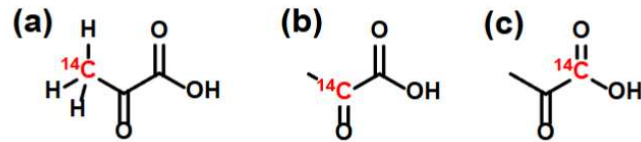


# 生物化学第四周作业

许呈睿 2023012946 探微化31

## 【习题 1】

在三个独立实验中，分别用(a)、(b)、(c)三种丙酮酸经过丙酮酸脱氢酶复合物的作用和柠檬酸循环，被标记的三种丙酮酸释放  $^{14}\text{CO}_2$  的顺序是什么样的？给出详细分析过程。



最先释放的是(c)，其在生成乙酰CoA的第一步脱羧反应即释放该羧基上的  $\text{CO}_2$

但是 (b) 和 (a) 在第一轮循环中都是作为乙酰辅酶A上的碳进入反应，不会在第一轮氧化循环中被氧化为二氧化碳，个人认为的反应顺序如下，并通过查阅文献验证了我的猜测：

(b) (丙酮酸的酮碳 C-2 → 乙酰-CoA 的羧基碳) ——随后在柠檬酸循环的二周次中作为乙酰辅酶的羧基碳被氧化并以  $\text{CO}_2$  回收；比 (a) 更早 更高比例回收（常见于第 2 周期或较早被检测到）。

(a) (丙酮酸的甲基 C-3 → 乙酰-CoA 的甲基碳) ——最慢释放为  $\text{CO}_2$ ，往往在更多次循环后才见到显著释放，且一部分标记可被转入其他代谢通路（因此在短时间内回收为  $\text{CO}_2$  的比例最低）。

## Recovery of labeled $\text{CO}_2$ during the infusion of C-1- vs C-2-labeled acetate: implications for tracer studies of substrate oxidation

Wolfe RR<sup>1</sup>, Jahoor F<sup>1</sup>

Show more ▾

+ Add to Mendeley   Share   Cite

<https://doi.org/10.1093/ajcn/51.2.248>

[Get rights and content](#)

### ABSTRACT

In this study we determined the rate of conversion of carbon-labeled acetate to carbon dioxide in normal human volunteers and in anesthetized dogs. In human subjects ( $n = 4$ ),  $[1-^{13}\text{C}]$ acetate was infused on one occasion, and  $[2-^{13}\text{C}]$ acetate was infused in the repeat study in the same subjects. In postabsorptive volunteers ( $n = 6$ ),  $81.2 \pm 6.5\%$  ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) and  $53.1 \pm 7.4\%$  of infused  $^{13}\text{C}$  was recovered as  $^{13}\text{CO}_2$  when  $[1-^{13}\text{C}]$ - or  $[2-^{13}\text{C}]$ acetate, respectively, were infused. In one subject studied during exogenous glucose infusion at  $3.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ , recovery of  $^{13}\text{CO}_2$  was 72.7% and 38.5% from  $[1-^{13}\text{C}]$ - and  $[2-^{13}\text{C}]$ acetate, respectively. In dogs,  $[1-^{14}\text{C}]$ - and  $[2-^{14}\text{C}]$ acetate were infused simultaneously. Recovery of  $^{14}\text{CO}_2$  was  $75.9 \pm 2.5\%$  of infused isotope whereas recovery of  $^{13}\text{CO}_2$  was  $40.8 \pm 1.9\%$ . We concluded that the position of the label in acetyl coenzyme A (CoA) determines the extent to which the process of oxidation of labeled acetyl CoA is reflected in labeled carbon dioxide excretion.

