

**AL-Manara University**  
**Faculty of Pharmacy**



# **Krebs cycle** حلقة كريس

**Lecture 7 +8**

**Dr.Rama IBRAHIM**

PhD Paris-11 university

2023-2024

# Introduction

## تعريف حلقة كريبس Krebs cycle:

✓ حلقة حمض الليمون Citric acid cycle, أو حلقة الحمض ثلاثي الكربوكسيل Tri-Carboxylic Acid cycle: سلسلة من 8 تفاعلات أنزيمية تتم في الميتوكوندريا, تهدف إلى استكمال أكسدة الجلوكوز هوائياً (أي بوجود الأوكسجين) من أجل الحصول على طاقة إضافية.

✓ تتعرض البيروفات الناتجة عن تحلل الجلوكوز بعد نقلها إلى الميتوكوندريا لعملية نزع كربوكسيل تأكسدي بواسطة معقد أنزيمي يدعى البيروفات ديهيدوجيناز متحوّلة إلى **أسيتيل-كوأ** مع انطلاق CO<sub>2</sub>.

✓ يتم في حلقة كريبس أكسدة زمرة الأسيتيل في الأسيتيل-كوأ إلى جزيئي CO<sub>2</sub>, مع إرجاع التمايم الأنزيمية **NAD<sup>+</sup> (Nicotinamide adenine dinucleotide)** و **Q (Ubiquinone)** إلى **NADH و QH<sub>2</sub>** (Ubiquinol) على التوالي.

✓ تسمح إعادة أكسدة التمايم الأنزيمية بشكلها المرجع (NADH و QH<sub>2</sub>) ضمن مايسمى بالسلسلة التنفسية (أو سلسلة نقل الالكترونات) في الميتوكوندريا بتوليد طاقة على شكل ATP.

## أهمية حلقة كريبس:

تعتبر نقطة تقاطع لكل من عمليات الهدم والبناء للمركبات الكيميائية الحيوية، حيث أنها:

- (a) تعتبر السبيل النهائي المشترك للأكسدة الهوائية لكل من السكريات, الليبيدات والبروتينات.
- (b) تلعب دوراً محورياً في عملية اصطناع الجلوكوز, اصطناع الشحوم وعمليات التحول بين الحموض الامينية.

العيوب الجينية في أنزيمات حلقة كريبس غالباً ماتؤدي إلى الوفاة, أو تسبب على الأقل خلل بالنمو الطبيعي للجسم.

# 1. تحويل البيروفات إلى أسيتيل-كوا pyruvate to acetyl-CoA

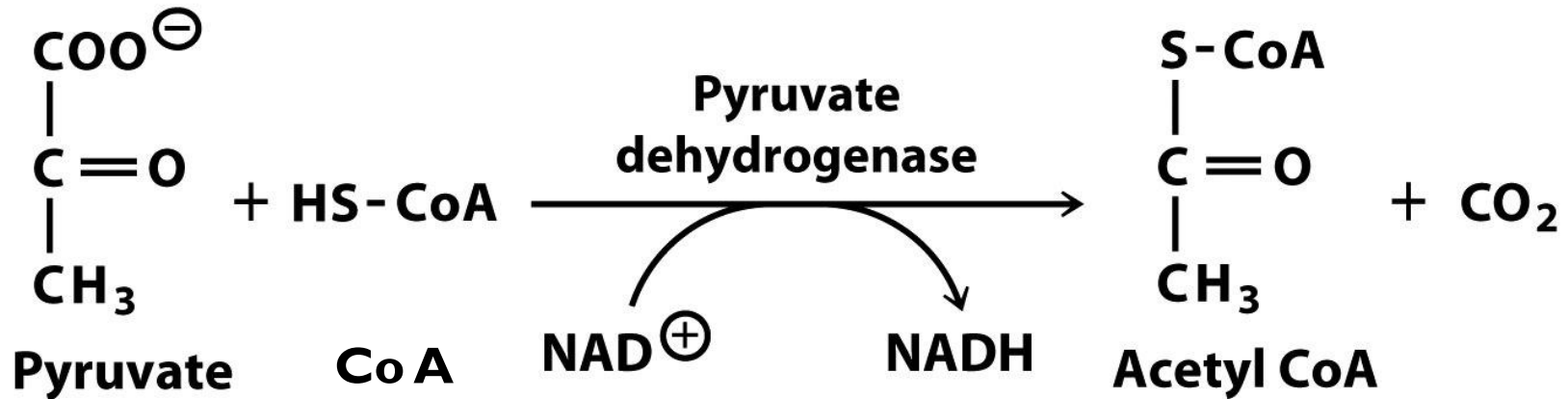
❖ تتم هذه العملية بواسطة معقد البيروفات ديهيدروجيناز pyruvate

dehydrogenase complex الموجود في الميتوكوندريا.

❖ تعتبر تفاعلات أكسدة-إرجاع: يقوم معقد البيروفات ديهيدروجيناز بعملية نزع

كربوكسيل تأكسدي من البيروفات, مع نقل زمرة الأسيتل من البيروفات إلى التميم

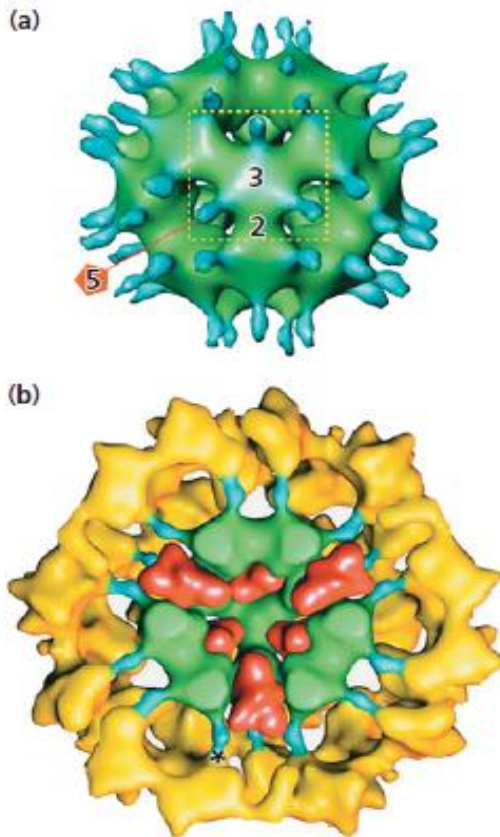
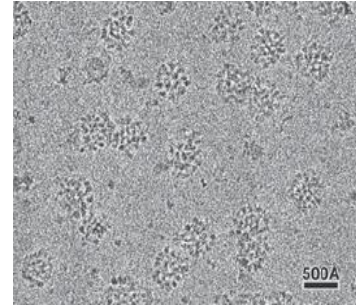
الأنزيمي HS-CoA, وإرجاع NAD<sup>+</sup> إلى NADH.



# Pyruvate dehydrogenase is a multienzyme complex.

Multiple copies of three distinct enzymatic activities:

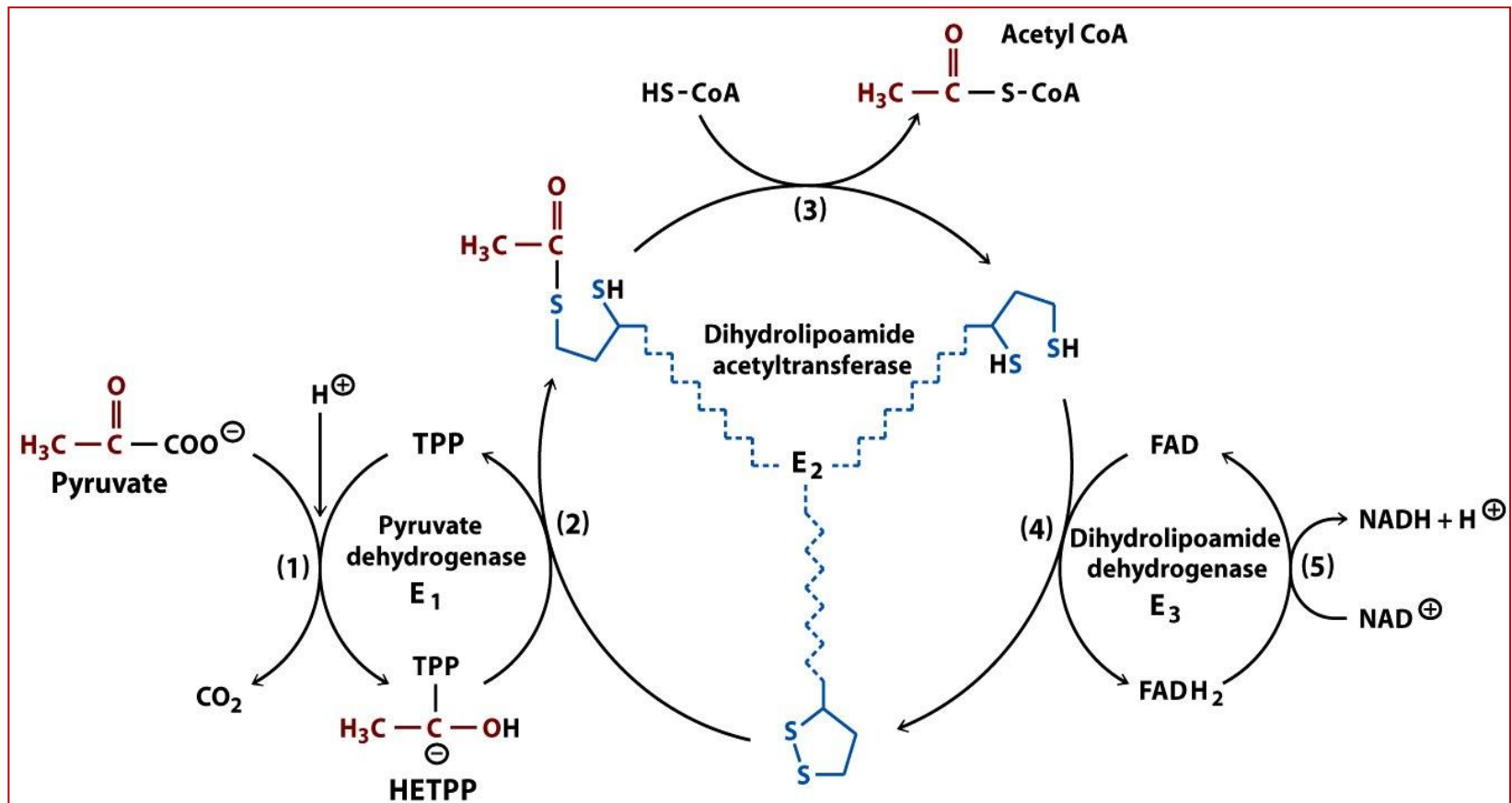
1. Pyruvate dehydrogenase (E1 subunits).
2. Dihydrolipoamide acetyltransferase (E2 subunits).
3. Dihydrolipoamide dehydrogenase (E3 subunits).



