

# 在教学中通过脱羧线索解析三羧酸循环

刘缨<sup>#1</sup>, 霍诗睿<sup>#1</sup>, 李婷<sup>2</sup>, 赫荣乔<sup>\*3,4</sup>

1 北京中医药大学 生命科学学院, 北京 102488

2 巴彦淖尔市医院, 内蒙古 巴彦淖尔 015000

3 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101

4 中国科学院大学 生命科学学院, 北京 101408

刘缨, 霍诗睿, 李婷, 赫荣乔. 在教学中通过脱羧线索解析三羧酸循环[J]. 微生物学通报, 2024, 51(12): 5270-5281.

LIU Ying, HUO Shirui, LI Ting, HE Rongqiao. Teaching of tricarboxylic acid cycle via decarboxylation clues[J]. Microbiology China, 2024, 51(12): 5270-5281.

**摘要:** 三羧酸循环的反应过程复杂, 中间产物多样、知识点密集, 是生物化学课程教学中的重点和难点。在现有教学中, 教师们通常按照三羧酸循环的反应步骤依次讲解(简称顺序法), 但其教与学的效果尚具有提升的空间。为了简化反应过程和产物术语的复杂度, 使学生易于理解和掌握三羧酸循环的反应途径和作用机制, 同时提升教学质量, 本文提出了一种教学思路, 即通过脱羧反应的线索来解析三羧酸循环(脱羧解析法)。首先, 脱羧解析法展示了丙酮酸脱羧形成的乙酰辅酶 A 与草酰乙酸反应, 形成的柠檬酸分子中的 2-羧甲基在三羧酸循环的第一轮循环未参与脱羧。然后, 采用 R 代表羧甲基对三羧酸循环进行分析发现, 从乙酰辅酶 A 与草酰乙酸缩合开始, 三羧酸循环的部分中间产物化学式可以对应写成: 柠檬酸(R-2-苹果酸)、顺乌头酸(R-延胡索酸)、异柠檬酸(R-3-苹果酸)、 $\alpha$ -酮戊二酸(R-丙酮酸)、琥珀酰辅酶 A (R-乙酰辅酶 A)、琥珀酸(R-乙酸)。三羧酸循环的两次脱羧分别发生在异柠檬酸和  $\alpha$ -酮戊二酸。为了检验“脱羧解析法”的教学效果, 本文招募学生开展接受“脱羧解析法”教学前后学习效果的问卷调查, 并对反馈结果进行统计分析显示, 接受脱羧解析法教学后, 绝大多数学生都感觉“三羧酸循环”的每一步反应变得容易理解和记忆了。“脱羧解析”教学法对学习效果的提升有助于启发学生的思考与分析, 促进学生的学习能动性与创新精神, 从而获得更好的学习效果。

**关键词:** 三羧酸循环; 脱羧; 苹果酸; 延胡索酸; 丙酮酸; 乙酰辅酶 A; 二氧化碳

资助项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2021MS08040); 内蒙古自治区人才开发基金

<sup>#</sup>对本文贡献相同

This work was supported by the Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2021MS08040) and the Inner Mongolia Autonomous Region Talent Development Fund.

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: herq@ibp.ac.cn

Received: 2024-10-15; Accepted: 2024-11-18; Published online: 2024-11-25

## Teaching of tricarboxylic acid cycle via decarboxylation clues

LIU Ying<sup>#1</sup>, HUO Shirui<sup>#1</sup>, LI Ting<sup>2</sup>, HE Rongqiao<sup>\*3,4</sup>

1 School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2 Bayannur Hospital, Bayannur 015000, Inner Mongolia, China

3 Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

4 College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China

**Abstract:** The tricarboxylic acid (TCA) cycle is a crucial yet challenging topic in the teaching of Biochemistry due to its complex reactions and dense knowledge points. Conventional teaching method typically follows the sequence of the reactions in the TCA cycle, which often resulting in suboptimal learning outcomes. This paper introduces an alternative teaching method with introduction of decarboxylation clues to simplify the reaction process and product terminology in the TCA cycle, making it easier for students to understand the pathways and mechanisms involved. Firstly, the dissection of decarboxylation demonstrates that pyruvate undergoes decarboxylation to form acetyl-CoA, which reacts with oxaloacetate to produce the 2-carboxymethyl group in citrate. This 2-carboxymethyl group does not participate in decarboxylation during the first round of the TCA cycle. Subsequently, with R representing carboxymethyl for analyzing the TCA cycle, it is found that starting from the condensation of acetyl-CoA and oxaloacetate, the chemical formulas of some intermediates in the TCA cycle can be correspondingly written as follows: citrate (R-2-malate), *cis*-aconitate (R-fumarate), isocitrate (R-3-malate),  $\alpha$ -ketoglutarate (R-pyruvate), succinyl-CoA (R-acetyl-CoA), and succinate (R-acetate). The two decarboxylation steps in the TCA cycle occur in isocitrate and  $\alpha$ -ketoglutarate, respectively. To evaluate the effectiveness of this new teaching method, we recruited students to participate in a survey assessing their learning outcomes before and after teaching with this method. Statistical analysis of the feedback results showed that the majority of students taught with this new method found each step of the TCA cycle easier to understand and remember, with significant improvement in learning outcomes. The teaching method with decarboxylation clues enhances learning outcomes by stimulating students' thinking and analysis and promoting their learning initiative and innovative spirit, thereby leading to better learning results.

**Keywords:** tricarboxylic acid cycle; decarboxylation; malic acid; fumaric acid; pyruvic acid; acetyl-CoA; carbon dioxide

三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA cycle), 又称为柠檬酸循环或 Krebs 循环(以发现者 Hans Adolf Krebs 命名), 是需氧生物体内普遍存在的代谢途径<sup>[1-2]</sup>。它不仅能够为生物体提供能量, 还是糖类、脂类、蛋白质三大营养素的最终代谢通路和联系枢纽。三羧酸循环涉及

微生物<sup>[3]</sup>、植物<sup>[4]</sup>、动物<sup>[5]</sup>、人类<sup>[6]</sup>多方面的代谢活动。不但是生物化学教学中的重要内容, 也是生理学、营养学、医学等多个学科的基础知识。

