




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

ChemScape MDL  RasMol ; MAGE  Firefox aplikāciju. Risinājumi:  
Uzdevums: Aquaporin1LatAtbildes.doc htdocsLocal <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/AquaPorin1.htm>  
 RSU Āra Kakša 2023 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 Met... un **C-termināla** domēns beidzas ar aminoskābi . Ser.....? Cik aminoskābes veido **AQP1** akvaporīna 1 polipeptīda virknes **1J4N.pdb** primāro struktūru.....?
  2. Nosauciet un paskaidrojiet kāda uzbūve **AQP1** molekulām, E7 klases transporta enzīmiem un akvaporīnu transportētos substrātos?....., ....., ....., ..... nelielas ..... molekulas un membrānās iebūvēti olbaltumvielu .....
  3. Kāds skaits **alfa spirāles** veido akvaporīna 1 polipeptīda molekulu? **alfa-spirāles. H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, HB, HE.**
  4. Vai akvaporīns 1 satur **beta struktūras** beta **plāksnītes** no **beta virknēm**? .....
  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 atrodami un neatrodas akvaporīnā? .....tetra mēra vienības katrā ir.....**Alfa-spirāles**; **nav**-.....
  6. Izvēlnē Distance **tetra mēra** augstums un platums angstrēmos ir: .....Å..... Å.....
  7. Izmēra **kanāla** garuma distanci un šaurajā reģionā platumu angstrēmos? ...Å.. Å.
  8. Definēt olbaltumvielu struktūras: pirmējo, otrējo, trešējo un ceturtējo!  
 Pirmējā (1°) struktūra ir polimēra virkne .....
  - Otrējā (2°) ir salocīta pirmējā polimēra virkne ..... un .....otrējās struktūrās
  - Trešējā (3°) ir salocītas alfa & beta otrējās struktūras vienības.....un .....
  - Ceturtējā (4°) ir ar pieciem starp molekulāriem spēkiem saistītas globulas un fibrilas .....
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 atrodami un kuri nav akvaporīnā? ... tetra mēra vienības;... **Alfa-spirāles**; **nav paralēlo** .....**virkņu.**
  6. Izvēlnē Distance **tetra mēra** augstums un platums angstrēmos ir:.....Å.....Å.....
  7. Izmēra **kanāla** garuma distanci un ieejas reģionā platumu angstrēmos! .....Å.....Å.....
  8. Cik **ūdens** molekulu skābekļa atomu **O** atrodas kanālā akvaporīnā 1 AQP1 **1J4N.pdb**? .....
  9. Kuri 15 aminoskābju **hidrofobie** atlikumi kanāla sienā virza **ūdens** plūsmu vienā rindā kā sakrautu ielu no 6 **H<sub>2</sub>O** un tuvu pie alfa spirālēm **H1, H2, HB, H4** un **H5**?  
 Phe.....,Ile.....,Ile....(**H1**),Phe.....,Ile....(**H2**),Ala.....,Leu....(**LB**)  
 Val.....,Leu....(**HB**),Val.....,Leu.....(**H4**),  
 Ile..... , Ile.....,Val.....(**H5**), Ile.....(**LE**);
  10. Kuras divas **hidrofobas** aminoskābes tieši pretī iestādītas **NPA** (**asparģīns, prolīns, alanīns**) divu simetrisku pretēji vērstu ūdens līniju molekulu ielu reģionā? Respektīvi, **NPA** motīvā ir simetrisks alfa pus-spirāļu **HB/HE** hidrofobs kontakts ar: **Pro**..... un **Pro**.....  
**NPA** (**Asn, Pro, Ala**) Asn78...,**Pro79**...,Ala80... and Asn194...,**Pro195**...,Ala196.....
  11. **NPA** (**Asn, Pro, Ala**) motīva aminoskābes ar Leu77(**LB**), Ile193(**LE**) sašaurinājuma daļā ar ūdenraža saitēm apgriez ūdens molekulu: Leu....(**LB**), Asn....., Asn....., Ile.....(**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? .....
- Arg....., His.....hidrofilas un..... Phe.....,Cys.....hidrofobas .
13. Aminoskābe, kura iesaistīta ūdens transporta bloķēšanā ar dzīvsudraba katjonu  $\text{Hg}^{2+}$  vestibilā no ekstra celulārās kanāla puses? Cys.....
- 13a. Aminoskābe analogs citosola membrānas pusē līdzīga Cys 191 dzīvsudraba katjonu saistīšanai  $\text{Hg}^{2+}$  ekstra celulārās kanāla puses ir Ala..... !
14. Divas ūdens molekulas aptur dzīvsudraba katjons **1J4N.pdb**? HOH.....,HOH.....
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?
- Ala.....,Pro....., Asn.....,Ala.....,
- Ala.....- Asn.....-Arg.....,His.....,Phe.....,His.....-Cys.....
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 jonu hidrātus un protonus  $\text{H}^{+}$ ? .....Å diametrs.....
17. Kāds ir ūdens molekulu caurlaidības ātrums sekundē mono mēram **AQP1** un tetra mērā? .....ūdens/sekundē tetra mērā četras reizes vairāk  $4 \cdot 3 \cdot 10^9 = \dots \text{sek}^{-1}$
- 17a. Cik skābekļa molekulu  $\text{O}_2$  sekundē šķērso **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  $\text{O}_2$  šķīdības dēļ no gaisa (20,95%)?
- $[\text{O}_2] / [\text{H}_2\text{O}] \cdot 3 \cdot 10^9 = 6 \cdot 10^{-5} / 55,3 \cdot 3 \cdot 10^9 = \dots \text{O}_2$  molekulas sekundē.
- $[\text{O}_2] / [\text{H}_2\text{O}] \cdot 3 \cdot 10^9 = 9,768 \cdot 10^{-5} / 55,3 \cdot 3 \cdot 10^9 = \dots \text{O}_2$  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 ? .....
19. Kuru divu aminoskābju atlikumu pozitīvie lādiņi  $-\text{NH}_2^+$  extracelulārā vestibilā tāpat kuru sešu aminoskābju atlikumi citoplazmas vestibilā veic protonu atgrūšanu no poras kanāla ieejas? Arg.....,His.....His.....His.....Arg.....Arg.....Arg.....Thr...

