
C	8,18			42	R	12,48			100
R	12,48			43	D	3,65			101
D	3,65			44	D	3,65			102
R	12,48			45	K	10,53			103
D	3,65			46	E	4,25			104
R	12,48			47	K	10,53			105
C	8,18			48	K	10,53			106
K	10,53			49	D	3,65			107
K	10,53			50	D	3,65			108
H	6			51	H	6			109
H	6			52	K	10,53			110
E	4,25			53	K	10,53			111
Y	10,07			54	E	4,25			112
D	3,65			55	E	4,25			113
E	4,25			56	R	12,48			114
K	10,53			57	F	1,83			115
D	3,65			58	IEP = pK _a = 881,66 / 115 =7.6666.....				

Nr 115 no 386 aminoskābēm aktīvās vērtības pKa

Summa = 881,66.....

= ΣpKa_{Rsānu grupa}+pKa_{Ntermināls}+pKa_{Ctermināls} =

pK_{vid} =(ΣpKa_{Rsānu grupa}+pKa_{Ntermināls}+pKa_{Ctermināls})/NpKa

IEP= pK_{vid} =881,66 / 115 =7.6666.....

5.1-5.5 pieci aprēķinu uzdevumi cilvēka ADH IV molekulai 1AGN.pdb

Protolītisko konstanti pK_a izoelektrisko punktu $IEP=pK_a$ aprēķina saskaitot sānu virkņu $\Sigma pK_{aRsānu}$ grupu, un $pK_{aNtermināls}NH_3$ un $pK_{aCtermināls}COO$ -konstanšu summu izdalot ar skābes grupu skaitu molekulā NpK_a :

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

1 Sumārais protolītisko līdzsvaru skaits ir $NpK_a = 113 + 2 = 115$.

386 aminoskābes no tām 113+2 aminoskābes ar protolītiskām pK_a sānu grupām,

N-termināla metionīns M $pK_{aNtermināls} = 9,21$ un C-termināla fenilalanīns F $pK_{aCtermināls} = 1,83$

Summa ir saskaitāma kā $\Sigma pK_{aRsānu\ grupu} + pK_{aNtermināls} + pK_{aCtermināls} = 881,66$.

2 Summāri vidējā skābju grupu konstante $pK_{vid} = pK_a = IEP$ **IZO ELEKTRISKAIS PUNKTS**

$$IEP = pK_{vid} = 881,66 / 115 = 7.6666$$

Aminoskābju un olbaltumvielu izoelektriskā punkta pH vērtībā $pH = IEP$ jonu lādiņu summa ir nulle „0”

0 — skābā vidē plus (+) — nulles lādiņš „0” $IEP = pH$ — bāziskākā vidē mīnuss (-) — 14 pH skala
-COOH & -NH₃⁺ pozitīvs lādiņš -COO⁻ & -NH₂ lādiņš ir negatīvs -COO⁻ & -NH₂
Pasvītro un noteic pareizo: pozitīvs(+) vai negatīvs(-) vai nulle!

3 ADH IV molekulas bez NAD⁺ lādiņš ir (+), nulle „0” vai (-) fizioloģiskā $pH = 7,36$ vidē asins plazmā

Pasvītro eksistējošu:

-COOH & -NH₃⁺ ir pozitīvs (+) lādiņš $pH = 7,36 < IEP = 7.67$ lādiņš ir negatīvs(-) -COO⁻ & -NH₂.

4 Noteikt ADH IV molekulas lādiņa zīmi **elektroforēzē** pie **pH 8,8** (+), nulle „0” vai (-)

Pasvītro eksistējošu:

-COOH & -NH₃⁺ ir pozitīvs (+) lādiņš $IEP = 7.67 < pH = 8,8$ lādiņš ir negatīvs(-) -COO⁻ & -NH₂.

5 Aprēķināt $C = 10^{-7,05339}$ moli / Litrā ADH IV šķīduma pH

Ostvalda atšķaidīšanas likumā logaritmam no $C = 10^{-7,05339}$ M:

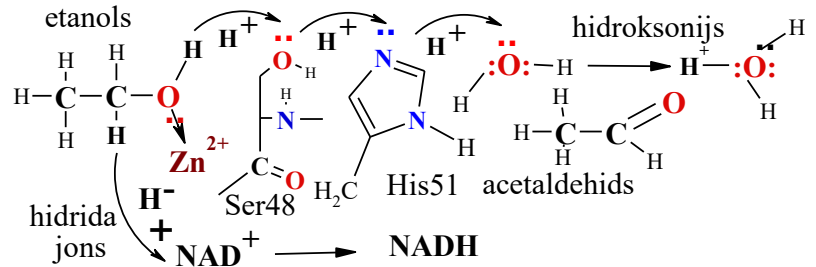
$$pH = \frac{pK_{a_{vid}} - \log C}{2} = \frac{7.6666087 - \log 10^{-7,0533913}}{2} = \frac{7.6666087 + 7,0533913}{2} = 14,72 / 2 = 7,36$$

7,36 Atraktora ADH IV koncentrācija ir $C = 10^{-7,05339}$ M.