在微生物领域, 三羧酸循环的研究关系到病毒<sup>[7]</sup>、原核<sup>[8]</sup>、真菌<sup>[9]</sup>等各个学科领域。三羧

酸循环的相关研究在健康领域也十分活跃,如肠道菌群与健康<sup>[1,10-11]</sup>、糖尿病<sup>[12]</sup>、衰老代谢<sup>[5]</sup>、神经退行性疾病<sup>[13]</sup>、肿瘤防治<sup>[14-15]</sup>、病毒复制<sup>[7]</sup>、营养代谢<sup>[16-17]</sup>等重要领域。由此可见,三羧酸循环及其相关代谢途径的研究依然十分活跃<sup>[5,18]</sup>,依然是相关学科研究的前沿和热点<sup>[3,19]</sup>。这也凸显了三羧酸循环教学的基础性、前沿性、重要性。

三羧酸循环是教学和学生学习的难点<sup>[20]</sup>,其难点在于反应过程和产物术语的复杂性。学生难以理解循环的生化反应和机制,没有找到能够贯穿三羧酸循环的学习途径,单靠死记硬背难以留下深刻的印象。面对当今高速发展的生命科学及其相关应用领域,在教学中需要探索新方法提高教学质量和效率已经成为大势所趋。本文通过建立“脱羧线索解析三羧酸循环”的教学方法,简化了学习三羧酸循环的复杂性和难度。这不仅有助于提高学生对该循环的理解和记忆,促进对生物化学课程相关内容的学习,也能够启发学生在面对学习中的难题时主动思考、解决问题。

## 1 三羧酸循环的“脱羧解析法”教学研究大纲

### 1.1 必要性

三羧酸循环是生物化学中一个重要概念,也是课程教学中有关能量代谢的重点和难点内容。因其是需氧生物体内普遍存在的代谢途径,该部分也是微生物学、细胞生物学、动物学、医学、生物工程学等相关专业教学的基础内容之一。其难点体现在三羧酸循环十分复杂,有8个基本反应步骤,中间产物多,知识点也多。三羧酸循环涉及大量专业术语,如乙酰辅酶A、异柠檬酸、顺乌头酸等。这些术语的抽象性和

专业性增加了学习难度。死记硬背不仅容易出错,也难以触类旁通。因此,帮助学生理解和掌握三羧酸循环,不但是生物化学课程学习的需要,也是提升学生解决问题能力的需要。

### 1.2 教学目的

采用“脱羧解析法”教学,通过简化三羧酸循环、揭示不同中间产物的化学结构和术语间的关联,让学生更容易理解三羧酸循环的反应及其机理,便于对知识点的学习和记忆。该教学方法旨在启发学生主动思考、勇于探索新的学习方法,从而获得更好的学习效果。

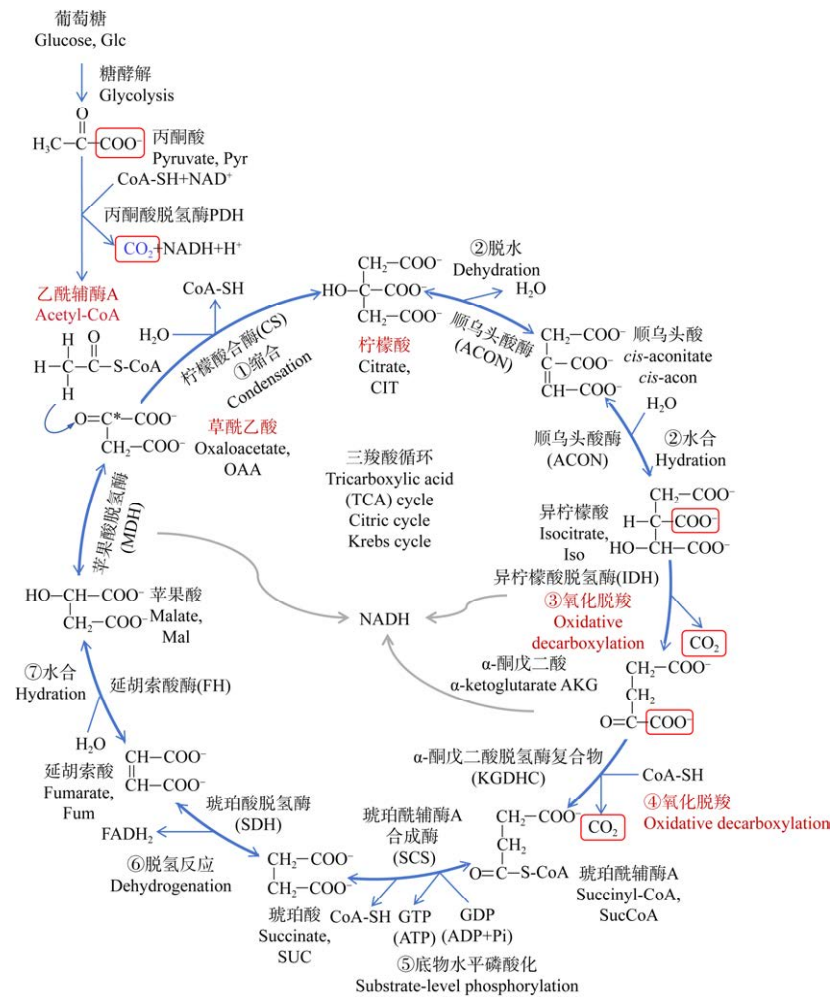
### 1.3 概念

三羧酸循环是由一系列酶促反应构成的循环反应系统(图1),在该反应过程中,首先由乙酰辅酶A与草酰乙酸缩合生成含有3个羧基的柠檬酸,再经过一系列的脱水、水合、脱羧、脱氢、底物水平磷酸化等反应,最终又生成草酰乙酸的一个循环过程。由于该循环的第一个产物柠檬酸含有3个羧基(三元羧酸),由此得名“三羧酸循环”<sup>[20]</sup>。

### 1.4 顺序教学法与脱羧解析法

面对三羧酸循环的复杂过程,教师往往按照其反应步骤的顺序(顺序教学法),从丙酮酸进入线粒体转变为乙酰辅酶A开始,对反应步骤一个接一个地讲解。这样做不仅花费精力和时间,而且教学效果往往与之不成比例。也有按照产生能量分子的知识点,如NADH、GTP、FAD的生成等作为教学的重要环节,但这样做同样难以摆脱死记硬背的学习方式。

在教学中,我们观察到通过解析三羧酸循环中的脱羧反应和羧甲基等基团的变化,可以有效降低教学中其反应过程的复杂程度,以及中间产物专业术语抽象等问题,由此,本文开展了三羧酸循环脱羧解析法教学效果的调研。