20. Veikt AQP1 izoelektriskā punkta IEP=pH=pK<sub>a-vid</sub> analīzi fizioloģiskajā pH=7,36 vidē .

Noteikt ūdens šķīduma pH ar AQP1 koncentrāciju C=0.000000082=10<sup>-7,082</sup> M (mol/Litrā)!

Eritrocītu akvaporīns-1 (AQP1) specifiska ūdens pora 3\*10<sup>9</sup> H<sub>2</sub>O, O<sub>2</sub> molekulas sekundē

<http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/1J4NpIStudLat.doc> ; <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/Aquaporins/1J4NpI.xls>

Virkne 271 AA aminoskābēm AQP1 molekulā 1J4N.pdb :

	10	20	30	40	50	60	70	80
MASEFKKFLFWRVVAEFLAMILFIFISIGSALGFHYPIKSNQTTGAVQDQNVKVSALAFGLSIATLAQSVGHISGAHLNPA								
VTLGLLLSCQISVLRAIMYIIAQCVGAIVATAILSGITSSLPDNLGLNALAPGVNSGOGLGIEIIGTLQLVLCVLATTD								
RRRRDLGGSGPLAIGFSVALGHLLAIDYTGCGINPARSEFGSSVITHNFQDHWIFWVGPFIFGAALAVLIYDFILAPRSSDL								
TDRVKVVWTSQVVEEYDLDDADDINSRVEMKPK;								

Summa no 46 pKa vērtībām tabulā 412,45; pK<sub>a-vid</sub>=7,64

AA pK<sub>aCOO</sub>- pK<sub>aNH<sub>3</sub></sub>+ pK<sub>RR</sub> Nr

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

Ir uzskaitīti 4 cisteīna Cys atlikumi ar pK<sub>RR</sub> =8,18;

Saskaitītas 54 pKa vērtības no tabulām .....

Uzdevums akvaporīna 1 molekulas AQP1 aprēķinam

Protolītisko konstanti pK<sub>a</sub> izoelektrisko punktu IEP=pK<sub>a</sub> aprēķina saskaitot sānu virkņu ΣpK<sub>aRsānu</sub> grupa, un pK<sub>aNtermināls</sub>NH<sub>3</sub> un pK<sub>aCtermināls</sub>COO-konstanšu summu izdalot

ar skābes grupu skaitu molekulā NpK<sub>a</sub>:

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

20.1 Sumārais protolītisko līdzsvaru skaits ir NpKa=52.....+2.....=.....

271 aminoskābes no tām ar 52+2 protolītiskām pK<sub>a</sub> sānu grupām

N-termināla metionīns M pK<sub>aNtermināls</sub>=9,21 un

C-termināla leicīns L pK<sub>aCtermināls</sub>=2,18

Summa ir saskaitāma kā

$$\Sigma pK_{aRside\ group}+pK_{aNterminal}+pK_{aCterminala}=.....$$

20.2 Vidējā konstante pK<sub>vid</sub>=pK<sub>a</sub>=IEP IZO ELEKTRISKAIS PUNKTS

$$NpKa=52.....+2.....=.....$$

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

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

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

-COOH & -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pozitīvs -COO<sup>-</sup> & -NH<sub>2</sub> negatīvs lādiņš -COO<sup>-</sup> & -NH<sub>2</sub>

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

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

Pasvītro eksistējošu:

-COOH,-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pozitīvu (+) pH=7.36<IEP=7,64 negatīvu (-) -COO<sup>-</sup>,-NH<sub>2</sub>.

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

Pasvītro eksistējošu:

-COOH,-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pozitīvu (+) IEP =7,64 < pH = 8,8 negatīvu (-) -COO<sup>-</sup>,-NH<sub>2</sub>.