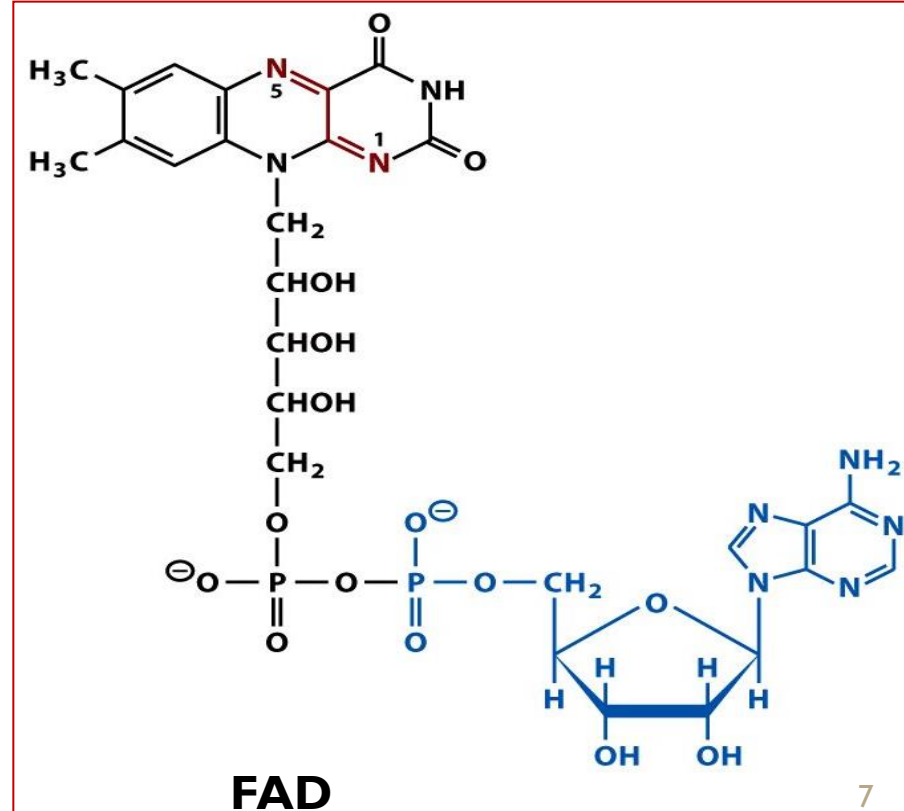
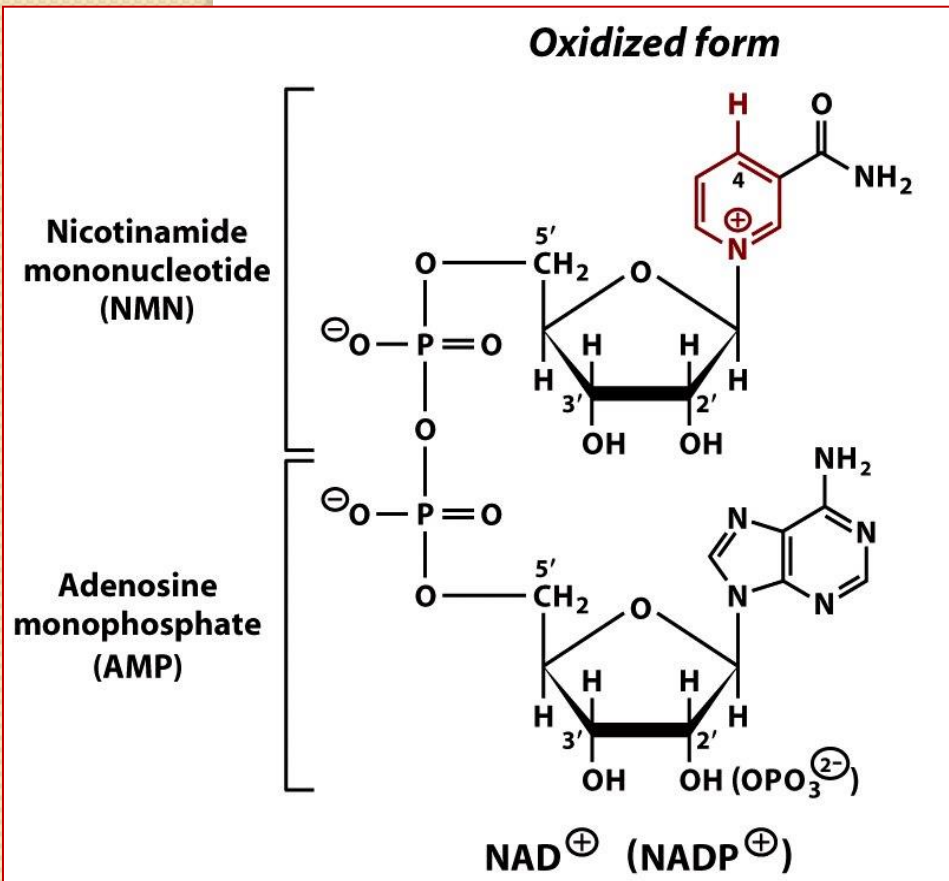
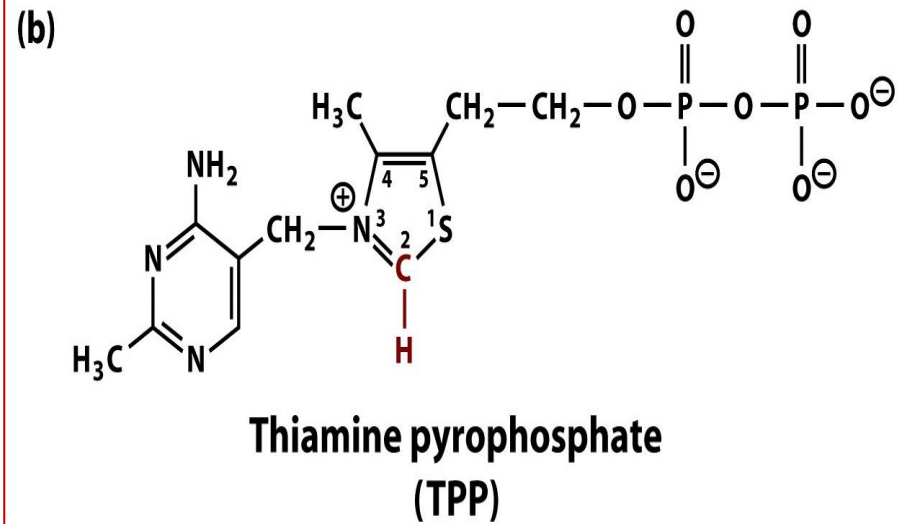
يعتبر PDHC من أضخم المعقدات  
الانزيمية في خلايا حقيقيات النوى

يتكون من 60 نسخة من تحت الوحدة  
E2 متوضعة في المركز (موضحة باللون  
الأخضر), و 60 نسخة من تحت الوحدة  
E1 تتجمع على شكل حلقة تحيط بتحت  
الوحدات E2 (موضحة باللون الأصفر),  
و 12 نسخة من تحت الوحدة E3 تتوضع  
على السطح (موضحة باللون الأحمر).

تتم عملية نزع الكربوكسيل التأكسدي من البيروفات وتحويلها إلى أسيتيل-كوأ عبر 5 مراحل, تتطلب استخدام خمس تمانم أنزيمية:



# Five coenzymes in pyruvate dehydrogenase complex



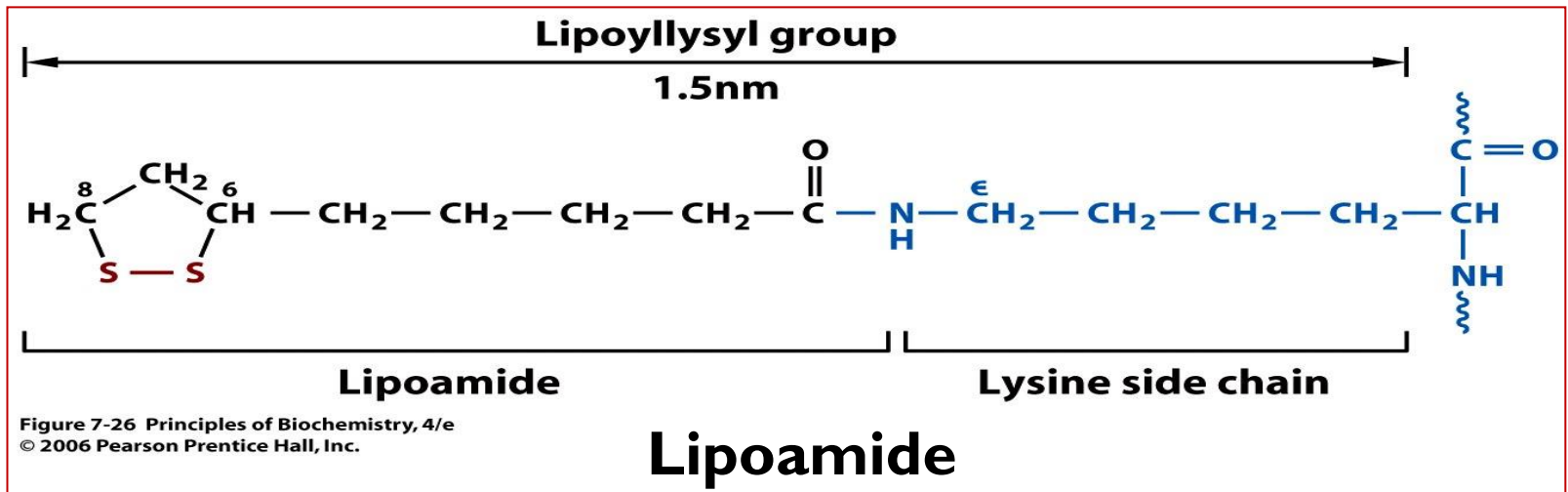
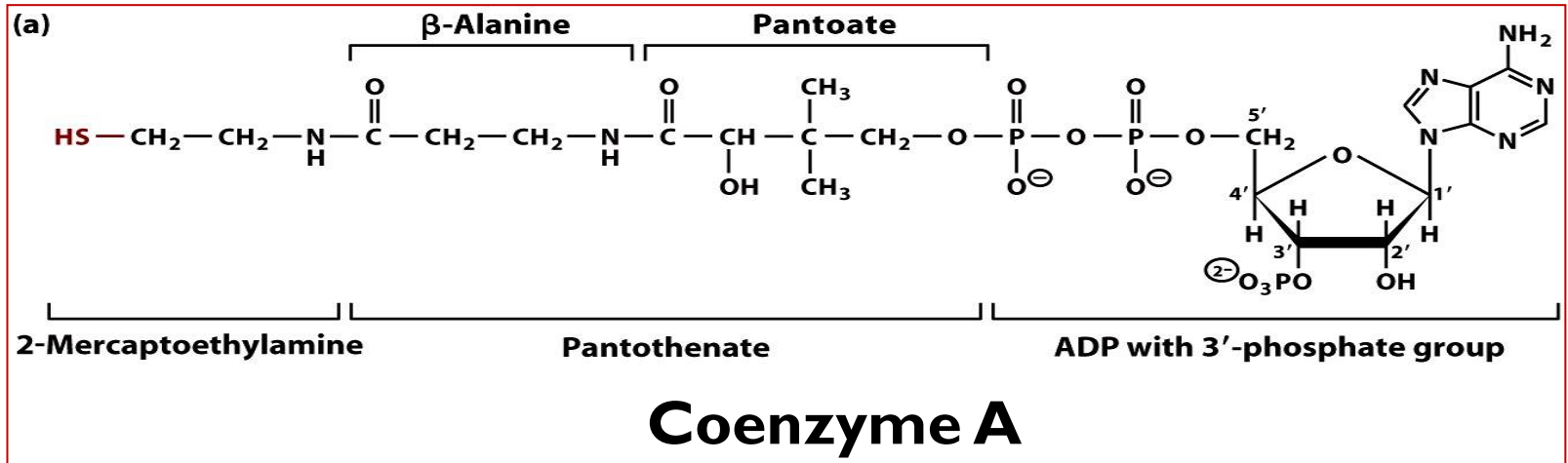


