

Supplemental Figure 3 Structural alignment of the TIP family with AQP1 and GlpF

The amino acid sequences of the ten members of the Arabidopsis TIP family were aligned based on sequence and structural similarity with bovine AQP1 and *E. coli* GlpF by using the Multiple Alignment program of the MOE software as described in the Materials and Methods. The sequences are numbered as follows: **1** AQP1, **2** GlpF, **3** *Arabidopsis thaliana* (At)TIP1;1, **4** AtTIP1;2, **5** AtTIP1;3, **6** AtTIP2;1 **7** AtTIP2;2, **8** AtTIP2;3, **9** AtTIP3;1, **10** AtTIP3;2, **11** AtTIP4;1, **12** AtTIP5;1. Also shown are the structurally aligned homology models of **13** AtTIP1;1, **14** AtTIP2;1, **15** AtTIP3;1 and **16** AtTIP5;1. The red bars above the sequences denote the positions of transmembrane and NPA α -helices (as outlined in Fig. 1 in the manuscript text) based on experimental structures (AQP1 and GlpF) and the TIP homology models. The blue and green bars above sequences represent regions of loops that constitute turns. The aligned ar/R residues are highlighted in vertical blue boxes.

	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	
1	MAS	EFKK	..	K	..	LFWR	AVVAEFLAM	ILFIFISIGS	ALG	...	FHYPIKSNQTTGAVQDNVKVSLAF	GG			
2							TLKGQC	IAEFLGTGLL	IFFGVGCVAA	...	LKVA	GASFGQWE	ISVI	WG	
3	MP	IRN	..	IA		GRPD	EATR	..	P	..	DALKAALAEFISTLIFV	VAGSGSGMA	...	FNKLTENGAT	TPSGLVAAVAHA	
4	MP	TRN	..	IA		IGGVQE	EYH	..	P	..	NALRAALAEFISTLIFV	VAGSGSGIA	...	FNKITDNGAT	TPSGLVAAALHA	
5	MP	INR	..	IA		GTPG	EASR	..	P	..	DAIRAAFAEFFSMVIFV	FAGQSGMA	...	YGKLTGDGPA	TPAGLVAAASLSHA	
6	MAG	VAV	F	GSFD	DSFS	..	L	..	ASLRAYLAEFISTLLFV	FAGVGS	IA	...	YAKLTSDAALDTP	GLVAIAVCHG	
7	MVK	IE	I	GSVG	DSFS	..	V	..	ASLKAYLSEFIATLLFV	FAGVGSALA	...	FAKLTSDAALD	PAGLVAVVAHA		
8	MVK	IE	V	GSVG	DSFS	..	V	..	SSLKAYLSEFIATLLFV	FAGVGS	AVA	...	FAKLTSDGALD	PAGLVAAIAHA	
9	MAT	SARRAYGF	GRAD	EATH	..	P	..	DSIRATLAEFLSTFVFV	FAAEGS	ILSLDKLYWEHAAHAGTNT	PGGL	IL	LVAL	HAHA		
10	MAT	SARRAYGF	GRAD	EATH	..	P	..	DSIRATLAEFLSTFVFV	FAGEGS	ILALDKLYWDTAAHTGTNT	PGGLV	L	LVAL	HAHA		
11	MKK	IE	L	GHHS	EAAK	..	P	..	DCIKALIVEFITFLFV	FAGVGS	SAMA	...	TDSLVGNTLV	GLFVAVVAHA	
12	MRR	MI	..	PTS	FSSKFQ	GVLS	..	M	..	NALRCYVSEFISTFFFV	LA	AVG	SVMS	...	SRKLMAGDVSGPF	GVLIPIANA
13	RPD	EATR	..	P	..	DALKAALAEFISTLIFV	VAGSGSGMA	...	FNKLTENGATTPSGLV	..	AAVA	HAHA			
14	MAG	VAV	GSFD	DSFS	ASLRAYLAEFISTLLFV	FAGVGS	IA	...	YAKLTSDAALD	TPGLVA	IAVCHG				
15	RAD	EATH	..	P	..	DSIRATLAEFLSTFVFV	FAAEGS	ILSLDKLYWEHAAHAGTNT	PGGL	IL	LVAL	HAHA			
16	FSS	KFQG	..	VLSM	NALRCYVSEFISTFFFV	LA	AVG	SVMS	...	SR	KLMAGDVSGPF	GVLIPIANA			