20.5 Aprēķina C=0.000000082=10<sup>-7,082</sup> M AQP1 šķīduma pH

Ostvalda atšķaidīšanas likumā logaritmam no C:

$$pH=\frac{pK_a-\log C}{2}=\frac{7,637963-\log 0.000000082}{2}=\frac{7,637963-7,082}{2}=\frac{0,555963}{2}=0,2779815$$

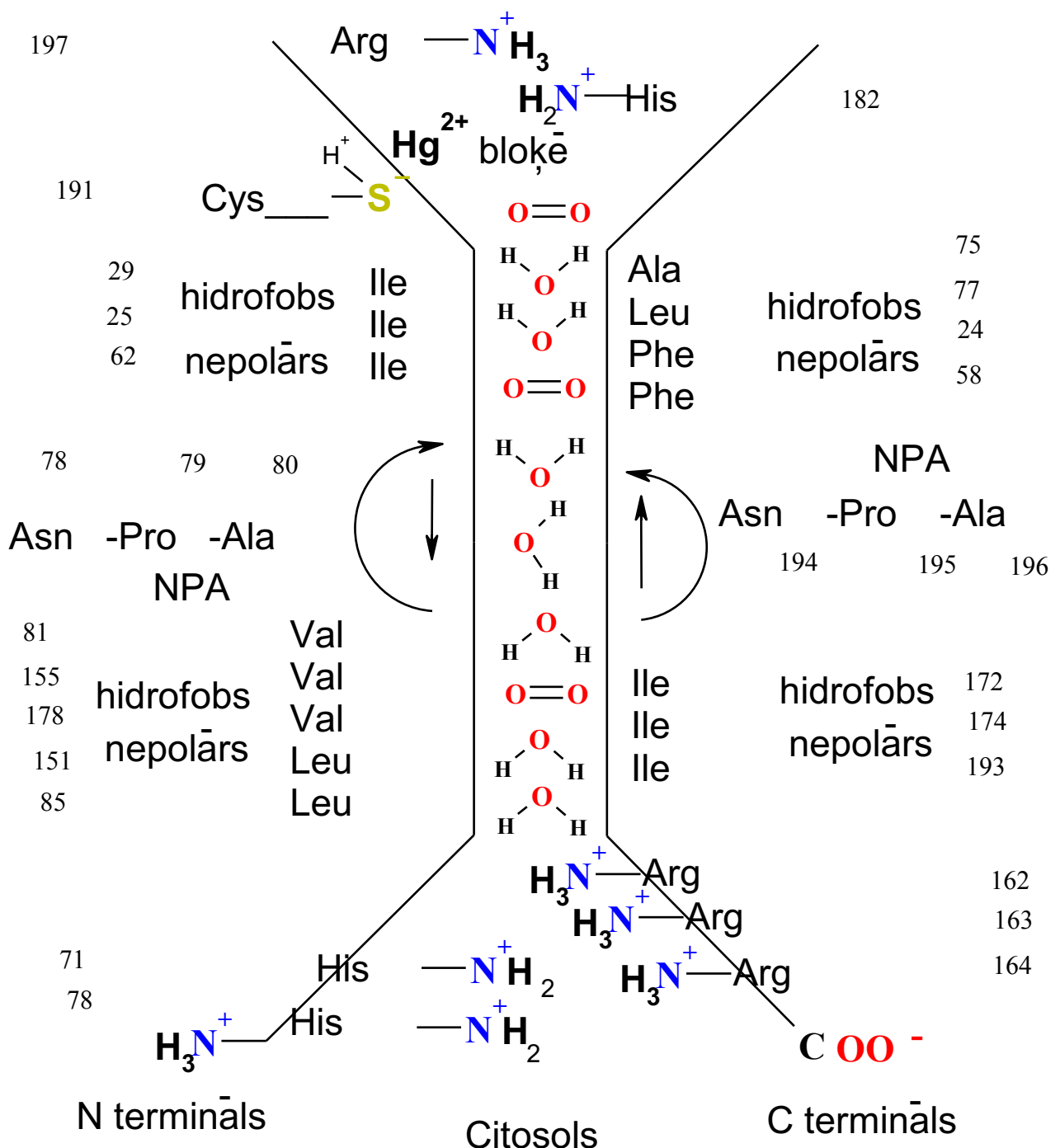
$$pH=\frac{pK_a-\log C}{2}=\frac{7,637963+7,082}{2}=\frac{14,719963}{2}=7,3599815$$

Atraktora 7,36 AQP1 koncentrācija ir C=.....M .

21. Ievietot aminoskābju nummurus 28-Å-garam, **cilindriskam AQP1 kanālam**, kuram seklie vestibili atrodas abos kanāla galos! ! Kanāla tilpuma virsma attēlota ar svarīgākajām kanālu-veidojošām aminoskābēm (ievietojiet numurus)! 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 **H<sub>2</sub>O** 301,302,303,304 **skābekļus H<sub>2</sub>O** starp aminoskābju atlikumiem. Ūdens molekulas **H<sub>2</sub>O** 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 **-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>** + un **-COO<sup>-</sup>** abos kanāla vestibilos ekstracelulārā un citosolā!

Asins plazma

Ekstracelulāra



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