5. Ievietot katalītiskā **Zn²⁺** jonu, etanola skābekļa atomu **O** koordinētu ar donora akceptora saiti un četrus pārlēcienos disociējošu protonus **H⁺** no spirta grupas **-CH₂-O-H** uz Ser48 uz His51 un rezultējošo piesaistīto ūdens molekulai **H₂O** protonu **H⁺**, veidojot hidronija jonu **H₃O⁺**.

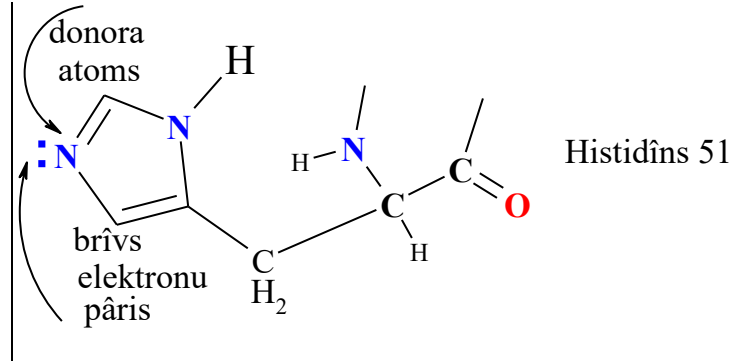
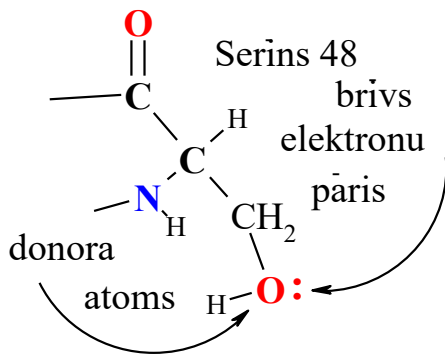
ADH spirta oksidēšanas laikā ūdens vidē

Ievietot hidrīda jonu **H⁻** tunelēšanas ceļā no spirta grupas oglekļa atoma **-CH₂-** uz **NAD⁺** cikliskā oglekļa atomu **-HC⁺-** producējot **NADH**.

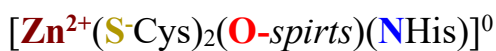


lai **H₂O** ūdens molekulu pārvērstu hidroksonija jonā **H₃O⁺** un spirtu par aldehīdu.

6. Ievietot **Ser-48**, **His-51** struktūrās **O**, **N** atomus un elektronu pārus donoru atomus **O:**, **:N**!



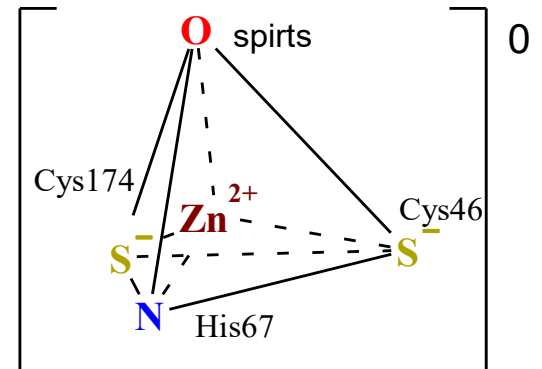
7. Ievietot **O**, **Zn²⁺**, **S**, **N** atomus un kompleksa



komplekss ar nulles lādiņu 0

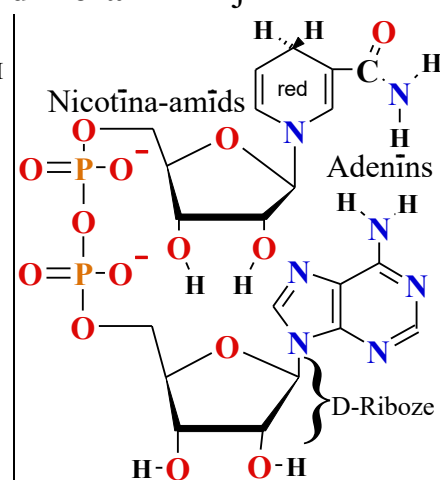
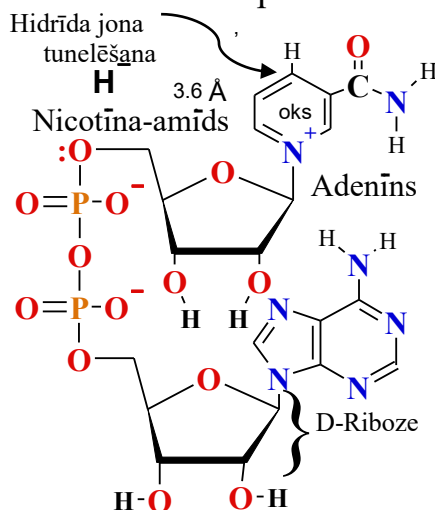
tetragonālā ģeometrijā, trigonāla piramīdā!