**图 1 三羧酸循环的化学反应步骤** 三羧酸循环的化学反应包括缩合、脱水、水合、氧化脱羧、底物水平磷酸化、脱氢等反应. 释放  $\text{CO}_2$  发生在丙酮酸脱羧(进入三羧酸循环之前)、异柠檬酸脱羧、 $\alpha$ -酮戊二酸脱羧. Acetyl-CoA: 乙酰乙酰辅酶 A; ACON: 顺乌头酸酶; ADP: 二磷酸腺苷; AKG:  $\alpha$ -酮戊二酸; ATP: 三磷酸腺苷; *cis*-acon: 顺乌头酸; CIT: 柠檬酸; CS: 柠檬酸合酶;  $\text{FADH}_2$ : 黄素腺嘌呤二核苷酸, 还原型; FH: 延胡索酸酶; Fum: 延胡索酸; GDP: 鸟苷二磷酸; Glc: 葡萄糖; GTP: 鸟苷三磷酸; IDH: 异柠檬酸脱氢酶; Iso: 异柠檬酸; KGDHC:  $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶复合物; Mal: 苹果酸; MDH: 苹果酸脱氢酶; NADH: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; OAA: 草酰乙酸; PDH: 丙酮酸脱氢酶; Pi: 磷酸盐; Pyr: 丙酮酸; SCS: 琥珀酰辅酶 A 合成酶; SDH: 琥珀酸脱氢酶; SUC: 琥珀酸; SucCoA: 琥珀酰辅酶 A

Figure 1 Chemical reaction steps of the tricarboxylic acid cycle. The chemical reactions of the tricarboxylic acid cycle include condensation, dehydration, hydration, oxidative decarboxylation, substrate-level phosphorylation, and dehydrogenation. The release of  $\text{CO}_2$  occurs during the decarboxylation of pyruvate (before entering TCA cycle), isocitrate, and  $\alpha$ -ketoglutarate. Acetyl-CoA: Acetoacetyl coenzyme A; ACON: *cis*-aconitase; ADP: Adenosine diphosphate; AKG:  $\alpha$ -ketoglutarate; ATP: Adenosine triphosphate; *cis*-acon: *cis*-aconitate; CIT: Citrate; CS: Citrate synthase;  $\text{FADH}_2$ : Flavine adenine dinucleotide, reduced; FH: Fumarase; Fum: Fumarate; GDP: Guanosine diphosphate; Glc: Glucose; GTP: Guanosine triphosphate; IDH: Isocitrate dehydrogenase; Iso: Isocitrate; KGDHC:  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase Complex; Mal: Malate; MDH: Malate dehydrogenase; NADH: Nicotinamide adenine dinucleotide; OAA: Oxaloacetate; PDH: Pyruvate dehydrogenase; Pi: Phosphate; Pyr: Pyruvate; SCS: Succinyl coenzyme A synthetase; SDH: Succinate dehydrogenase; SUC: Succinate; SucCoA: Succinyl-coenzyme A.

## 1.5 丙酮酸进入线粒体发生的脱羧反应

### 1.5.1 第一次脱羧

一分子葡萄糖在细胞质内经过糖酵解生成两分子丙酮酸。丙酮酸进入线粒体，在丙酮酸脱氢酶的作用下脱羧，释放一分子  $\text{CO}_2$  和一分子 NADH (图 1)；其产物乙酰辅酶 A 继续与草酰乙酸进行缩合反应，生成柠檬酸进入三羧酸循环。

### 1.5.2 第二次脱羧

在异柠檬酸脱氢酶的作用下，结合在异柠檬酸分子第 3 位碳原子上的(第 6 位)羧基发生氧化脱羧，释放一分子  $\text{CO}_2$  和一分子 NADH，其产物为  $\alpha$ -酮戊二酸。

### 1.5.3 第三次脱羧

在  $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶复合物的作用下，结合在  $\alpha$ -酮戊二酸分子第 2 位碳原子上的(第 1 位)羧基发生氧化脱羧，释放一分子  $\text{CO}_2$  和一分子 NADH。

## 1.6 三羧酸循环各反应物中的羧甲基

### 1.6.1 分析条件的设定

如图 1 所示，当乙酰辅酶 A 与草酰乙酸发生反应时，乙酰基转移到碳原子  $\text{C}^*$  上，缩合形成柠檬酸分子上的羧甲基( $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ )。为了方便分析三羧酸循环，我们对反应物进行简化，即只保留反应物分子中的羧甲基，采用 R1、R2、R3、R4、R5、R6 分别代表柠檬酸、顺乌头酸、异柠檬酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、琥珀酰辅酶 A、琥珀酸分子中的剩余基团(图 2)。

### 1.6.2 缩合形成的羧甲基在第一轮循环中未参与脱羧反应

从柠檬酸开始，经过第一轮循环回到草酰乙酸，反应物分子中羧甲基的羧基一直都存在，其羧基未发生脱羧。到了第二轮循环，该羧基发生位移，成为异柠檬酸分子内 6-羧基，才发生了脱羧。

## 1.7 深入分析三羧酸循环中的脱羧反应

### 1.7.1 采用 R 代表羧甲基解析三羧酸循环的反应过程

既然缩合反应形成的羧甲基未参与三羧酸循环中的第一轮脱羧反应，因此，本文对三羧酸循环各反应物中的剩余基团(R1, R2, R3, R4, R5, R6)的结构进行表征。

### 1.7.2 解析反应物分子中的化学结构

为了便于学生学习和掌握各反应物的化学结构式，我们采用 R 代表羧甲基，对三羧酸循环进行分析(图 3)。除含有羧甲基 R 外，三羧酸循环的反应物柠檬酸、顺乌头酸、异柠檬酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、琥珀酰辅酶 A、琥珀酸分别包含了 2-苹果酸、延胡索酸、3-苹果酸、丙酮酸、乙酰辅酶 A、乙酸的化学结构。例如柠檬酸的结构可以写成 R-2-苹果酸。这样就可能避免学生一个碳、一个氧、一个氢原子、一个羧基的死记硬背反应物的结构式。在降低学习三羧酸循环的难度的同时，也有利于学生理解各反应的过程和机制。

## 1.8 课程小结

通过乙酰辅酶 A 与草酰乙酸缩合形成的柠檬酸分子内羧甲基，在第一轮循环中未发生脱羧。

如图 4 所示，在糖酵解的反应过程中，一分子 6 碳( $\text{C}_6$ )葡萄糖的碳链发生等分裂解产生 2 分子( $\text{C}_3$ )丙酮酸<sup>[21]</sup>。丙酮酸进入线粒体后脱羧释放一分子  $\text{CO}_2$ 。在三羧酸循环中，异柠檬酸脱羧生成  $\alpha$ -酮戊二酸； $\alpha$ -酮戊二酸脱羧生成琥珀酰辅酶 A，合计产生了 6 分子  $\text{CO}_2$  和 6 分子 NADH。

