

Задача 7. Метки в первичном метаболизме (10 баллов)

Вопрос	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Всего
Очки	3	1	2	1	2	2	3	4	2	20

Автор – А.К. Гладилин

Для установления последовательности стадий метаболических путей и прояснения механизма протекающих реакций исследователи широко используют меченые соединения. В данной задаче Вам предлагается проанализировать результаты таких исследований, относящихся к первичному метаболизму.

В процесс гликолиза вовлекали D-глюкозу, полностью меченную по третьему атому углерода. Гликолиз проводили в анаэробных условиях культурой, осуществляющей спиртовое брожение.

1. Изобразите продукт, в котором будет обнаружена метка? Если применимо, укажите положение метки.

После ретроальдозазной реакции идет изомеризация альдозы в кетозу, которая возможна только между 2-м и 3-м атомами С (нумерация, как в исходной глюкозе), поскольку гидроксильная группа при 1-м атоме связана с остатком фосфата.

CO₂

3 балла

2. Какова доля меченого продукта?

1/2

1 балл

В другом эксперименте исследовали цикл трикарбоновых кислот, для чего в него ввели ацетил-СоА, меченный по углероду карбоксильной группы. Исходя из структуры цитрата, образующегося при взаимодействии ацетил-СоА с оксалоацетатом, исследователи предполагали обнаружить смесь молекул 2-кетоглутарата, меченных по 1 и 5 атомам углерода. Однако было установлено, что 2-кетоглутарат содержит метку только в 5-ом положении.

3. Объясните причину, приводящую к неожиданному результату. *Напоминание:* все стадии цикла катализируются ферментами.

Многоточечное связывание ахирального цитрата в активном центре превращает его в хиральный продукт в составе фермент-субстратного комплекса.

2 балла

Фторацетат натрия применяется как средство борьбы с грызунами и является чрезвычайно опасным ядом. Попадание в организм даже малых количеств данного

соединения может привести к летальному исходу. Проникнув в клетки, фторацетат-анион превращается во фторацетил-СоА и в таком виде попадает в цикл трикарбоновых кислот, что приводит к накоплению в клетках изо-цитрата и понижению концентрации прочих интермедиатов цикла.

4. Укажите стадию, на которой «застопоривается» цикл.

Изо-цитрат в 2-кето-глутарат

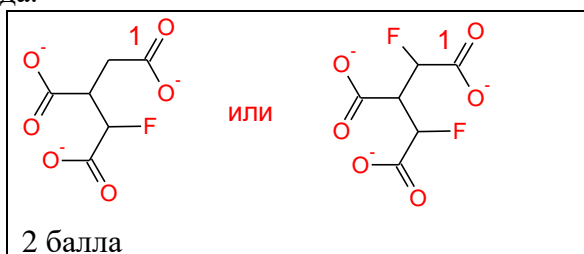
1 балл

5. Сколько полных оборотов цикла успеет пройти до его остановки после вступления в цикл молекулы фторацетил-СоА?

1 оборот

2 балла

6. Изобразите конечный продукт превращения фторацетил-СоА в цикле. Подпишите 1-ый атом углерода.



7. Какое соединение, присутствующее в ряде фруктов, следует ввести в организм, после попадания в него фторацетил-аниона, чтобы «перезапустить» цикл трикарбоновых кислот? Объясните механизм его действия.

Цитрат. По сути, фторированный цитрат является конкурентным ингибитором аконитазы (связывается с ферментом, но не может быть превращен в пригодный для дальнейших трансформаций продукт). Цитрат частично заместит фторированный цитрат и изо-цитрат в активном центре аконитазы и разблокирует цикл. Чем выше концентрация введенного цитрата, тем эффективнее его действие.

3 балла

Глюконеогенез, катализируемый срезами печени крысы, осуществляется в атмосфере $^{14}\text{CO}_2$. Процесс глюконеогенеза начинается с пирувата, а первый обходной путь включает следующие стадии:

- А) перенос пирувата из цитозоля в митохондриальный матрикс;
- А) карбоксилирование пирувата с образованием оксалоацетата;
- Б) восстановление оксалоацетата до малата;
- Г) перенос малата из митохондриального матрикса в цитозоль;
- Д) окисление малата до оксалоацетата;
- Е) дерарбоксилирование оксалоацетата с образованием фосфоенолпирувата, после чего на пути к глюкозе задействованы те же интермедиаты, что и в гликолизе.

Было установлено, что при декарбоксилировании оксалоацетата молекулу «покидает» тот атом углерода, который был введен в пируват на стадии карбоксилирования, однако в синтезируемой глюкозе обнаруживается некоторое количество метки.

8. Укажите, благодаря сопряжению глюконеогенеза с каким процессом в глюкозе обнаруживается метка. Объясните механизм миграции метки.

С циклом лимонной кислоты. Все стадии между сукцином и оксалоацетатом обратимы, что приводит к распределению метки между двумя карбоксильными группами оксалоацетата, в результате чего часть метки не покидает оксалоацетат при декарбоксилировании, а подвергается последующим стадиям глюконеогенеза.

4 балла

9. В каком(их) положении(иях) глюкозы будет обнаружена метка?

В 4-м и 5-м (см. ответ на вопрос 1).

2 балла

Всего 20 технических баллов (очков).