[illegible]

(a). 在琥珀酸脱氢酶反应中, 以  $1/v$  对  $1/[S]$  作图 ( $v$  表示速度,  $[S]$  表示底物浓度), 画出以下两种情况的反应曲线: (1). 没有抑制物; (2). 存在丙二酸 (作为抑制剂)。

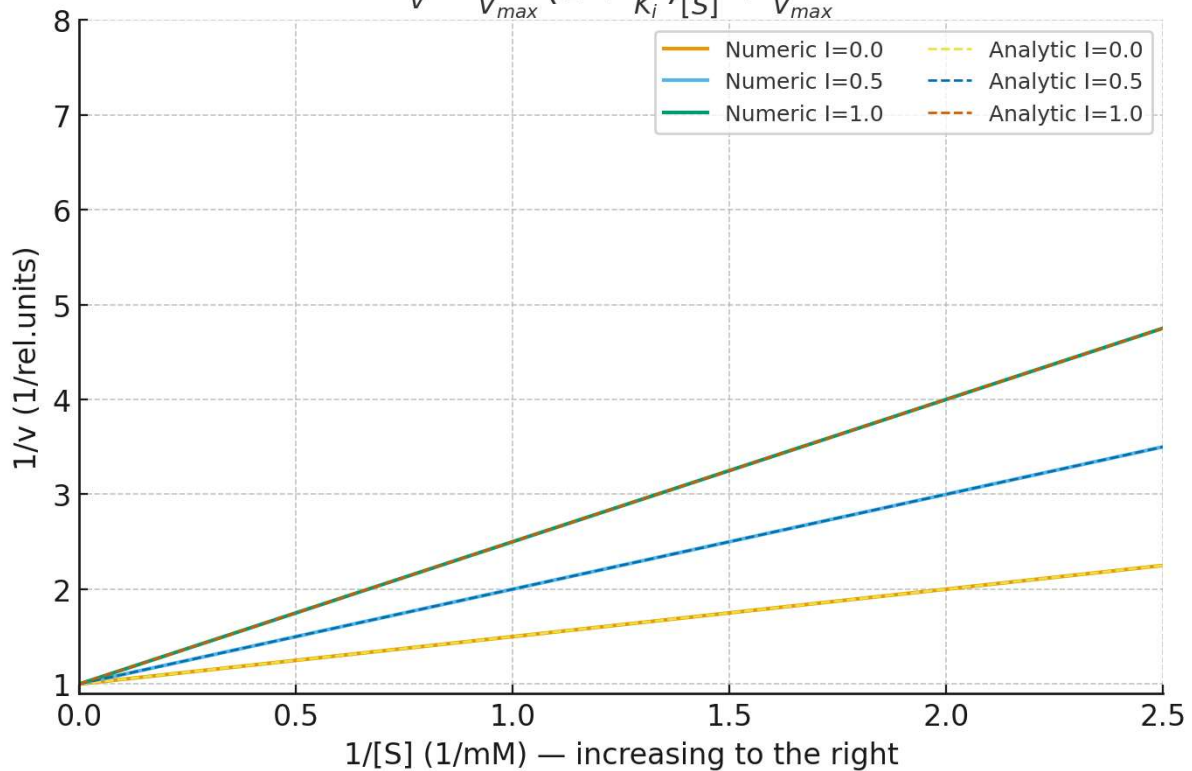
(b). 是否可以通过加入草酰乙酸的方法来降低丙二酸对琥珀酸脱氢酶的抑制效应?

$$\frac{1}{v} = \frac{\alpha K_m + [S]}{V_{max}[S]} = \frac{\alpha K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}.$$
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \left( 1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

竞争性抑制**改变斜率，不改变纵截距** ( $1/V_{max}$ )。在 Lineweaver-Burk 图上，不同  $[I]$  的直线应在纵轴相交 (相同  $1/V_{max}$ )，而斜率随  $[I]$  增大而增大 (直线更陡)。

## Lineweaver-Burk: Competitive inhibition

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



b)一般不能，草酰乙酸本身也是对 SDH 的抑制因子，由动力学角度看，若两者都与底物（琥珀酸）竞争相同或重叠位点，加入另一种竞争性抑制剂不会降低已存在竞争抑制剂的效果。



### 生化与生物物理研究通讯

第 49 卷，第 2 期，1972 年 10 月 17 日，第 441-444 页



## 琥珀酸脱氢酶上草酰乙酸的结合位点

安德烈·D·维诺格拉多夫<sup>\*</sup>，达里尔·温特，曹以金

[显示更多](#)