除羧甲基外，沿着三羧酸循环的顺序，各反应物分别包含了苹果酸、延胡索酸、苹果酸、丙酮酸、乙酰辅酶 A、乙酸的化学结构，因此，只要能够掌握这些被包含的分子式，再加上羧

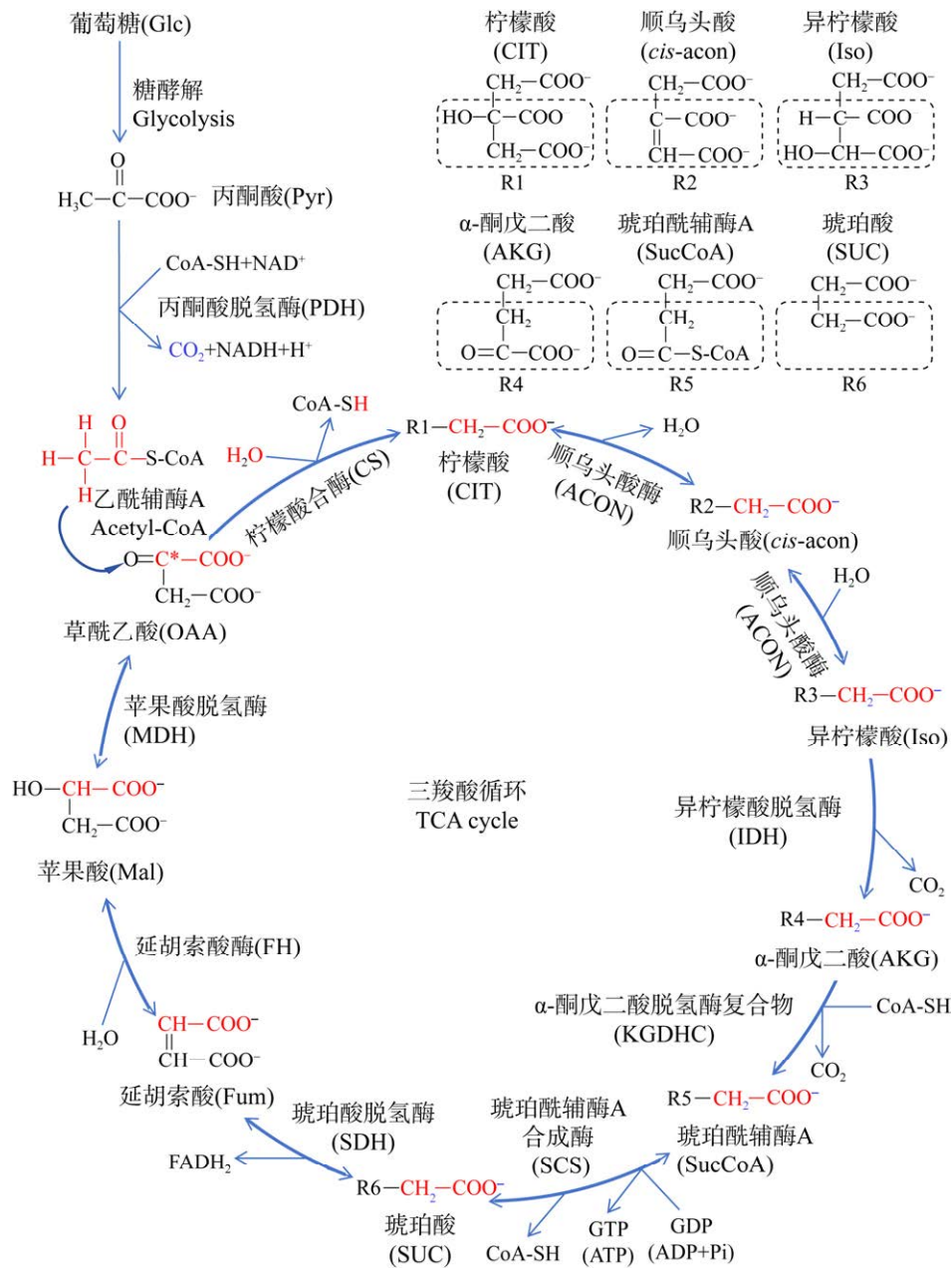


图 2 乙酰辅酶 A 与草酰乙酸缩合形成柠檬酸分子中的羧甲基 乙酰辅酶 A 在与草酰乙酸缩合过程中，其乙酰基(红色)转变为柠檬酸分子内的 2-羧甲基(红色)。羧甲基在第一轮循环时未参与脱羧反应。R1、R2、R3、R4、R5、R6 分别表示除羧甲基外，柠檬酸、顺乌头酸、异柠檬酸、α-酮戊二酸、琥珀酰辅酶 A、琥珀酸分子中的其他基团(虚线方框)。英文缩写见图 1

Figure 2 Acetyl-CoA condenses with oxaloacetic acid to form the carboxymethyl group in citric acid. During the condensation process of acetyl-CoA with oxaloacetic acid, its acetyl group (in red) transforms into the carboxymethyl group (in red) within citric acid. The carboxymethyl group does not participate in the decarboxylation during the first round. R1, R2, R3, R4, R5, and R6 represent the rest groups in citric acid, aconitic acid, isocitric acid, α-ketoglutaric acid, succinyl-CoA, and succinic acid molecules (shown in dashed boxes), excluding the carboxymethyl group. The abbreviations were as for Figure 1.