1HLD.pdb **Zn²⁺** koordinē Cys46-Cys174-His67-**O** spirts



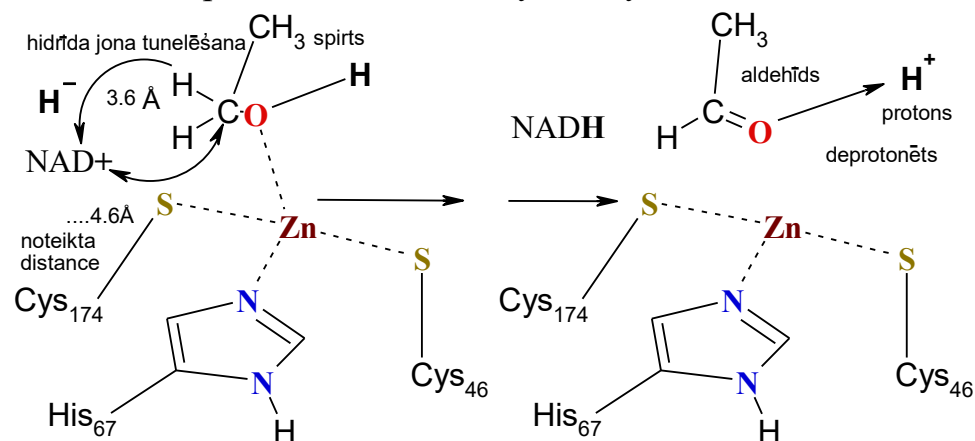
8. Kurš vitamīns-kofaktors oksidē spirtus **ADH dimēra** ceturtējā struktūrā?.....B₃ vitamīns....

9. Oksidētā **NAD⁺** hidrīda tunelēšana **nikotīna adenīna dinukleotīdā**: Nikotīna amīds, Adenīns, divas ribozes, divi fosfāti ar anhidrīda saiti starp fosfātiem



10. **NADH** hidrīda **nikotīna adenīna dinukleotīda** reducētā forma: Nikotīna amīds, Adenīns, divas ribozes, divi fosfāti ar anhidrīda saiti starp fosfātiem

ADH 1HLD.pdb Zn^{2+} koordinē Cys46-Cys174-His67-**O** : Tunelēšanas distance 3,6 Å hidrīda



jonam H^- uz NAD^+ nikotīna amīda pozitīvi lādētā cikla oglekļa atomu $-\text{CH}-$.
Nomērīt attālumu Å no spirta $-\text{CH}_2-$ oglekļa atoma līdz NAD^+ aromātiskā gredzena- $\text{CH}-$ 1HLD.pdb molekulā.
Ar peles labās pogas izvēlnes „Distance” izvēlnē

„Select Mouse Click Action” nomērīt attālumu no spirta oglekļa atomam $-\text{CH}_2-$ 4.6Å līdz NAD^+ nikotīna cikliskā oglekļa atomam $-\text{CH}-$!

11. Ievieto aminoskābju numurus cinka koordinācijas sfērā un nomērīto attālumu angstrēmos.

12. Otrejās (sekundārtās) struktūras ADH ir.....alfa spirāles un.....beta plāksnītes.

13. Cik **alfa-spirāles** veido ADH polipeptīda molekulu?**16 alfa-spirāles**.....

14. Cik **beta virknes - plāksnītē** veido ADH molekulu ? **4.....beta virkņu-plāksnīte**

.....**6 beta virkņu-plāksnīte** un viena atsevišķa**beta virkne**.....

15. Cik ceturtējo 4° struktūru komponentu 3° subvienību ir ADH molekula 1JU9zn.pdb un

1HLDznNAD.pdb? identiskas ADH molekulas divas....., katra saista koenzīmu **B₃**...

...katrā saistošs domēns **substrātam spirta grupai** etanolam, retinolam.....