Helix1

Helix2

	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150	155	160	165
1	LSI	ATLAQSVG	HI	SGAHLNPAVT	LGLLL	SCQISVLR	AIMYII	AQCVGAI	VATA	ILSGITSS	LP	DNS			
2	LGV	AMAIY	LTAGV	SGAHLNPAVT	IALWL	FACFD	KRQV	IPFIV	SQVAGAF	CAAALVYGLYYN	LFDFEQ	THH	IVR	GSVES	VDLAG	
3	FGLF	VAVSVGA	NI	SGGHVNP	AVT	FGAF	IGGNIT	LLRGL	LYWI	AQLLGS	VVACL	ILKFAT	GG	LA	
4	FGLF	VAVSVGA	NI	SGGHVNP	AVT	FGVLL	GGNIT	LLRGL	LYWI	AQLLGS	VAA	CFLLSFAT	GG	EP	
5	FALF	VAVSVGA	NV	SGGHVNP	AVT	FGAF	IGGNIT	LLRAI	LYWI	AQLLGA	VVACL	LLKVST	GG	ME	
6	FALF	VAVAIGA	NI	SGGHVNP	AVT	FLAVGGQ	ITVIT	GVFYWI	AQLLGS	TAA	CFLLYVT	GG	LA		
7	FALF	VGV	IAA	NI	SGGHLNPAVT	LGLAV	GGNITVIT	GFFYWI	AQCLGS	IVAC	LLLVFTNG	ES			
8	FALF	VGV	IAA	NI	SGGHLNPAVT	LGLA	IGGNITLIT	GFFYWI	AQCLGS	IVAC	LLLVFTNG	KS			
9	FAL	FAAVSAA	NI	NVSGGHVNP	AVT	FGALV	GGRVTAIRAI	YWI	AQLLGA	ILAC	LLRLTTNG	MR			
10	LAL	FAAVSAA	NI	NVSGGHVNP	AVT	FAAL	IGGRISVIRAI	YVWAQ	LIGAI	LAC	LLRLATNG	LR			
11	FV	VAVMI	SAG	HI	SGGHLNPAVT	LGLLL	GGHISV	FRAFL	YWI	DQLLASSA	CFLLSYLT	GG	MG		
12	LAL	SSSVY	ISW	NVSGGHVNP	AVT	FAMAVA	GRISVPTAMF	YWTSQM	IASVMA	CLV	LKVTVME	QH			
13	FGLF	VAVSVGANI	SGGHVNP	AVT	FGAF	IGGNIT	LLRGL	LYWI	AQLLGS	VVACL	ILKFAT	GG	LA	VPA	
14	FALF	VAVAIGA	NI	SGGHVNP	AVT	FLAVGGQ	ITVIT	GVFYWI	AQLLGS	TAA	CFLLYVT	GG	LA		
15	FAL	FAAVSAA	NI	NVSGGHVNP	AVT	FGALV	GGRVTAIRAI	YWI	AQLLGA	ILAC	LLRLTTNG	MRP			
16	LAL	SSSVY	ISW	NVSGGHVNP	AVT	FAMAVA	GRISVPTAMF	YWTSQM	IASVMA	CLV	LKVTVME	EQH			