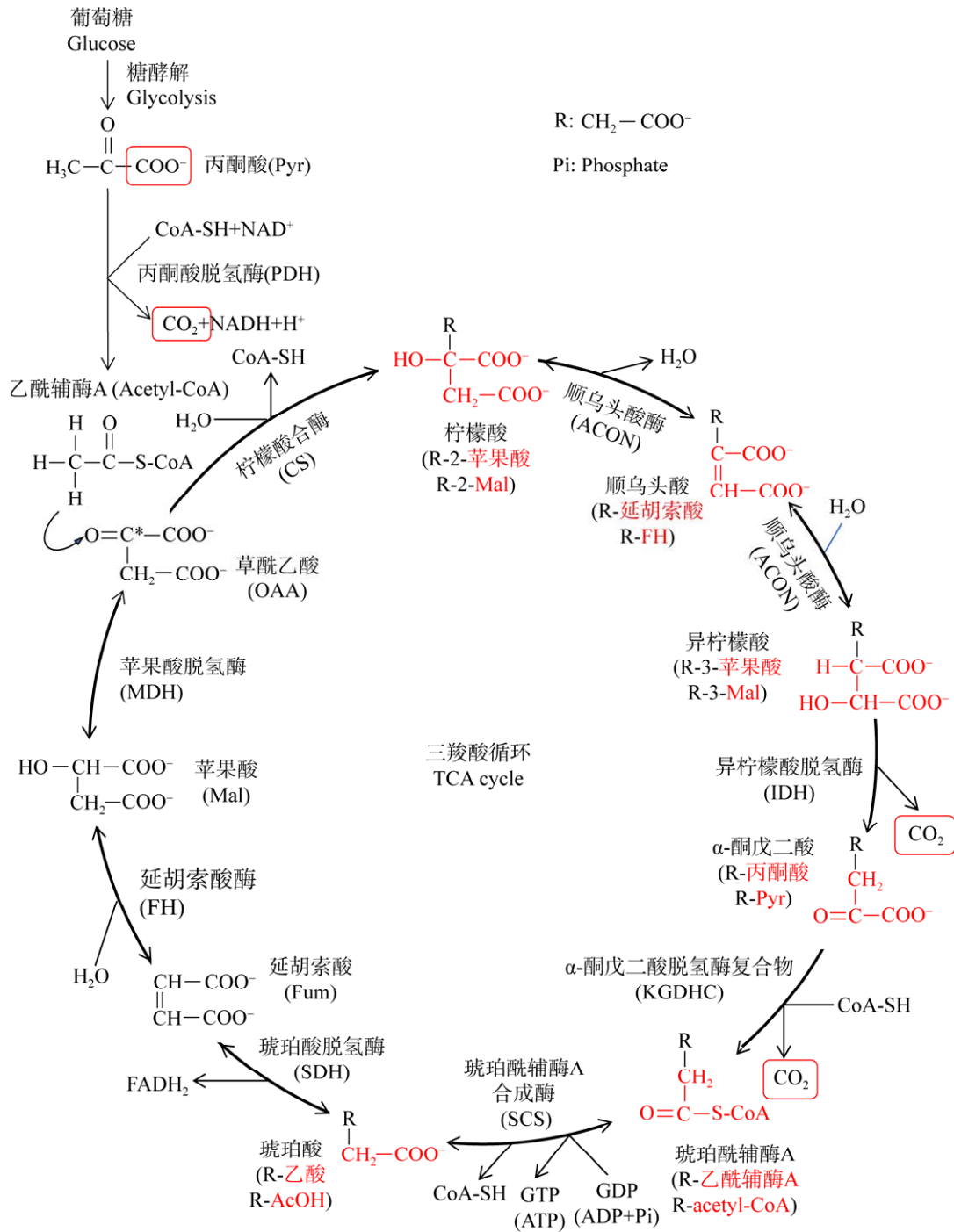


图3 三羧酸循环反应物化学结构的分析 采用R代表羧甲基( $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ ),可以清楚地看到各反应物除R基团外所包含的结构(红色),比如柠檬酸含有苹果酸的化学结构等.图中的缩写见图1

Figure 3 Analysis of the chemical structures of metabolites in the tricarboxylic acid cycle. When R is used to represent the carboxymethyl group ( $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ ), the structures contained in each reactant apart from the R group (highlighted in red) can be clearly seen, such as the chemical structure of malate in citrate. The abbreviations were as for Figure 1.

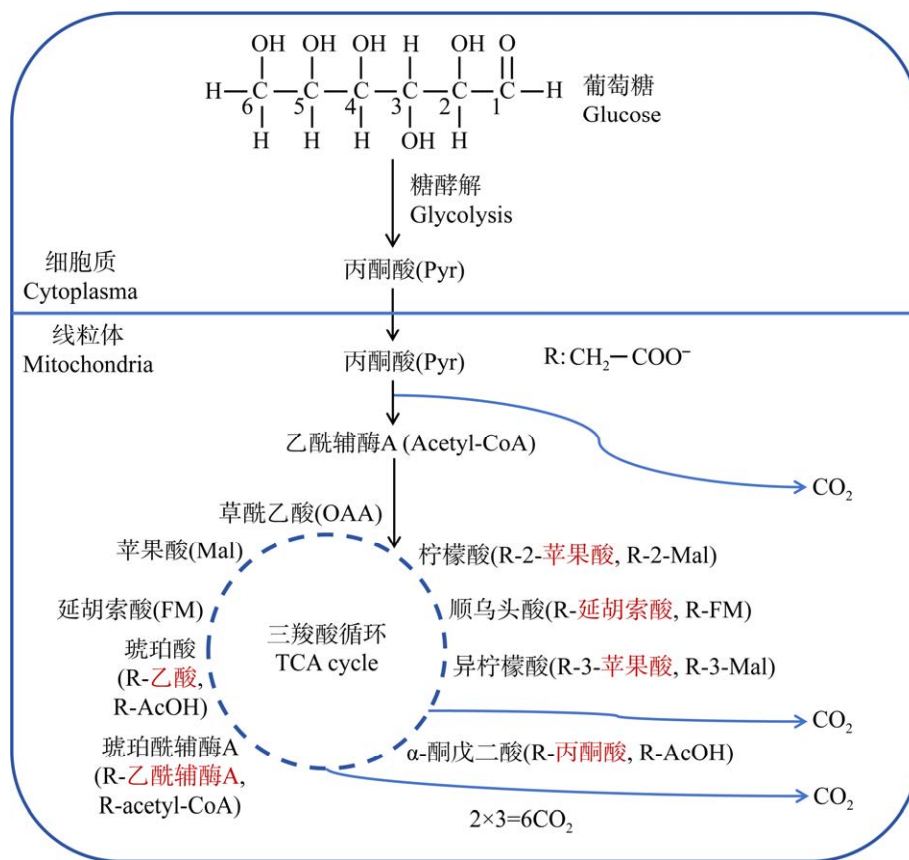


图 4 丙酮酸进入线粒体参与三羧酸循环过程中的脱羧反应 括号内 R 代表反应物分子内的羧甲基。英文缩写见图 1

Figure 4 The decarboxylation reactions in TCA cycle started from the anticipation of pyruvate in mitochondria. R represents the carboxymethyl group of substrates in the cycle. The abbreviations were as for Figure 1.