Figure 7-26 Principles of Biochemistry, 4/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

**Lipoamide prosthetic group acts as a swinging arm that visits the three active sites in the pyruvate dehydrogenase complex.**

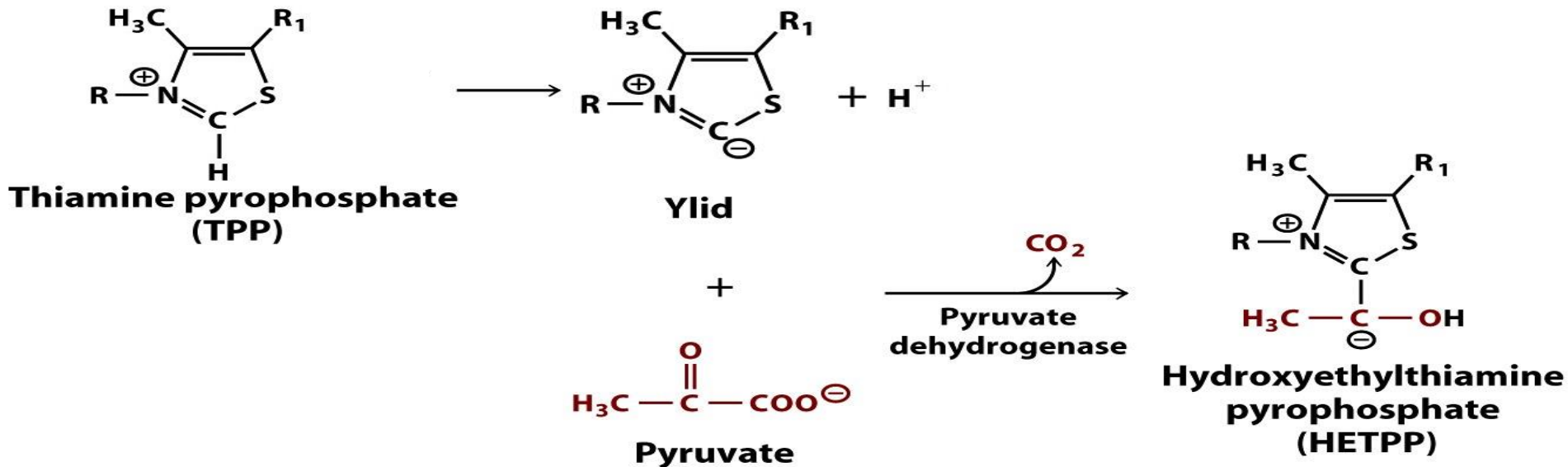


# Step I

## نزع كربوكسيل تأكسدي من البيروفات:

يتم هذا التفاعل بواسطة أنزيم البيروفات ديهيدروجيناز (تحت الوحدة E1) بوجود التميم الأنزيمي TPP.

Reaction results in formation of a hydroxyethyl-TPP (HETPP) intermediate and release of CO<sub>2</sub>

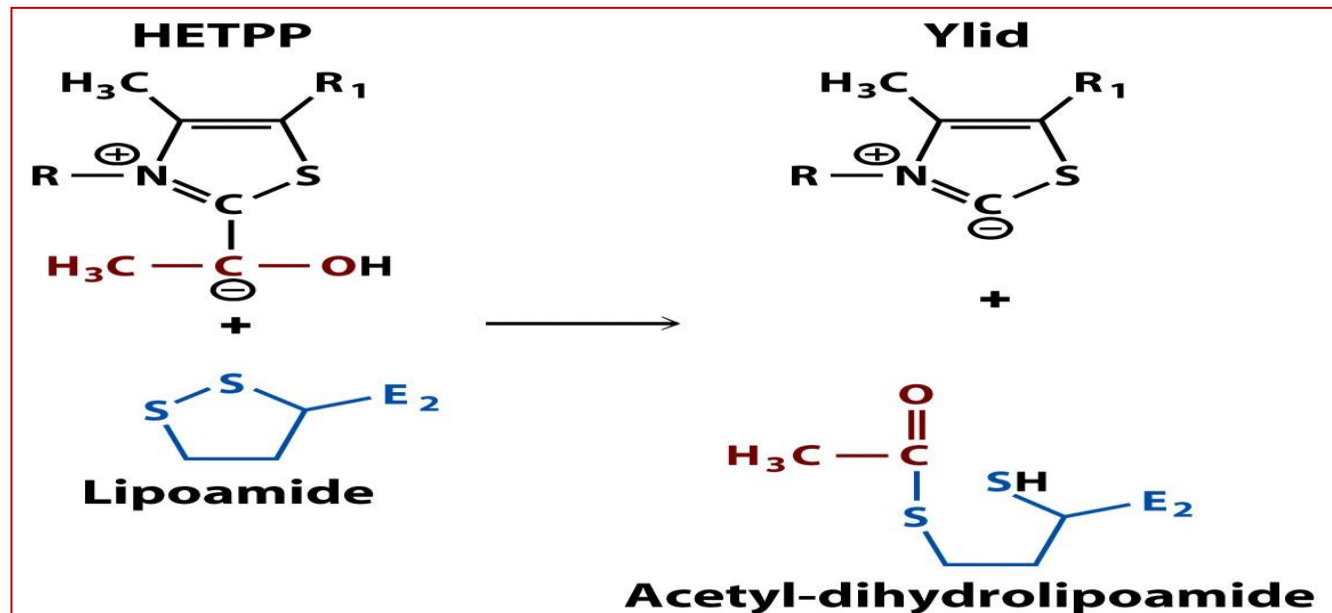


## Step 2

### نقل مجموعة الاسيتيل إلى الليبواميد:

يتم هذا التفاعل بواسطة أنزيم البيروفات ديهيدروجيناز أيضا (تحت الوحدة E1) وبوجود التميم الأنزيمي الليبواميد, حيث يتم أكسدة HETPP وإرجاع الليبواميد إلى داي هيدروليبواميد, مع نقل زمرة الأسيتيل من HETPP إلى أحد زمر الثيول الناتجة من إرجاع الليبواميد.

Lipoamide coenzyme is only found in pyruvate dehydrogenase complex and related enzymes.

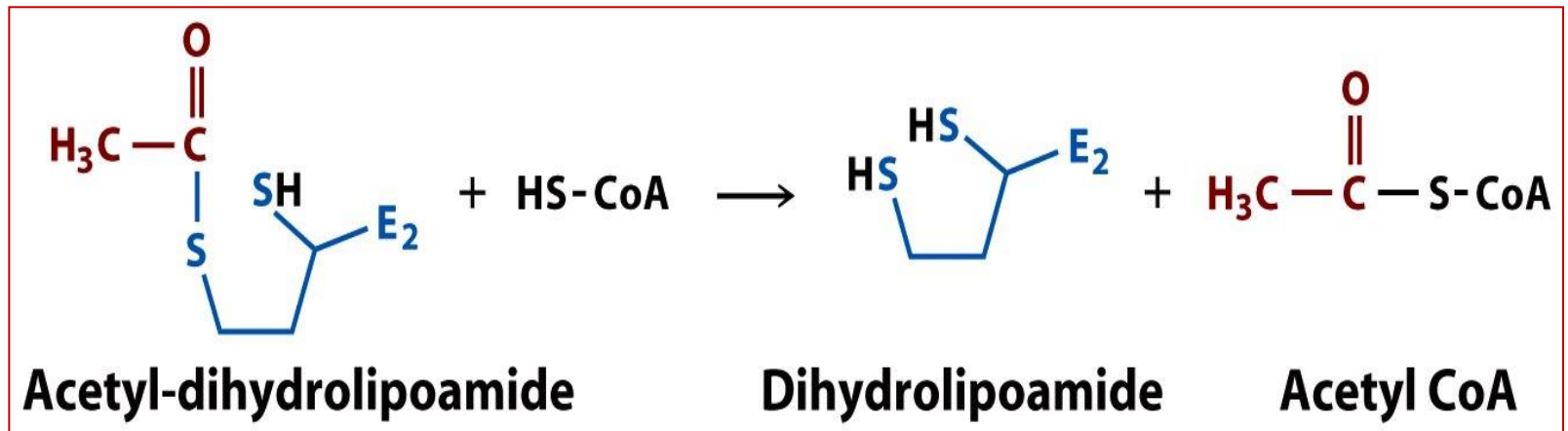


## Step 3

### نقل زمرة الاسيتيل إلى التميم الأنزيمي كوا Coenzyme A:

يتم هذا التفاعل بواسطة أنزيم داي هيدروالليبوأميد أسيتيل ترانسفيراز (تحت الوحدة E2) بوجود التميمين الأنزيمين الليبوأميد و Coenzyme A, حيث يتم نقل زمرة الأسيتيل إلى Coenzyme A ليتشكل الأسيتيل-كوا ويتحرر داي هيدروالليبوأميد من جديد.

**Reaction results in formation of acetyl CoA  
and release of dihydrolipoamide**

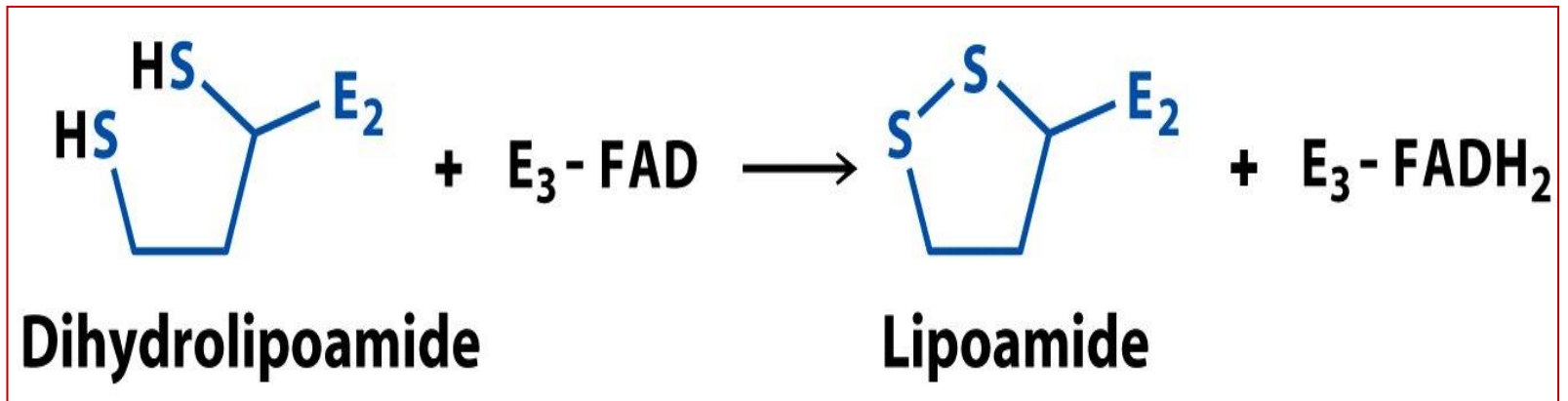


## Step 4

### إعادة أكسدة داي هيدرو الليبواميد المُرجَع:

يتم هذا التفاعل بواسطة أنزيم داي هيدرو الليبواميد ديهيدروجيناز (تحت الوحدة E3) بوجود التميم الأنزيمي FAD, ويهدف هذا التفاعل إلى إعادة أكسدة دايهيدرو الليبواميد الذي تم إرجاعه في المرحلة الثانية, حيث يتشكل في نهاية التفاعل الليبواميد بشكله المؤكسد وFADH2.