Helix2

NPA Loop B

Helix3

	175	180	185	190	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250																																																																					
1	L	G	L	N	A	L	A	P	G	V	N	S	G	Q	G	L	G	·	I	E	I	G	T	L	Q	L	V	L	C	V	L	A	T	·	D	R	R	R	R	D	L	G	G	·	S	G	P	L	A	I	G	F	S	V	A	L	G	H	L	L	A	I	D	Y	T	G	C	G	I	N	P	A	R	S	F	G	S	S	V	I	T	H	·		
2	T	F	S	T	Y	P	N	P	H	I	N	F	V	Q	A	F	A	·	V	E	M	V	I	T	A	I	M	G	L	I	L	A	L	T	·	D	D	G	N	G	V	P	R	G	P	L	A	P	L	L	I	G	L	L	I	A	V	I	G	A	S	M	G	P	L	T	G	F	A	M	N	P	A	R	D	F	G	P	K	V	F	A	W	L	·
3	V	P	A	F	G	L	S	A	G	V	G	L	N	A	F	V	·	F	E	I	V	M	T	F	G	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	I	D	P	K	N	G	S	L	G	T	·	I	A	P	I	A	I	G	F	I	V	G	A	N	I	L	A	G	G	A	F	S	G	A	S	M	N	P	A	V	A	F	G	P	A	V	V	S	W	·	
4	I	P	A	F	G	L	S	A	G	V	G	S	L	N	A	L	V	·	F	E	I	V	M	T	F	G	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	V	D	P	K	N	G	S	L	G	T	·	I	A	P	I	A	I	G	F	I	V	G	A	N	I	L	A	G	G	A	F	S	G	A	S	M	N	P	A	V	A	F	G	P	A	V	V	S	W	·
5	T	A	A	F	S	L	S	Y	G	V	T	P	W	N	A	V	V	·	F	E	I	V	M	T	F	G	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	V	D	P	K	K	G	D	I	G	I	·	I	A	P	L	A	I	G	L	I	V	G	A	N	I	L	V	G	G	A	F	D	G	A	S	M	N	P	A	V	S	F	G	P	A	V	V	S	W	·
6	V	P	T	H	S	V	A	A	G	L	G	S	I	E	G	V	V	·	M	E	I	I	T	F	A	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	A	D	P	K	K	G	S	L	G	T	·	I	A	P	L	A	I	G	L	I	V	G	A	N	I	L	A	A	G	P	F	S	G	S	M	N	P	A	R	S	F	G	P	A	V	A	A	G	·		
7	V	P	T	H	G	V	A	A	G	L	G	A	I	E	G	V	V	·	M	E	I	V	V	T	F	A	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	A	D	P	K	K	G	S	L	G	T	·	I	A	P	I	A	I	G	F	I	V	G	A	N	I	L	A	A	G	P	F	S	G	S	M	N	P	A	R	S	F	G	P	A	V	V	S	G	·	
8	V	P	T	H	G	V	S	A	G	L	G	A	V	E	G	V	V	·	M	E	I	V	V	T	F	A	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	A	D	P	K	K	G	S	L	G	T	·	I	A	P	I	A	I	G	F	I	V	G	A	N	I	L	A	A	G	P	F	S	G	S	M	N	P	A	R	S	F	G	P	A	V	V	S	G	·	
9	P	V	G	F	R	L	A	S	G	V	G	A	V	N	G	L	V	·	L	E	I	I	L	T	F	G	L	V	Y	V	Y	S	T	L	I	D	P	K	R	G	S	L	G	I	·	I	A	P	L	A	I	G	L	I	V	G	A	N	I	L	V	G	G	P	F	S	G	A	S	M	N	P	A	R	A	F	G	P	A	L	V	G	W	·	
10	P	V	G	F	H	V	A	S	G	V	S	E	L	H	G	L	L	·	M	E	I	I	L	T	F	A	L	V	Y	V	Y	S	T	A	I	D	P	K	R	G	S	L	G	I	·	I	A	P	L	A	I	G	L	I	V	G	A	N	I	L	V	G	G	P	F	D	G	A	S	M	N	P	A	R	A	F	G	P	A	L	V	G	W	·	
11	T	P	V	H	T	L	A	S	G	V	S	Y	T	Q	G	I	I	·	W	E	I	I	L	T	F	S	L	L	F	T	V	Y	A	T	I	V	D	P	K	K	G	S	L	D	G	·	F	G	P	L	L	T	G	F	V	V	G	A	N	I	L	A	G	G	A	F	S	G	A	S	M	N	P	A	R	S	F	G	P	A	L	V	S	G	·
12	V	P	I	Y	K	I	A	G	E	M	T	G	F	G	A	S	V	·	L	E	G	V	L	A	F	V	L	Y	T	V	F	·	T	A	S	D	P	R	R	G	L	P	L	A	·	V	G	P	I	F	I	G	F	V	A	G	A	N	V	L	A	A	G	P	F	S	G	S	M	N	P	A	C	A	F	G	S	A	M	V	Y	G	·		
13	F	G	L	S	A	G	V	·	·	·	G	V	L	N	A	F	V	·	F	E	I	V	M	T	F	G	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	I	D	P	K	N	G	S	L	G	T	·	I	A	P	I	A	I	G	F	I	V	G	A	N	I	L	A	G	G	A	F	S	G	A	S	M	N	P	A	V	A	F	G	P	A	V	V	S	W	·
14	V	P	T	H	S	V	A	A	G	L	G	S	T	E	G	V	V	·	M	E	I	I	T	F	A	L	V	Y	T	V	Y	A	T	A	A	D	P	K	K	G	S	L	G	T	·	I	A	P	L	A	I	G	L	I	V	G	A	N	I	L	A	A	G	P	F	S	G	S	M	N	P	A	R	S	F	G	P	A	V	A	A	G	·		
15	V	G	F	R	L	·	A	S	G	V	G	A	V	N	G	L	V	·	L	E	I	I	L	T	F	G	L	V	Y	V	Y	S	T	L	I	D	P	K	R	G	S	L	G	I	·	I	A	P	L	A	I	G	L	I	V	G	A	N	I	L	V	G	G	P	F	S	G	A	S	M	N	P	A	R	A	F	G	P	A	L	V	G	W	·	
16	V	P	I	Y	K	I	A	·	G	E	M	T	G	F	G	A	S	V	·	L	E	G	V	L	A	F	V	L	Y	T	V	F	T	A	S	·	D	P	R	R	G	L	P	L	A	·	V	G	P	I	F	I	G	F	V	A	G	A	N	V	L	A	A	G	P	F	S	G	S	M	N	P	A	C	A	F	G	S	A	M	V	Y	G	·	

Helix4

Helix5

NPA Loop E

	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
1	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
2	A	G	W	G	N	V	A	F	T	G	G	R	D
3	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
4	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
5	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
6	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
7	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
8	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
9	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
10	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
11	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
12	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
13	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
14	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
15	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·
16	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·	·

Helix6