[+ 添加到 Mendeley](#) [分享](#) [引用](#)

[https://doi.org/10.1016/0006-291X\(72\)90430-5](https://doi.org/10.1016/0006-291X(72)90430-5)

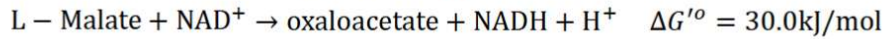
[获得权利和内容](#)

### 抽象的

草酰乙酸是琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制剂，它与该酶的巯基结合，从而抑制了酶的活性。随后，硫代半缩醛显然形成了，使抑制几乎不可逆。脱氢酶在吸收25个银当量/黄素后，几乎不结合草酰乙酸。

### 【习题 3】

在三羧酸循环的最后一个反应中，为完成循环并结合下一分子乙酰辅酶 A，苹果酸（L-Malate）需要脱氢得到草酰乙酸（oxaloacetate）：



(a). 计算该反应在 37°C 下的平衡常数。

(b). 当  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$  的值为 10 时，小鼠肝线粒体中 L-苹果酸的浓度约为 0.20 mM。请据此计算这些线粒体（pH=8.0）中草酰乙酸的浓度。

(c). 为直观了解线粒体草酰乙酸的浓度大小，假设线粒体是一个直径为 2.0  $\mu\text{m}$  的球体，请计算单个大鼠肝线粒体中草酰乙酸分子的数量。

已知反应： $\text{L-Malate} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{Oxaloacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+$

(a) 平衡常数 (K)

$\Delta G' = -RT \ln K'$  这里的  $K'$  为生化转化平衡常数

$$K' = \exp\left(-\frac{\Delta G'}{RT}\right) = \exp\left(-\frac{30000}{8.314 \times 310.15}\right) \approx 8.86 \times 10^{-6}$$

(b)

$$K_{\text{chem}} = \frac{[\text{OAA}][\text{NADH}][\text{H}^+]}{[\text{Mal}][\text{NAD}^+]}$$

而生化转化常数 ( $K'$ ) 与 ( $K_{\text{chem}}$ ) 的关系为

$$K_{\text{chem}} = K' \times [\text{H}^+]_{\text{std}},$$

其中按惯例生化标准 pH = 7 时把 ( $[\text{H}^+]_{\text{std}} = 10^{-7} \text{ M}$ ) 固定进去了。于是在真实 pH 条件下：

$$\begin{aligned} [\text{OAA}] &= \frac{K_{\text{chem}}[\text{Mal}][\text{NAD}^+]}{[\text{NADH}][\text{H}^+]} \\ &= K'[\text{Mal}] \frac{[\text{NAD}^+]}{[\text{NADH}]} \frac{[\text{H}^+]_{\text{std}}}{[\text{H}^+]}. \end{aligned}$$

]

代入数值：

$$[\text{OAA}] = 8.857 \times 10^{-6} \times 2.0 \times 10^{-4} \times 10 \times \frac{10^{-7}}{10^{-8}} \approx 1.77 \times 10^{-7} \text{ M}$$

如果不对 pH 做修正,将得到小 10 倍的值  $\approx 1.77 \times 10^{-8} \text{ M}$

(c)

球体体积：

$$V = \frac{4}{3} \pi r^3, \quad r = \frac{2.0 \mu\text{m}}{2} = 1.0 \times 10^{-6} \text{ m}.$$

$$\begin{aligned} V &= \frac{4}{3} \pi (1.0 \times 10^{-6} \text{ m})^3 \\ &= 4.18879 \times 10^{-15} \text{ L}. \end{aligned}$$

$$\text{分子数} = \text{浓度} (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) \times \text{体积} (\text{L}) \times (N_A)$$

$$[\text{OAA}] = 1.77 \times 10^{-7} \text{ M}:$$

$$N = 1.77 \times 10^{-7} \times 4.18879 \times 10^{-15} \times 6.022 \times 10^{23} \approx 4.47 \times 10^2.$$

约 447 个 OAA 分子 / 线粒体 (若不做 pH 修正则约为 45 个, 差 10 倍)。