**Reaction results in formation of FADH2  
and lipamide**



## Step 5

### إعادة أكسدة E3-FADH<sub>2</sub>:

يتم في هذا التفاعل إعادة أكسدة التميمم الانزيمي FADH<sub>2</sub> إلى FAD بوجود التميمم الأنزيمي NAD<sup>+</sup> الذي سيتحول بدوره إلى NADH.

**Reaction results in reformation of E3-FAD, and regeneration of the original pyruvate dehydrogenase complex**



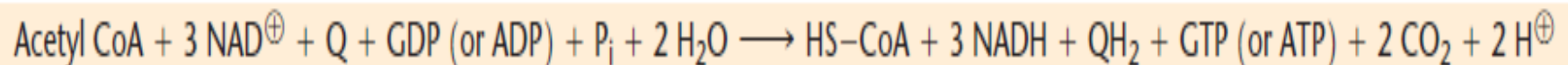
## 2. أكسدة الاسيتيل-كوأ ضمن حلقة كريبس :acetyl CoA in the Krebs cycle

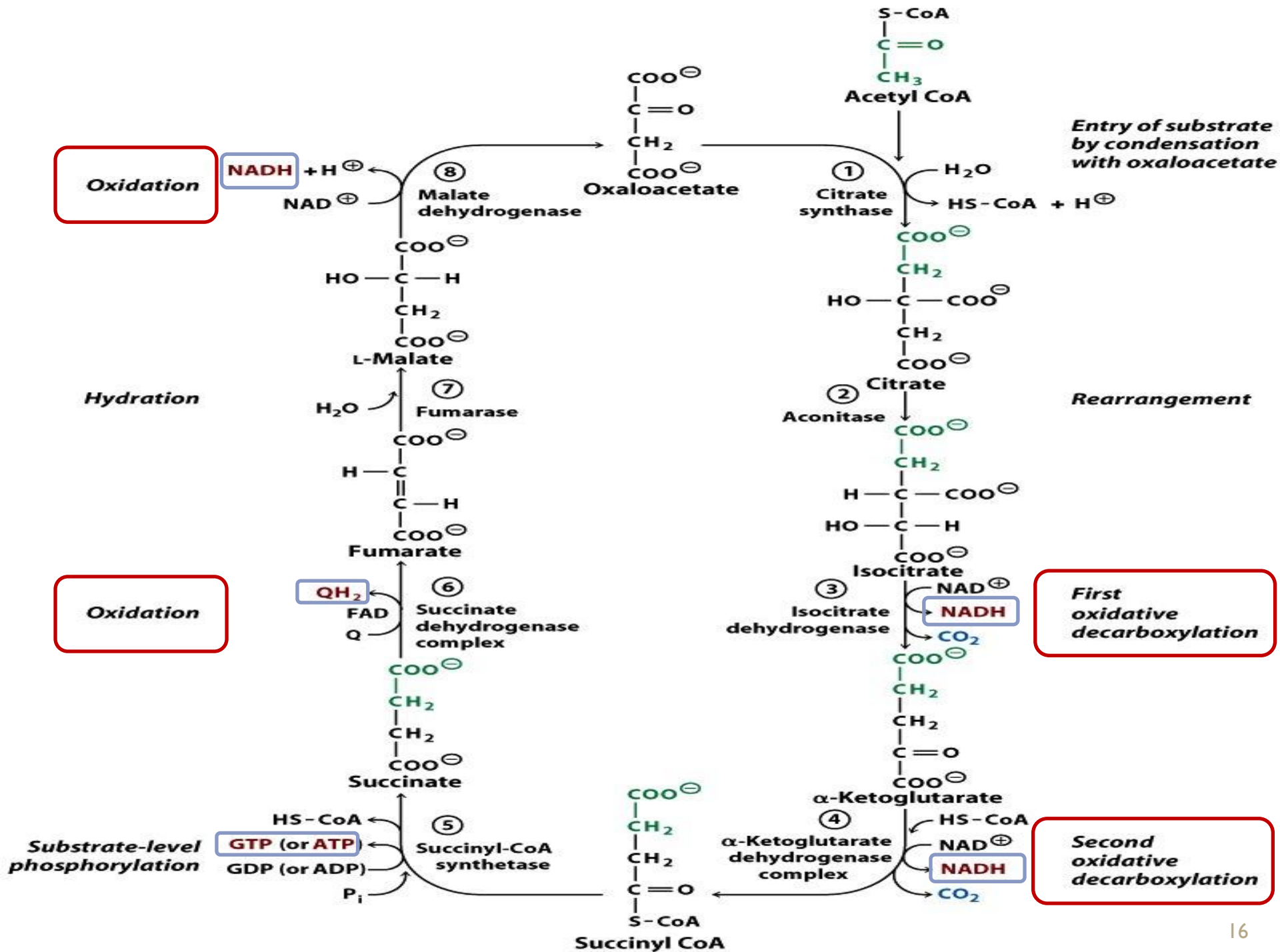
- ❖ يمكن للأسيتيل-كوأ المتشكل من البيروفات أو غيره من المركبات (مثل استقلاب الحموض الدسمة وبعض الحموض الامينية) أن يستقلب ضمن حلقة حمض الليمون بشكل كامل إلى جزيئي  $CO_2$ .
- ❖ تترافق أكسدة الأسيتيل-كوأ مع نقل الكترولونات إلى مجموعة من التمايم الأنزيمية, مؤدياً في النهاية إلى تشكل مكافئات مرجعة (3 جزيئات  $NADH$  و  $QH_2$ ) قادرة على توليد جزيئات  $ATP$  لدى دخولها في السلسلة التنفسية.
- ❖ تتواجد أنزيمات حلقة كريبس لدى حقيقيات النوى ضمن الميتوكوندريا.
- ❖ تختلف وظيفة حلقة كريبس بحسب نوع الخلايا التي تتم فيها. فمثلا في العضلات, يكون الهدف من حلقة كريبس بشكل أساسي استكمال هدم الغلوكوز من أجل الحصول على طاقة. بينما في أعضاء أخرى وخاصةً في الكبد, تستخدم المركبات الوسطية لحلقة كريبس كنقاط بدء لاصطناع العديد من المركبات الكيميائية الحيوية, ولذلك تصنف حلقة كريبس ضمن السبل المزدوجة **Amphibolic** التي تجتمع فيها سبل هدم مع سبل بناء.

# The eight reactions of the citric acid cycle:

Reaction	Enzyme
1. Acetyl CoA + Oxaloacetate + H <sub>2</sub> O → Citrate + HS-CoA + H <sup>⊕</sup>	Citrate synthase
2. Citrate ⇌ Isocitrate	Aconitase (Aconitate hydratase)
3. Isocitrate + NAD <sup>⊕</sup> → α-Ketoglutarate + NADH + CO <sub>2</sub>	Isocitrate dehydrogenase
4. α-Ketoglutarate + HS-CoA + NAD <sup>⊕</sup> → Succinyl CoA + NADH + CO <sub>2</sub>	α-Ketoglutarate dehydrogenase complex
5. Succinyl CoA + GDP (or ADP) + P <sub>i</sub> ⇌ Succinate + GTP(or ATP) + HS-CoA	Succinyl-CoA synthetase
6. Succinate + Q ⇌ Fumarate + QH <sub>2</sub>	Succinate dehydrogenase complex
7. Fumarate + H <sub>2</sub> O ⇌ L-Malate	Fumarase (Fumarate hydratase)
8. L-Malate + NAD <sup>⊕</sup> ⇌ Oxaloacetate + NADH + H <sup>⊕</sup>	Malate dehydrogenase

Net equation:

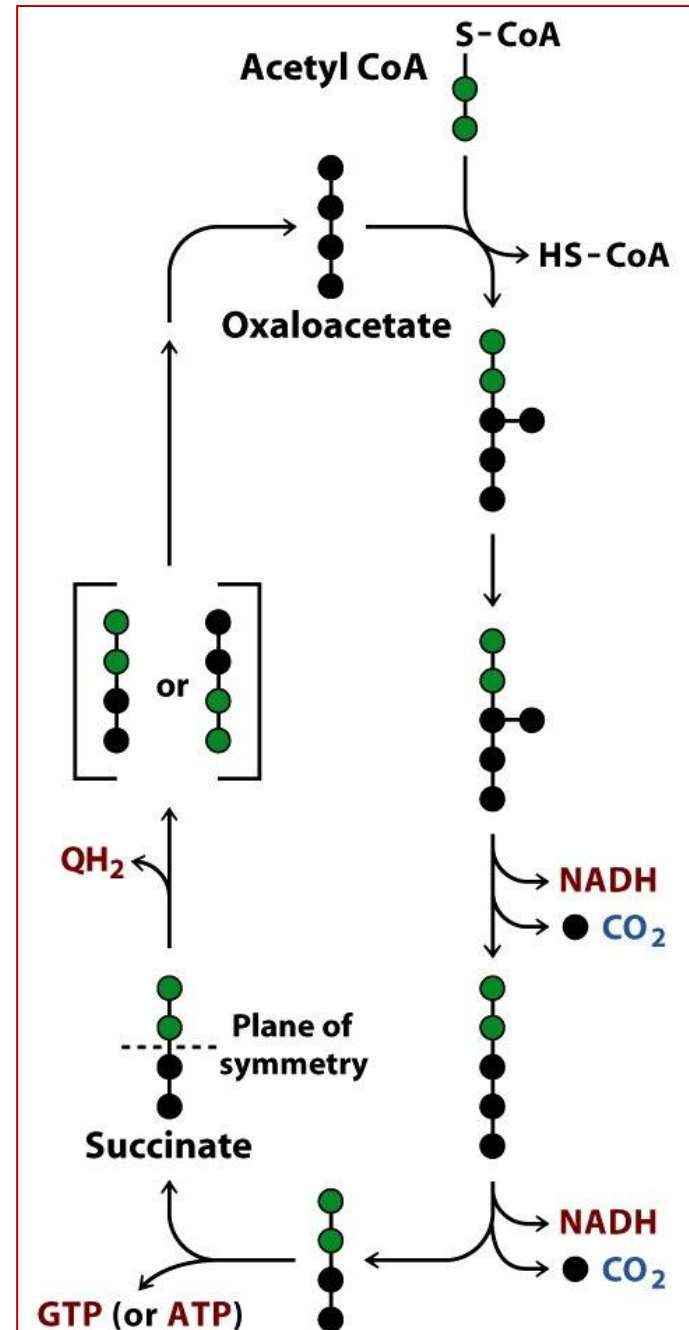






## Fates of the carbon atoms from oxaloacetate and acetyl CoA during one turn of the citric acid cycle

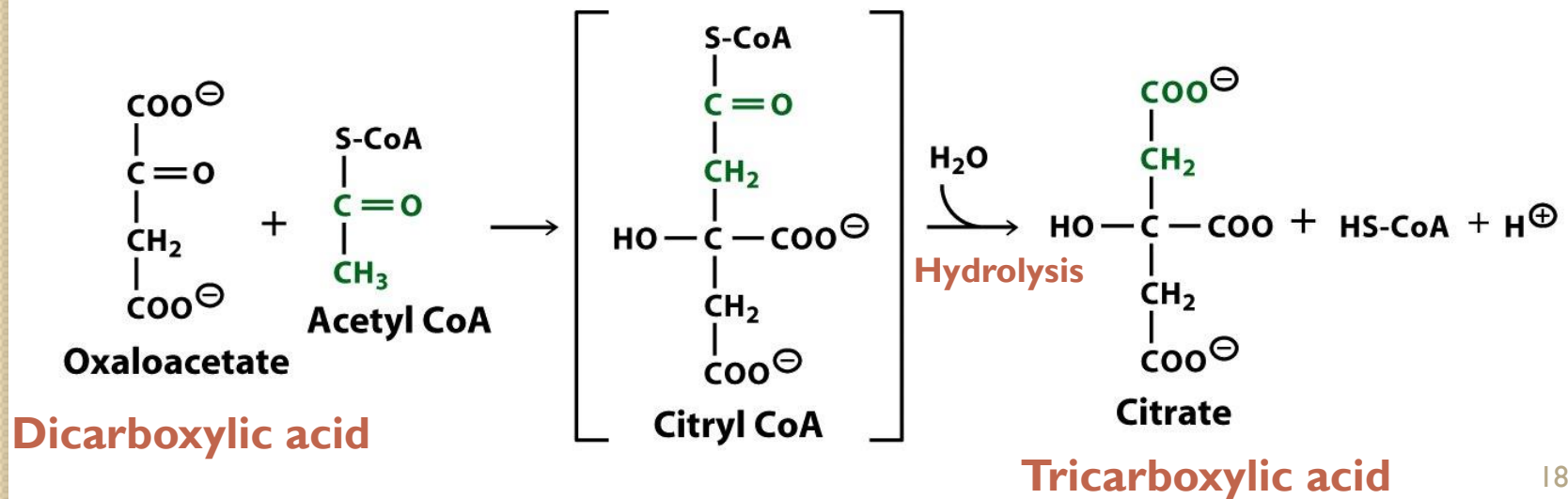
Carbons arising from acetyl CoA do not actually participate in CO<sub>2</sub> formation, but rather become distributed in molecules formed from succinate.



# Citric Acid Cycle Enzymes

## I. Citrate synthase

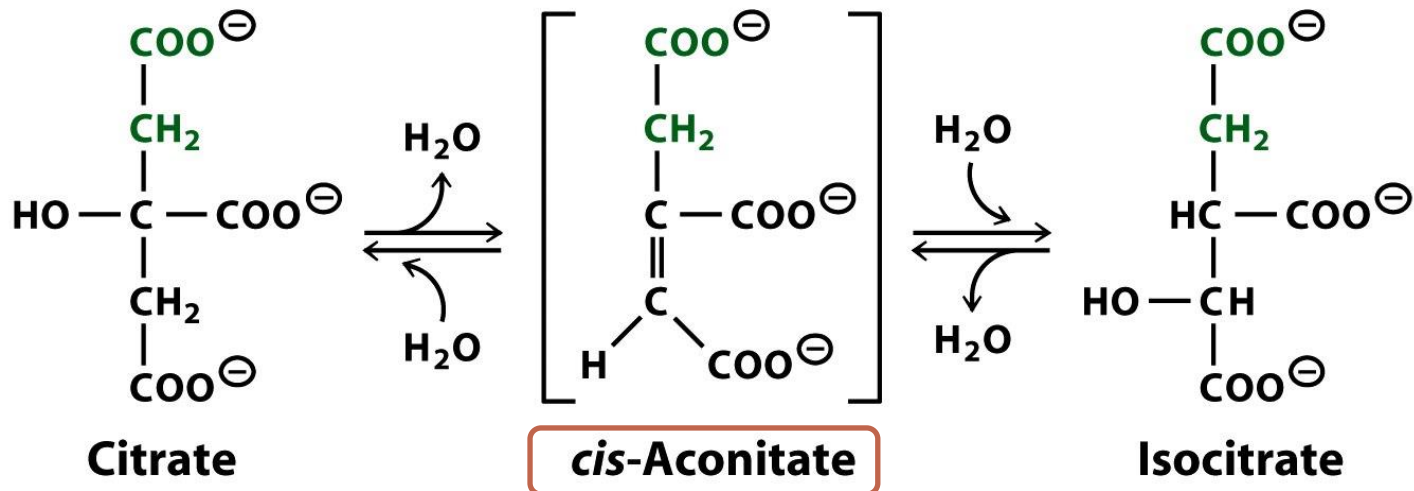
- ❖ يتم في هذه المرحلة تفاعل الأسيتيل-كوأ مع الأوكسالوأسيتات بوجود الماء للحصول على السيترات مع تحرر Coenzyme A وبروتون.
- ❖ يعتبر السيترات سنتاز من أنزيمات الترانسفيراز, حيث أنه يقوم بنقل زمرة الأسيتل من الأسيتيل-كوأ إلى الأوكسالوأسيتات.



## 2. Aconitase (aconitate hydratase)

❖ تتم عملية المماكبة للستيرات بواسطة أنزيم الأكونيتاز بشكل غير مباشر عبر مرحلتين: يتم في الأولى نزع جزيئة ماء, وفي الثانية إضافة جزيئة ماء بشكل محدد فراغياً Stereospecific للحصول على مماكب فراغي آخر للستيرات هو الإيزوسيترات.

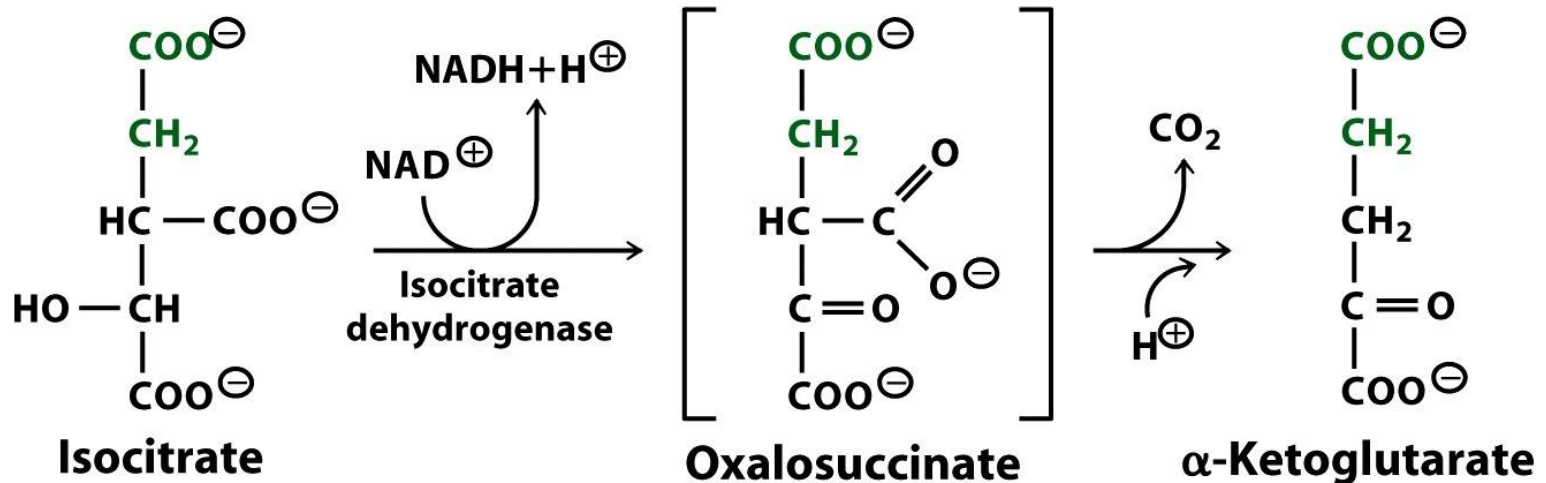
(Isomeration reaction)



# 3. Isocitrate dehydrogenase

❖ يقوم هذا الأنزيم بعملية نزع كربوكسيل تأكسدي من الإيزوسيترات مشكلاً  $\alpha$ -كيتوغلوتارات ( $\alpha$ -ketoglutarate) (مركب ثنائي الكربوكسيل حاوي على 5 ذرات كربون), بالإضافة إلى انطلاق  $\text{CO}_2$ .

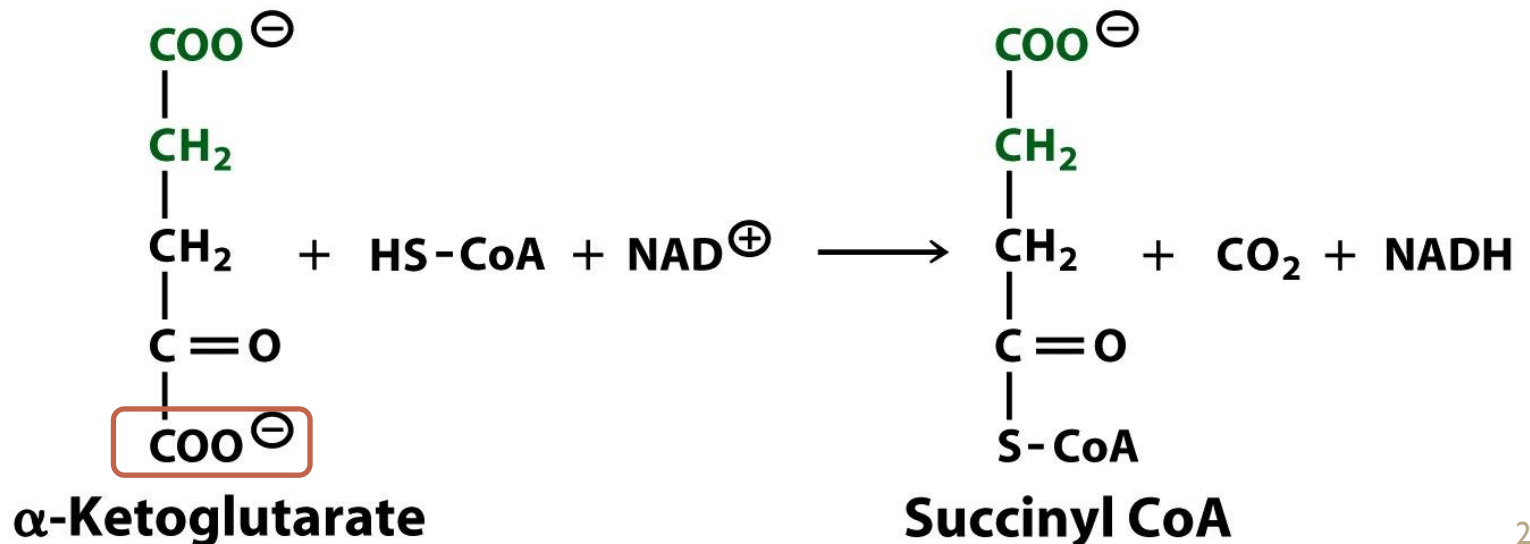
❖ First  $\text{CO}_2$  producing reaction and first oxidation–reduction reaction of the cycle, coupled to NADH formation.