16. Kādas fizioloģiskas funkcijas cilvēka organismā ir ADH uz spirtiem līdzīgi kā uz etanolu?

.... atraut divus ūdeņraža atomus un tādējādi oksidēt spirtus, veidojot aldehīdus

18. Kādas toksiskas fizioloģiskas funkcijas cilvēka organismā ir etanola molekulām? Kāpēc

CSDD nosaka etanola bīstamo koncentrāciju daudzumu akvaporīnu-kanāliem etanolu 0.5

promilēm? a) palēnina transportu cauri membrānu akvaporīnu-kanāliem ūdenim...+skābeklim....

b) ilgu laiku lietošana organismā rada dehidratāciju (atūdeņošanos) un hipoksiju - skābekļa deficītu

c) ...etanols konkurē ar retinola oksidēšanu nomācot A vitamīna veidošanos organismā.....

19. Kāda toksiska fizioloģiska funkcija cilvēka organismā ir ADH uz metanolu?.....

.....saindē cilvēku ar oksidēšanas produktu formaldehīdu.....

atraut divus ūdeņraža atomus un oksidēt metanolu par formaldehīdu saindē organismu...

20. Pabeigt oksidēšanas reakciju metanolam $\text{H}_3\text{C}-\text{OH}+\text{NAD}^+$ ūdenī.



metanols B3 vitamīns formaldehīds B3 vitamīns reducēts

21. Kā konkurē etanols ar metanolu? Kāds pretlīdzeklis lietojams metanola saindētā cilvēka

organismā? liela etanola koncentrācija konkurē ar metanolu uz oksidēšanas,.....

metanola oksidēšanās konkurencē ļauj akvaporīniem izskalot metanolu no organisma.....

22. Nosauciet sešu kristalizēto veidu ADH subvienību apzīmējumus ar grieķu alfabēta burtiem!

1. alfa α, 2. beta β, 3. gamma γ, 4. pī π, 5. hī χ, 6. sigma σ

23. Kāda veida cilvēka alkohola dehidrogenāzi nav izdevies kristalizēt? ADH6_HUMAN.....

Atzīmējiet kādi cilvēka alkohola dehidrogenāzes septiņi veidi - olbaltumvielas identificētas organismā pēc datu bankas Uni-Prot KB datiem:

1.ADH1A_HUMAN, subvienības apzīmējums alfa α
2.ADH1B_HUMAN, subvienības apzīmējums beta β
3.ADH1G_HUMAN, subvienības apzīmējums gamma γ
4.ADH4_HUMAN, subvienības apzīmējums pī π
5.ADHX_HUMAN, subvienības apzīmējums hī χ
6.ADH7_HUMAN, subvienības apzīmējums sigma σ
7.ADH6_HUMAN, nav **kristalizēta .- nezināma**

<http://aris.gusc.lv/ChemFiles/AlhoDeHydrogenase/4DXH5VJ5hOhBioChem1718/5VJ5hOhBioChem17.pdf>

The Class	System	Protein gene	Uni-Prot KB	Gene New	Gene Old	Table 1: Nomenclature for Human Alcohol Dehydrogenase Abstract Background All known attempts to isolate and characterize mammalian class V alcohol dehydrogenase (class V ADH), a member of the large ADH protein family, at the protein level
Class I ^{1HSO}	α -subunit	ADH1A	ADH1A_HUMAN	ADH1	ADH1A	
Class I ^{1DEH}	β -subunit	ADH1B	ADH1B_HUMAN	ADH2	ADH1B	
Class I ^{1HT0}	γ -subunit	ADH1C	ADH1G_HUMAN	ADH3	ADH1C	
Class II	π -subunit	ADH2	ADH4_HUMAN	ADH4	ADH4	
Class III ^{1MP0}	χ -subunit	ADH3	ADHX_HUMAN	ADH5	ADH5	
Class IV ^{1AGN}	σ -subunit	ADH4	ADH7_HUMAN	ADH7	ADH7	
Class V		ADH5	ADH6_HUMAN	ADH6	ADH6	

have failed. This indicates that the class V ADH according Uni-Prot KB ADH6_HUMAN protein is not stable in a non-cellular environment, which is in contrast to all other human ADH enzymes. In this report we present evidence, supported with results from computational analyses performed in combination with earlier in vitro studies, why this ADH behaves in an atypical way.

[Arch Biochem Biophys.](#) 2018 Sep 1;653:97-106.4**DXHa**

Biochemistry, 2017, 56 (28), pp 3632-

3646.5ENV,8ADH,1QLH,4DWV,1N92,1N8K,1P1R,4DXH,1N92,1N8K,1LDE,1LDY,1MGO,5VKR,1HEU,2JHF,1HET,2JHG,1H2B,1MAO,1PL6,1PL6,1YKF,1YE3,4XD2,5VJ5,5VJG,5VKR,5VL0,5VN1,,, 6