甲基，就能推导出三羧酸循环的全部反应物的化学结构。

## 2 三羧酸循环“脱羧解析”教学法学习效果评价

### 2.1 问卷设计

本研究采用问卷调查评估“脱羧解析法”教授三羧酸循环前后的学习效果，依据理解、记忆、学习效果，采用计分量表(1-5分)，打分越高评价越高<sup>[22]</sup>。问卷分教学前、后两部分。教学前问卷含3个“是/否”题确认学生基础，加2个计分题评估“脱羧解析法”教学前，常规“顺序

法”学习下的理解与记忆。教学后问卷首先询问学生了解“脱羧解析法”的程度，再设2道计分题评估其理解与记忆，最后3道计分题评价学习效果、记忆难度及应试能力。

### 2.2 调研方式

本研究招募参加课堂授课的学生进行问卷调查，被试包括中国科学院大学生命科学学院与中国科学院心理研究所2023级研究生、生命科学学院2023级本科生。课堂现场发放问卷，学生答完问卷一后对其进行“脱羧解析法”教学，再答问卷二，答完当堂回收问卷。排除未完整填写问卷及问卷一回答未学过三羧酸循环者。



## 2.3 统计和分析方法

采用问卷表面直观判断和计算选项分值两种方式相结合对每份纸质问卷进行检阅。(1)对问卷中各问题答案选项所占总数的百分比进行计算并作图。(2)对各计分题答案选项 1)至 5)分别赋分值为 1 至 5, 缺失值用 NA 标示; 选项均值用平均值(mean)+标准差(SD)表示, 对于缺失值采用总体均值进行填充。两组之间得分比较采用非配对 *t* 检验。采用 EpiData 软件录入纸质问卷数据, R 语言进行统计分析并作图。

## 2.4 结果

### 2.4.1 本次问卷调查参与者的基本情况

本次调查共获得 115 份有效问卷, 综合参与者的基本情况(表 1)显示: 参与者包括本科生 19 人和研究生 96 人, 共 82 人(71%)学过“三羧酸循环”, 均未听说“脱羧解析法”。因本科生人数偏少, 后续不再分组, 两组合并, 选用 82 份学过“三羧酸循环”的问卷进行“脱羧解析法”教学效果评价。

### 2.4.2 “脱羧解析法”教学前问卷结果

问卷一针对学过三羧酸循环的学生(共 82 名)进行了教学细节的调查。结果显示, 92.7%的学生表示老师是按步骤顺序讲授的, 82.8%的学生称考题涉及该内容, 但 78%的学生无法回忆具体

考题。在理解程度上(图 5A), 仅有 17.1% (15.9%认为“容易”和 1.2%认为“很容易”)的学生认为学习使理解变得容易, 52.4%的学生认为学习效果一般, 而 30.5% (26.8%认为“困难”和 3.7%认为“非常困难”)的学生觉得理解困难。在记忆情况方面(图 5B), 仅有 23.2% (包括 18.3%认为“容易”和 4.9%认为“很容易”)的学生能轻松回忆出反应式, 近半学生(包括 25.6%认为“困难”和 23.2%认为“非常困难”)觉得记忆困难。

### 2.4.3 “脱羧解析法”教学后问卷结果

问卷一显示, 传统“顺序法”教授三羧酸循环后, 学生回忆中相当一部分仍存在理解(30.5%)和记忆(48.8%)困难问题。“脱羧解析法”教学后问卷二第 2、3 题调查结果显示, 存在理解(3.6%, 即 2.4%+1.2%)和记忆(7.3%, 即 6.1%+1.2%)困难的学生比例都大大下降, 83%的学生认为“脱羧解析法”使理解三羧酸循环变容易(67.1%易, 15.9%很容易) (图 5C), 提升 65.9%。75.6%的学生认为“脱羧解析法”使记忆反应式变容易(61.0%容易, 14.6%很容易) (图 5D)。

对三羧酸循环理解和记忆容易程度各选项得分的统计分析显示, 学生学习“脱羧解析法”前的平均分分别是 2.84±0.78、2.56±1.18, 学习后分别为 3.98±0.63、3.84±0.79, 较之前均提升显著(图 5E、5F)。

表 1 问卷参与者的基本情况

Table 1 Basic information of questionnaire participants

问题及答案选项 Question and option	总人数 Total number	本科生 Undergraduate	研究生 Graduate
1.1 是否在“生物化学”课程中学过“三羧酸循环” 1.1 Have you learned TCA in Biochemistry?			
是 Yes	82	16 (84%)	66 (68%)
否 No	33	3 (16%)	30 (32%)
2.1 是否听过“通过脱羧线索解析三羧酸循环”的教学方法 2.1 Have you learned the method of “understanding TCA from decarboxylation reactions”?			
是 Yes	3	0	3 (3%)
否 No	112	19 (100%)	93 (97%)