## 4. $\alpha$ -Ketoglutarate dehydrogenase complex

❖ يقوم معقد  $\alpha$ -كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز بعملية نزع كربوكسيل تأكسدي **Oxidative decarboxylation** من  $\alpha$ -كيتوغلوتارات مؤدياً إلى الحصول على السوكسينيل-كوأ Succinyl-CoA, مترافقاً مع انطلاق  $\text{CO}_2$ , وإرجاع  $\text{NAD}^+$  إلى  $\text{NADH}$ .

❖ **Second  $\text{CO}_2$  producing reaction** and second oxidation–reduction reaction of the cycle, coupled to  $\text{NADH}$  formation.



- ❖ يشبه معقد  $\alpha$ -كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز معقد البيروفات ديهيدروجيناز حيث أنهما يملكان نفس آلية التفاعل ويستخدمان نفس التمايم الأنزيمية.
- ❖ يقوم كلا المعقدين الأنزيميين بعملية نزع كربوكسيل تأكسدي من  $\alpha$ -كيتوأسيد  $\alpha$ -keto acid بوجود HS-CoA, مؤدياً إلى تشكل مركب الأسيل-كوأ Acyl-CoA الموافق, وانطلاق  $\text{CO}_2$ , إرجاع  $\text{NAD}^+$  إلى  $\text{NADH}$ .

❖ Three component enzymes are:

1.  **$\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase (E1).**
2. **Dihydrolipoamide succinyl transferase (E2).**
3. **Dihydrolipoamide dehydrogenase (E3, same enzyme found in the pyruvate dehydrogenase complex).**

## 5. Succinyl CoA synthetase

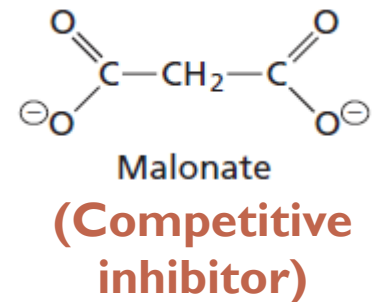
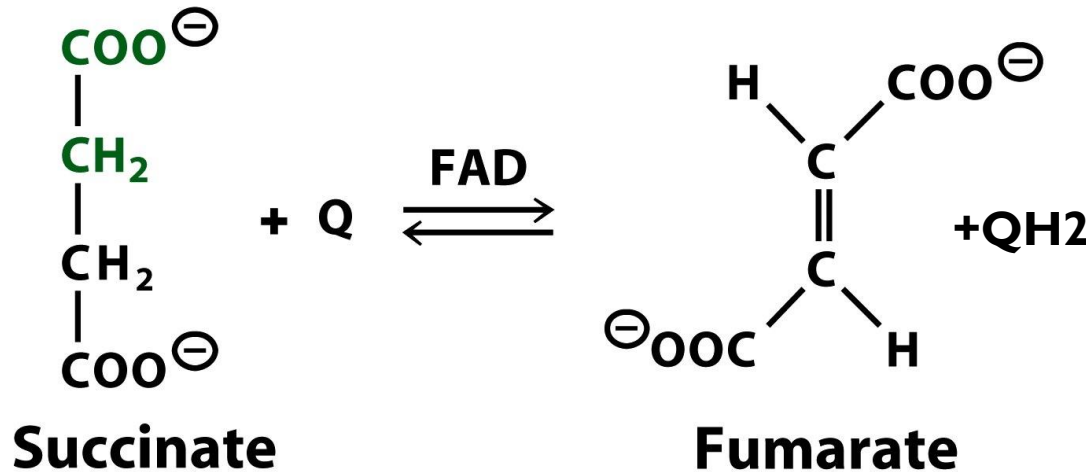
- ❖ يتم في هذه المرحلة فصل السوكسينات عن HS-CoA بواسطة أنزيم السوكسينيل-كوأ سنتيتاز.
- ❖ يتم خزن الطاقة الناتجة من حلمة رابطة الثيوإستر ضمن جزيئات الطاقة مثل ATP و GTP.



- ❖ يأخذ أنزيم السوكسينيل-كوأ سنتيتاز اسمه من كونه قادر على إنجاز التفاعل بالاتجاه العكسي أيضاً، أي باتجاه اصطناع السوكسينيل-كوأ، بوجود طاقة من جزيئة ATP أو GTP.

## 6. Succinate dehydrogenase complex

- ❖ يتواجد هذا المعقد في الميتوكوندريا لدى جميع الأحياء, ويشترك في كل من حلقة كريبس والسلسلة التنفسية لديها.
- ❖ يقوم بأكسدة السوكسينات إلى فوماتات وإرجاع الإيبيكوينون (Q) إلى إيبيكوينول (QH<sub>2</sub>).
- ❖ يتم في هذه المرحلة ثالث تفاعل أكسدة-إرجاع ضمن حلقة كريبس.

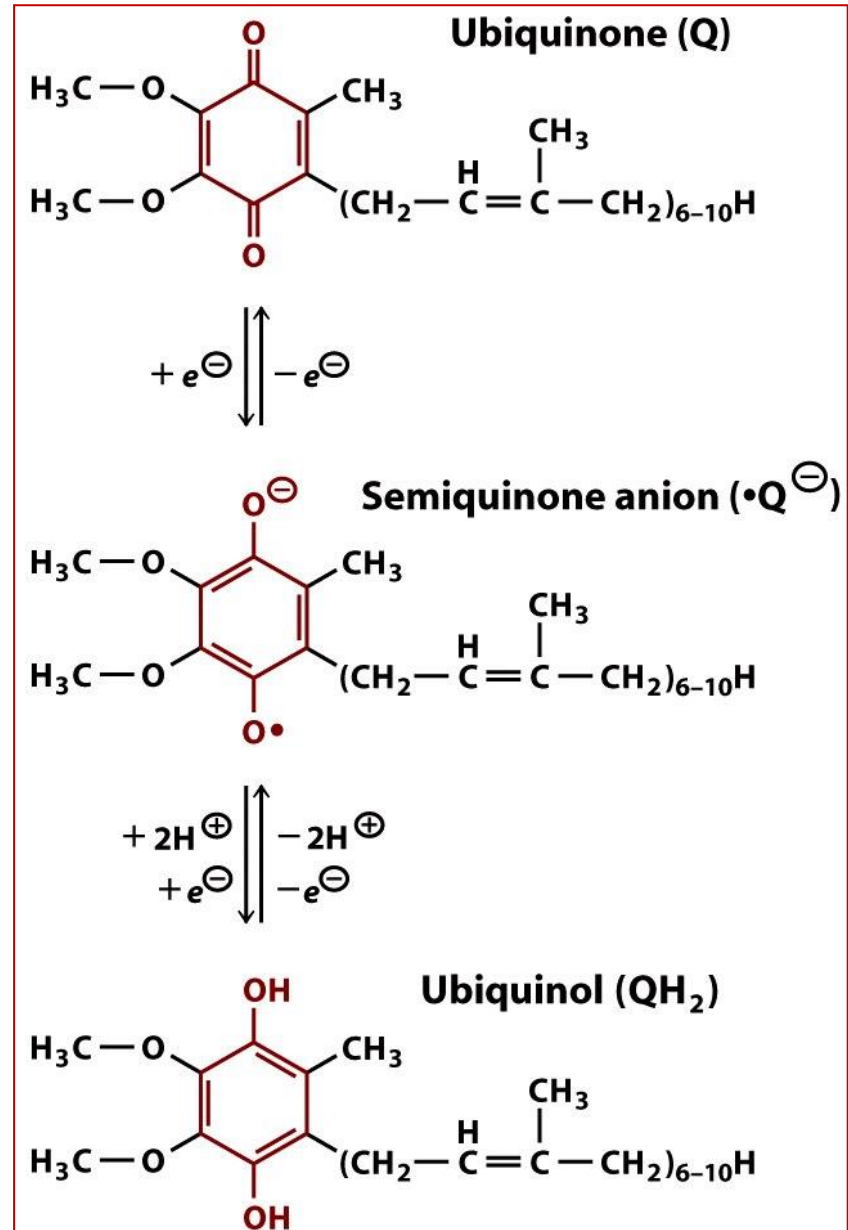


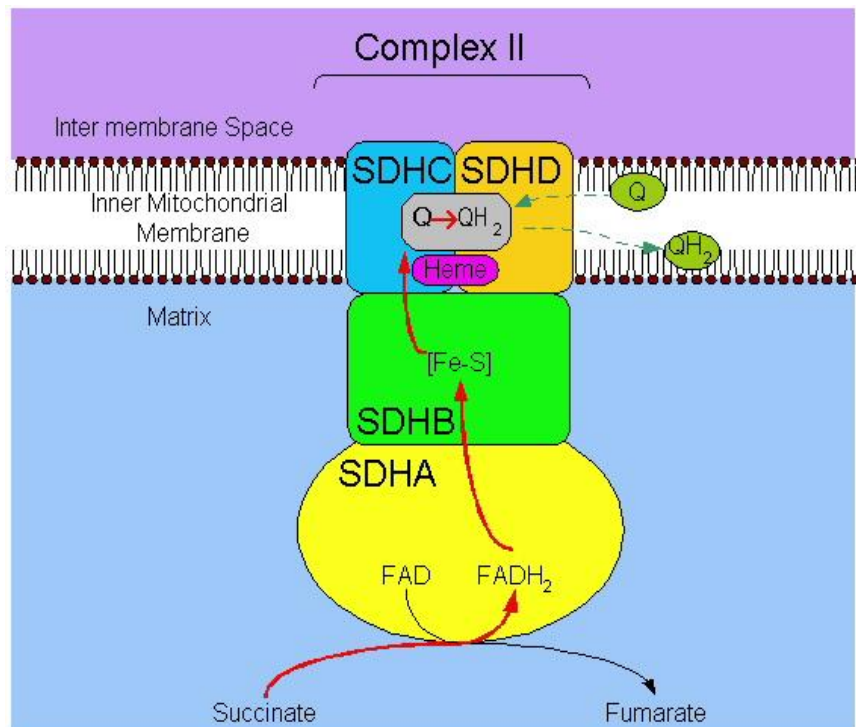
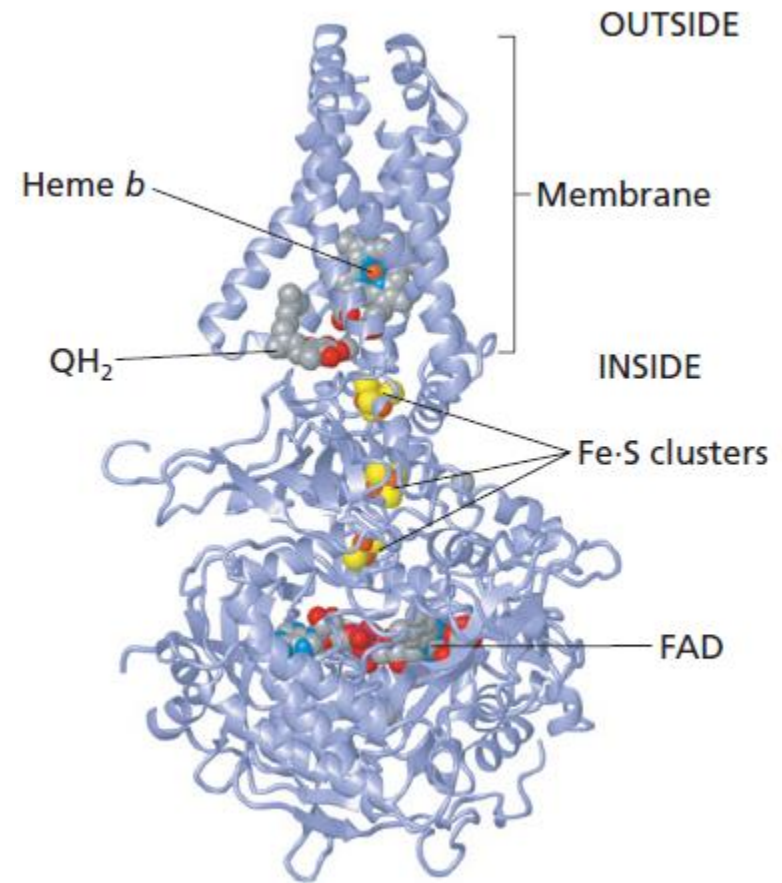
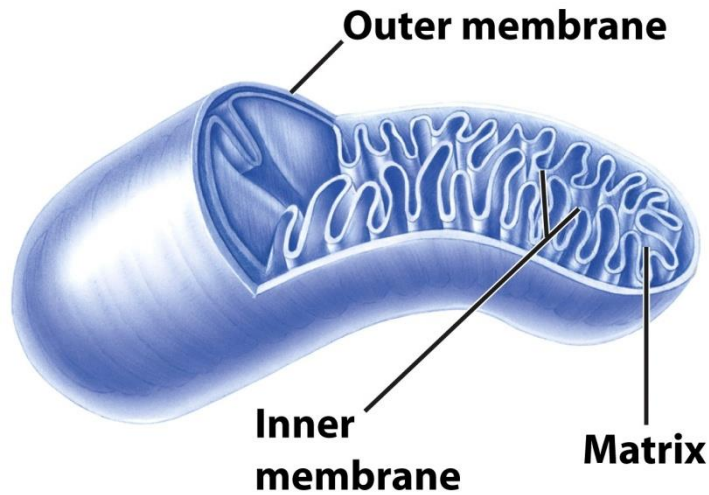


# Ubiquinone (Cosubstrate)

Three oxidation states of ubiquinone.

Ubiquinone is reduced in two one-electron steps via a semiquinone free-radical intermediate.



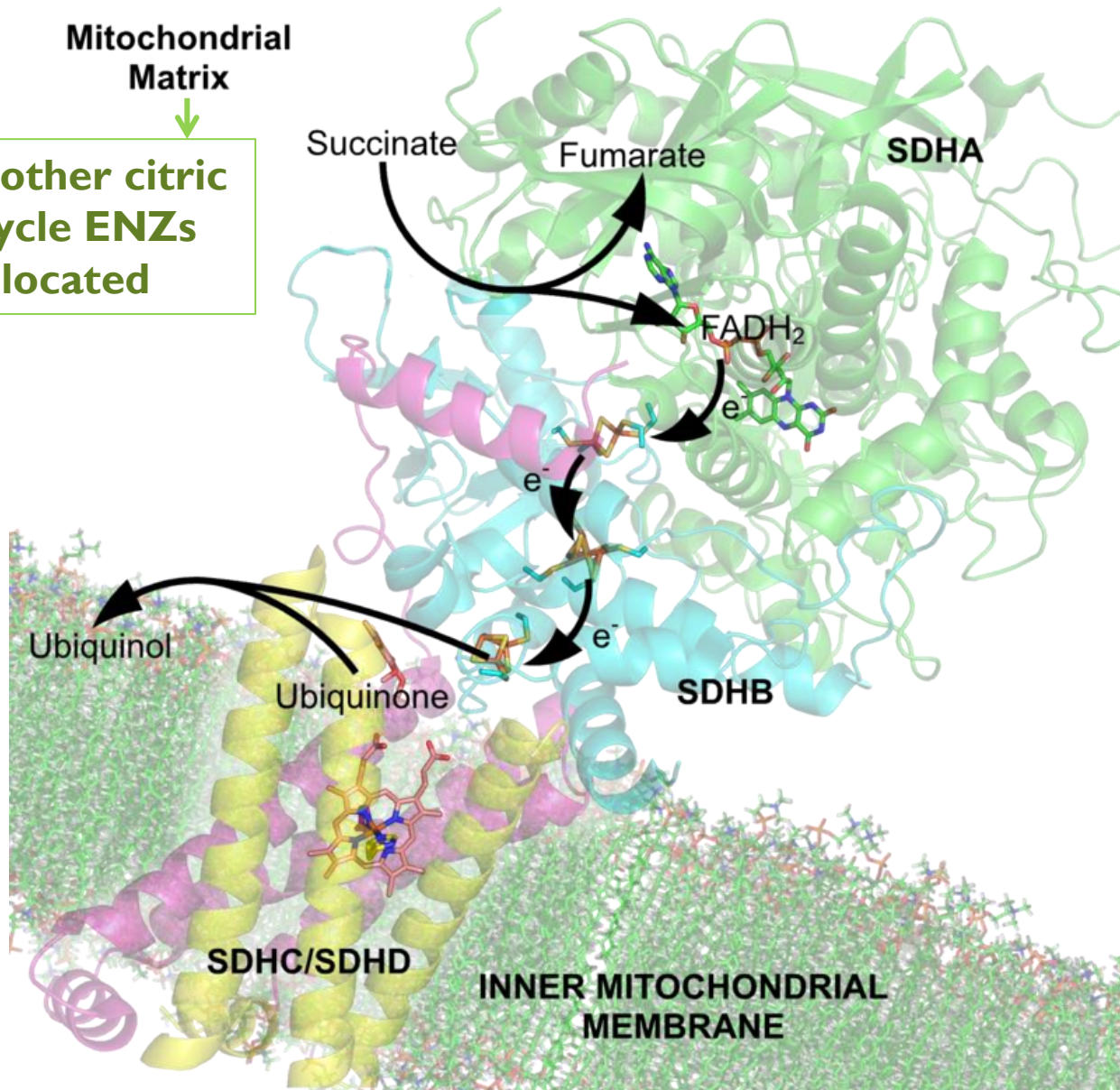


**Structure of the *E. coli* succinate dehydrogenase complex:**  
 Four different subunits: SDHA (**FAD**), SDHB (**3\*[Fe-S]**), SDHC/SDHD (**heme *b*** and **Q**).

Mitochondrial Matrix



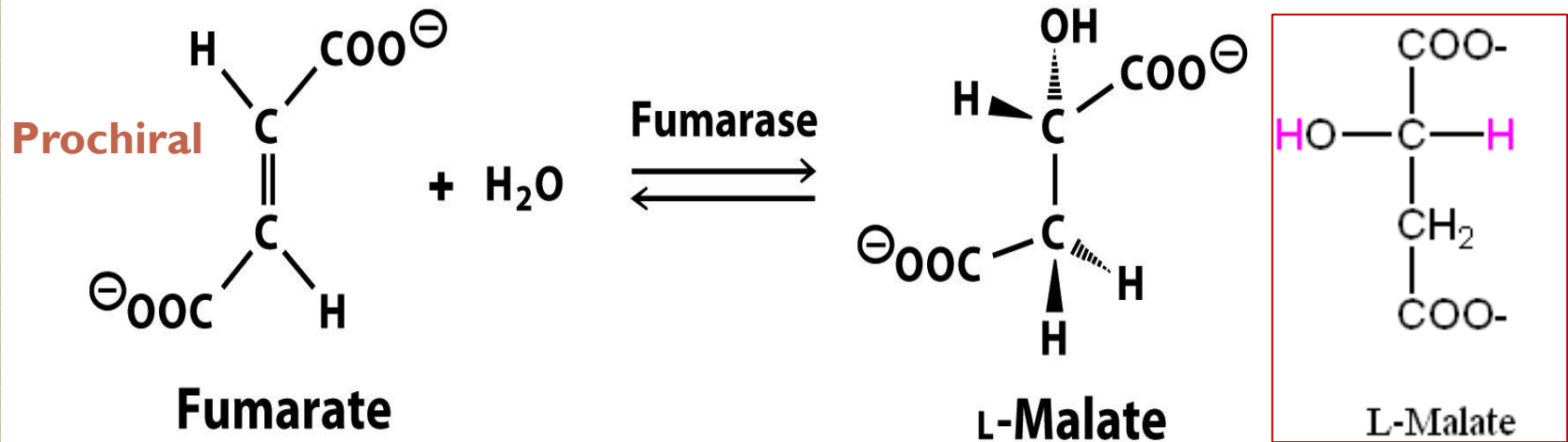
Where other citric acid cycle ENZs are located



## Complex II

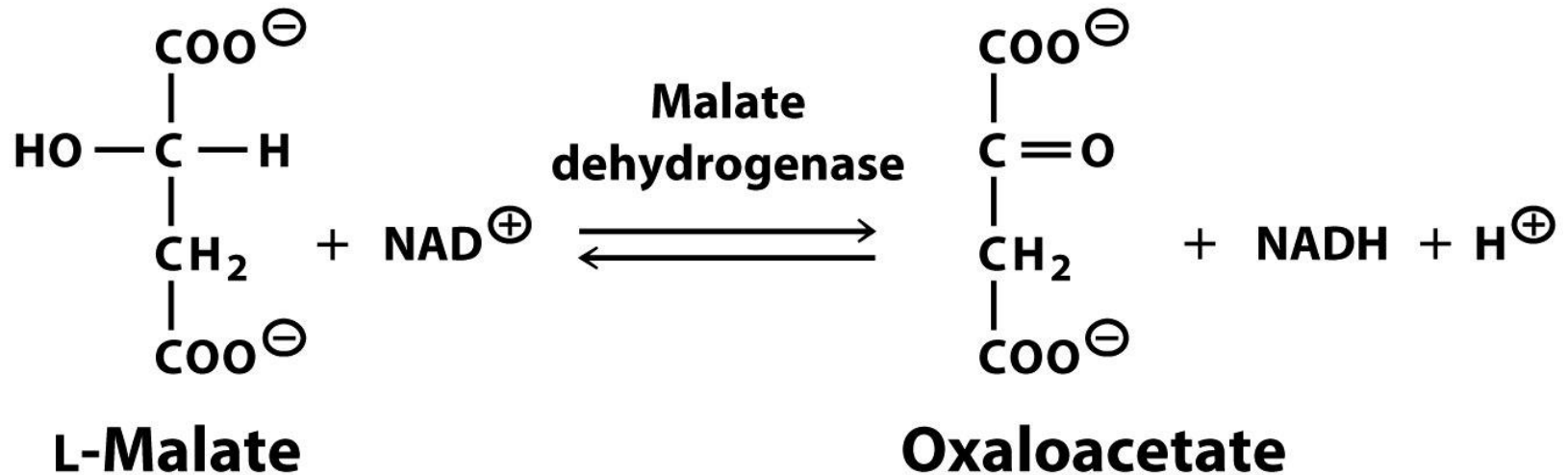
# 7. Fumarase (fumarate hydratase)

❖ يقوم الأنزيم بتحويل الفومارات إلى مالات Malate من خلال إضافة جزيئة ماء بشكل محدد فراغياً Stereospecific.