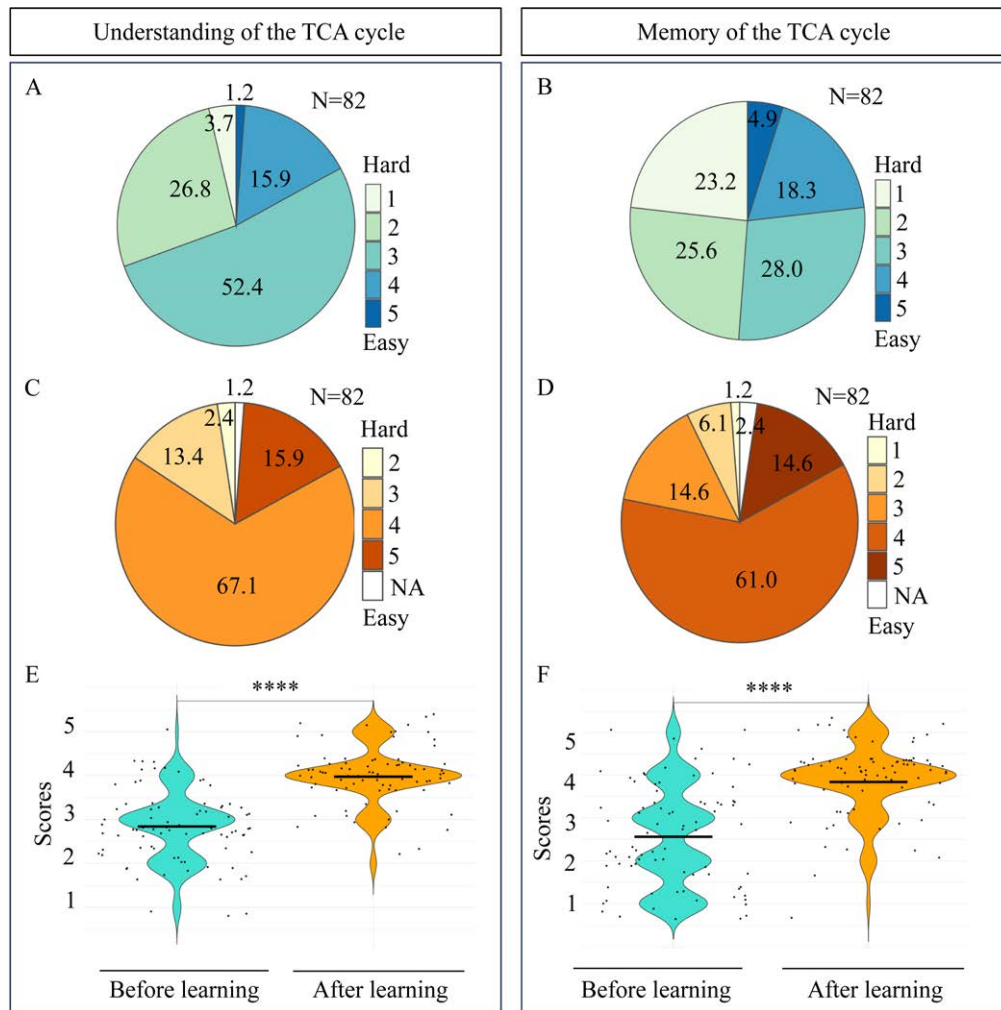


图5 接受“脱羧解析法”教学的学生在学习前后对三羧酸循环的理解和记忆 A–B: 学生分别在问卷一第5、6题中各选项选择所占比例. C–D: 学生分别在问卷二在第2、3题中各选项选择所占比例. E–F: 学生在学习前后对三羧酸循环的理解和记忆各选项得分的统计学分析. 两组之间比较使用非配对  $t$  检验. \*\*\*\*:  $P < 0.0001$

Figure 5 The understanding and memory of TCA cycle among students before and after receiving “decarboxylation analysis” instruction. A–B: The proportion of options selected by students for questions 5 and 6 of Questionnaire 1. C–D: The proportion of options selected by all students (total) in questions 2 and 3 of Questionnaire 2. E–F: Statistical analysis of students’ scores for understanding and memory before and after teaching. Comparisons between the two groups were conducted using unpaired  $t$ -test. \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ .

问卷二的4–6题继续检测学生对“脱羧解析法”与过往记忆学习方法的评价。分析结果(图6)显示, 各题学生评价中认为教学后效果不佳(评分值为1或2)的只有1位学生(1.2%) (图6B)。认为没有效果(评分值为3)的学生不到20%。大

部分学生给出了正面评价(评分值为4或5), 认为“脱羧解析法”效果更好(87.8%)、学习后不容易忘(79.3%)、考试表现会更好(81.7%)。这表明“脱羧解析法”效果被多数学生认可, 其学习、记忆、考试心理预期优于记忆中的学习方法。

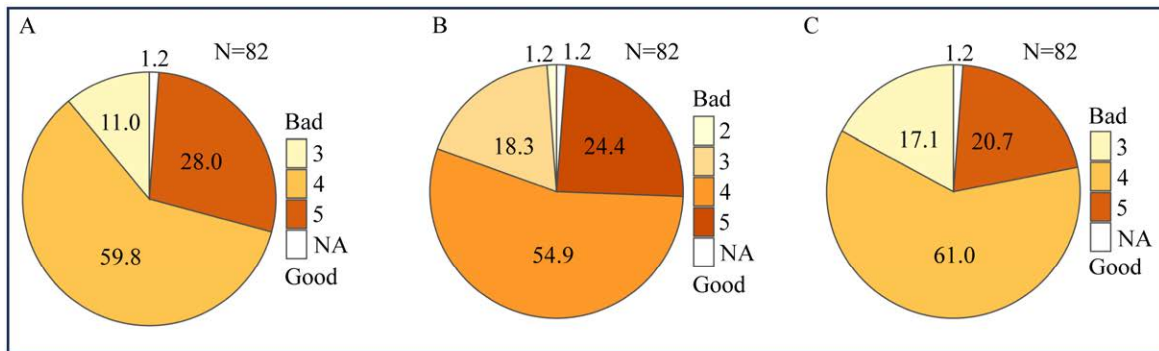


图6 “脱羧解析法”教学后的学习效果、记忆情况、考试预估情况分析 学过三羧酸循环的学生在问卷二第4(A)、5(B)、6(C)题中各选项所占比例

Figure 6 Outcomes analysis of learning retention, and exam predictions after teaching with “decarboxylation analysis”. The proportion of options selected by students who have studied the tricarboxylic acid cycle in questions 4 (A), 5 (B), and 6 (C) of Questionnaire 2.

### 3 讨论与结论

通过问卷调研显示,在三羧酸循环的教学中,相比以“顺序法”为主的教学方法,“脱羧解析法”教学能够让学生更容易理解和记忆三羧酸循环要点,包括各个生化反应步骤及相关机制。在教学过程中,启发学生不拘泥于教科书上的反应顺序主动思考,鼓励他们在学习善于创新,有助于激发学生学习的主动性、获得更好的学习成效。

三羧酸循环是学生接触到的动态生物化学领域的第一个物质代谢耦合能量代谢的复杂学习内容<sup>[20]</sup>。本文从生物化学逻辑出发,解析了三羧酸循环之前的丙酮酸脱羧,以及三羧酸循环过程中的2次脱羧反应,将羧甲基命名为R基团,凸显各反应物基团在循环中的变化和相关性。由此简化了三羧酸循环的复杂性,利于学生学习、理解、记忆,提高学生对学习的兴趣以及进一步理解和掌握细胞的物质代谢和能量代谢规律。同时通过TCA不同基团反应解析,培养学生逻辑推理、创新学习方法能力,实现知识向学习和工作能力的转换。

需要说明的是,对新教学方法效果的严格评估需要一个长期的过程,本研究为3次教学效果调研的结果,但样本量相对较小。另外,限于常规教学的实际情况往往难以对学生进行严格分组教学实验。未来还需在更大范围、更大样本、更严格教学效果检测的基础上反复验证“脱羧解析法”教学效果的可重复性、可靠性、科学性,并进一步优化方案,使其在三羧酸循环教学中起到更有效的作用。限于篇幅,本文未讨论能量代谢的关键点,如NADH、GTP、FAD的生成等重要环节,包括电子传递链的内容。关于这些内容,我们在实际教学中将和学生一起进行学习和讨论。同时,本文未讨论各个反应步骤中的酶学机制、限速步骤等重要知识点,该部分内容我们会在实际教学中进行详细阐释。另外,本文未涉及存在于少数光合紫色细菌和绿硫细菌自养固定CO<sub>2</sub>的还原型三羧酸循环途径<sup>[23]</sup>。本文将脱羧作为主线分析三羧酸循环,目的是让更多本科生和研究生能容易理解和掌握“三羧酸循环”的每一步化学反应,包括反应机制,从而有助于学生进一步学习和应用所学的知识。

## REFERENCES

- [1] ENIAFE J, JIANG S. The functional roles of TCA cycle metabolites in cancer[J]. *Oncogene*, 2021, 40(19): 3351-3363.
- [2] ARNOLD PK, FINLEY LWS. Regulation and function of the mammalian tricarboxylic acid cycle[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2023, 299(2): 102838.
- [3] WU J, LIU N, CHEN J, TAO Q, LI Q, LI J, CHEN X, PENG C. The tricarboxylic acid cycle metabolites for cancer: friend or enemy[J]. *Research*, 2024, 7: 0351.
- [4] BRACHHOLD K. Advanced biosystems becomes advanced biology[J]. *Advanced Biology*, 2021, 5(1): e2000626.
- [5] KURHALUK N. Tricarboxylic acid cycle intermediates and individual ageing[J]. *Biomolecules*, 2024, 14(3): 260.
- [6] BUTTERFIELD DA, HALLIWELL B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2019, 20(3): 148-160.
- [7] SÁNCHEZ-GARCÍA FJ, PÉREZ-HERNÁNDEZ CA, RODRÍGUEZ-MURILLO M, MORENO-ALTAMIRANO MMB. The role of tricarboxylic acid cycle metabolites in viral infections[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 725043.
- [8] TAKAHASHI-IÑIGUEZ T, FLORES ME. mRNA levels of tricarboxylic acid cycle genes in *Streptomyces coelicolor* M145 cultured on glucose[J]. *Molecular Biology Reports*, 2023, 50(1): 719-730.
- [9] HUANG Z, WANG Q, KHAN IA, LI Y, WANG J, WANG J, LIU X, LIN F, LU J. The methylcitrate cycle and its crosstalk with the glyoxylate cycle and tricarboxylic acid cycle in pathogenic fungi[J]. *Molecules*, 2023, 17, 28(18): 6667.
- [10] SÁNCHEZ-QUINTERO MJ, RODRÍGUEZ-DÍAZ C, RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ FJ, FERNÁNDEZ-CASTAÑER A, GARCÍA-FUENTES E, LÓPEZ-GÓMEZ C. Role of mitochondria in inflammatory bowel diseases: a systematic review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(23): 17124.
- [11] YAN S, ZHU Y, LI L, QIN S, YUAN J, CHANG X, HU S. Alginate oligosaccharide ameliorates azithromycin-induced gut microbiota disorder via *Bacteroides acidifaciens*-FAHFAs and *Bacteroides*-TCA cycle axes[J]. *Food & Function*, 2023, 14(1): 427-444.
- [12] BHAT N, MANI A. Dysregulation of lipid and glucose metabolism in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Nutrients*, 2023, 15(10): 2323.
- [13] HANSEN GE, GIBSON GE. The alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex as a hub of plasticity in neurodegeneration and regeneration[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(20): 12403.
- [14] PELED D, CASEY R, GOTTLIEB E. Knowledge-based therapeutics for tricarboxylic acid (TCA) cycle-deficient cancers[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2024, 14(9): a041536.
- [15] 张金萍, 王栋清, 王默, 王欣悦, 牟小琴, 郑锡, 程创, 贺靓, 邹黎黎, 刘晓雯. 肿瘤治疗: 靶向物质代谢重编程诱导铁死亡[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2024, 51(7): 1540-1550.
- ZHANG JP, WANG YQ, WANG M, WANG XY, MOU XQ, ZHENG X, CHENG C, HE L, ZOU LL, LIU XW. Tumor therapy: targeted substances metabolism reprogramming induces tumor ferroptosis[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2024, 51(7): 1540-1550 (in Chinese).
- [16] JIANG Q, SHERLOCK DN, ELOLIMY AA, YOON I, LOOR JJ. Feeding a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product during a gut barrier challenge in lactating Holstein cows impacts the ruminal microbiota and metabolome[J]. *Journal of Dairy Science*, 2024, 107(7): 4476-4494.
- [17] 黄凯玲, 杨新成, 李良鸣, 杨文琦. 鸢尾素改善肝脏脂质代谢紊乱减轻非酒精性脂肪性肝病的研究现状[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2024, 51(8): 1873-1882.
- HUANG KL, YANG XC, LI LM, YANG WQ. Research status of irisin in improving hepatic lipid metabolism disorder and reducing NAFLD[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2024, 51(8): 1873-1882 (in Chinese).
- [18] CHADWICK BJ, LIN X. Effects of CO<sub>2</sub> in fungi[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2024, 79: 102488.
- [19] LIAN WS, WU RW, LIN YH, CHEN YS, JAHR H, WANG FS. Tricarboxylic acid cycle regulation of metabolic program, redox system, and epigenetic remodeling for bone health and disease[J]. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2024, 13(4): 470.
- [20] WANG LL. Teaching design of "tricarboxylic acid cycle" in biochemistry[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2021, 23(7): 226-227.
- [21] 朱笠, 赫荣乔. "己糖碳链等分"教学法在糖酵解教学中的应用[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2024, 51(10): 2773-2782.
- ZHU L, HE RQ. Application of hexose equal division in the teaching of glycolysis[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2024, 51(10): 2773-2782 (in Chinese).
- [22] 陈巧云. 高校教学系统学生评价问卷编制及信效度检验[J]. *高等理科教育*, 2018, 5: 80-86.
- CHEN QY. The establishment of student evaluation questionnaire in university teaching system and the test of reliability and validity[J]. *Higher Education of Sciences*, 2018(5): 80-86 (in Chinese).
- [23] 刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 邓晔. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1676-1689.
- LIU YY, WANG S, LI SZ, DENG Y. Advances in molecular ecology on microbial functional genes of carbon cycle[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1676-1689 (in Chinese).