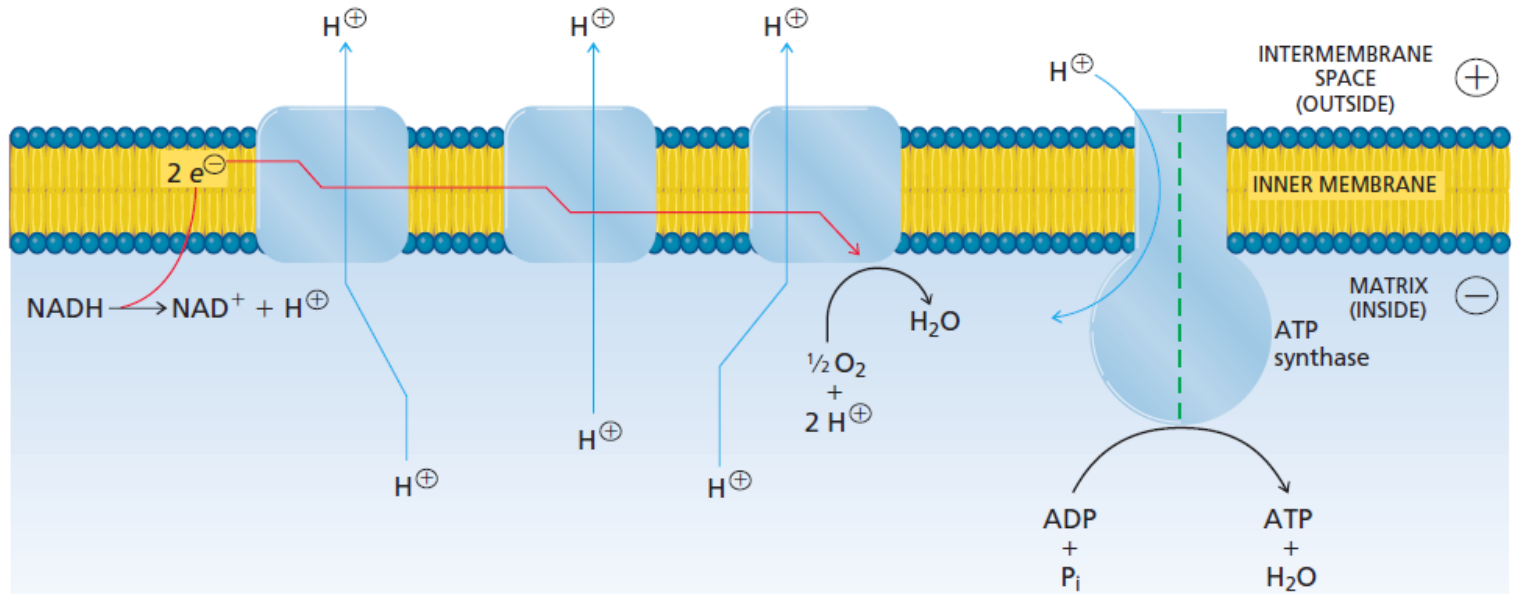
## 8. Malate dehydrogenase

- ❖ يقوم بأكسدة المالات إلى أوكسالوأسيتات مع إرجاع جزيئة  $\text{NAD}^+$  إلى  $\text{NADH}$ .
- ❖ رابع تفاعل أكسدة-إرجاع يتم ضمن حلقة كريبس.
- ❖ يشبه أنزيم اللاكتات ديهيدروجيناز.



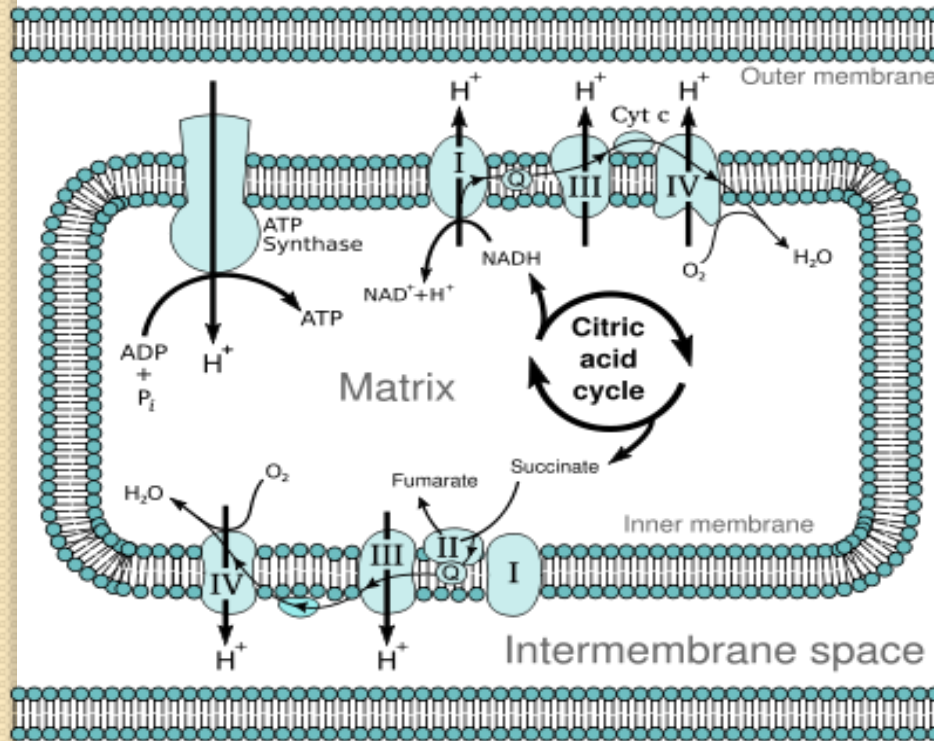
# كسب الطاقة من عملية تحلل السكر وحلقة كريبس

- ❖ تترافق عملية تحلل الجلوكوز وأكسدة الأسيتيل-كوأ ضمن حلقة كريبس مع إرجاع  $NAD^+$  إلى  $NADH$  و  $Q$  إلى  $QH_2$ .
- ❖ يتم الحصول على طاقة من كل من  $NADH$  و  $QH_2$  من خلال عملية إعادة أكسبتها ونقل الإلكترونات الناتجة من الأكسدة عبر سلسلة من المعقدات الأنزيمية والنواقل الإلكترونية المرتبطة بالغشاء الداخلي للميتوكوندريا.
- ❖ في المرحلة الأخيرة من هذه السلسلة يتم نقل الإلكترونات إلى مستقبل نهائي للإلكترونات الذي يكون غالباً الأوكسجين الجزيئي  $O_2$ ، ولذلك فإن هذه العملية تدعى أيضاً بالفسفرة التأكسدية **Oxidative phosphorylation**.



# السلسلة التنفسية Respiratory chain أو سلسلة نقل الالكترونات المرتبطة بالغشاء Membrane-associated electron transport chain

❖ تتطلب عملية نقل الالكترونات المترافقة مع اصطناع ATP وجود مجموعة من الأنزيمات والتمائم الانزيمية Coenzymes على شكل معقدات أنزيمية مغروسة في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا.



❖ ضرورة وجود غشاء خلوي في هذه العملية (غشاء الميتوكوندريا الداخلي Inner mitochondrial membrane لدى حقيقيات النوى) نظراً لأنه لا بد من خلق مدرج بروتونات (أي pH) عبر الغشاء، يتم استخدامه لاحقاً من قبل معقد ATP سنتاز (ATP synthase complex) من أجل فسفرة ADP إلى ATP.

❖ تتألف سلسلة نقل الإلكترونات من خمس معقدات أنزيمية مغروسة في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا، تعطى أرقام لاتينية I, II, III, IV و V حيث أن المعقد V هو ATP سنتاز (ATP Synthase).

❖ تحتوي هذه المعقدات على مجموعة متنوعة من مراكز الأكسدة-إرجاع:

1. توائم أنزيمية مثل FMN, FAD أو ubiquinone (Q)
2. تجمعات حديد-كبريت Fe-S clusters
3. بروتينات سيتوكروم حاوية على حلقة هيم heme-containing cytochromes
4. بروتينات حاوية على نحاس copper proteins

❖ تنتقل الإلكترونات عبر مكونات سلسلة نقل الإلكترونات من خلال عمليات أكسدة وإرجاع متعاقبة لمراكز الأكسدة-إرجاع سابقة الذكر.

❖ يتم نقل الإلكترونات بين المعقدات الأنزيمية المختلفة بواسطة بعض التوائم الأنزيمية المتحركة mobile coenzymes مثل الايبيكوينون Q و السيتوكروم c: يعتبر الايبيكوينون Q التميم الأنزيمي الأكثر تحركاً في السلسلة التنفسية حيث يقوم بنقل الإلكترونات من المعقدات I أو II إلى المعقد III، بينما يقوم السيتوكروم c بنقل الإلكترونات فقط من المعقد III إلى المعقد IV.

❖ في نهاية السلسلة يستخدم المعقد IV الإلكترونات من أجل إرجاع O<sub>2</sub> إلى ماء.



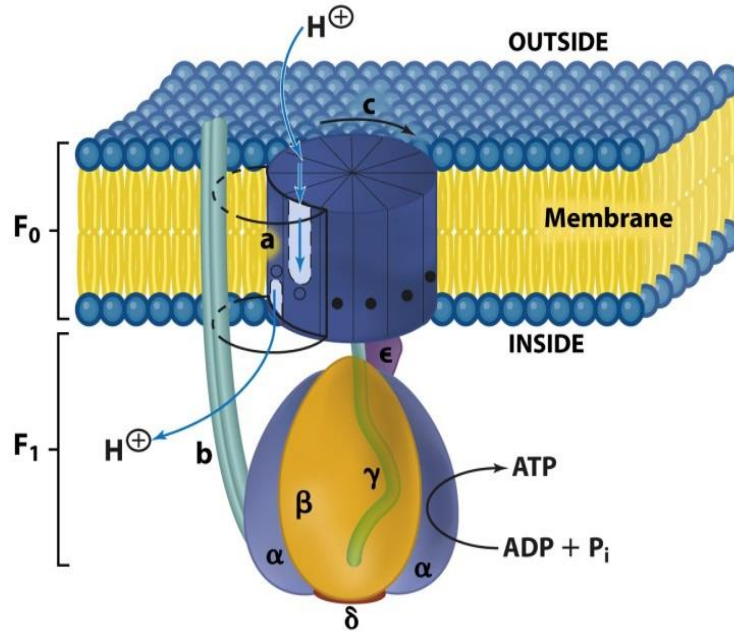
# معد ATP synthase (المعد الخامس V في السلسلة التنفسية)

❖ يقوم باصطناع ATP انطلاقاً من **ADP + فوسفات لاعضوية (Pi)** بالاعتماد على مدرج التركيز الغشائي للبروتونات الذي تم خلقه من قبل معقدات سلسلة نقل الالكترونات الأربعة السابقة.

❖ يتألف المعد من جزئين:

1. الجزء **F0** المغروس في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا: يحتوي على قناة بروتون Proton channel تسمح بمرور البروتونات من خارج الغشاء إلى داخله.

2. الجزء **F1** المتوضع باتجاه داخل الميتوكوندريا: يحتوي على المركز التحفيزي الذي يقوم باصطناع جزيئات ATP انطلاقاً من ADP و Pi.

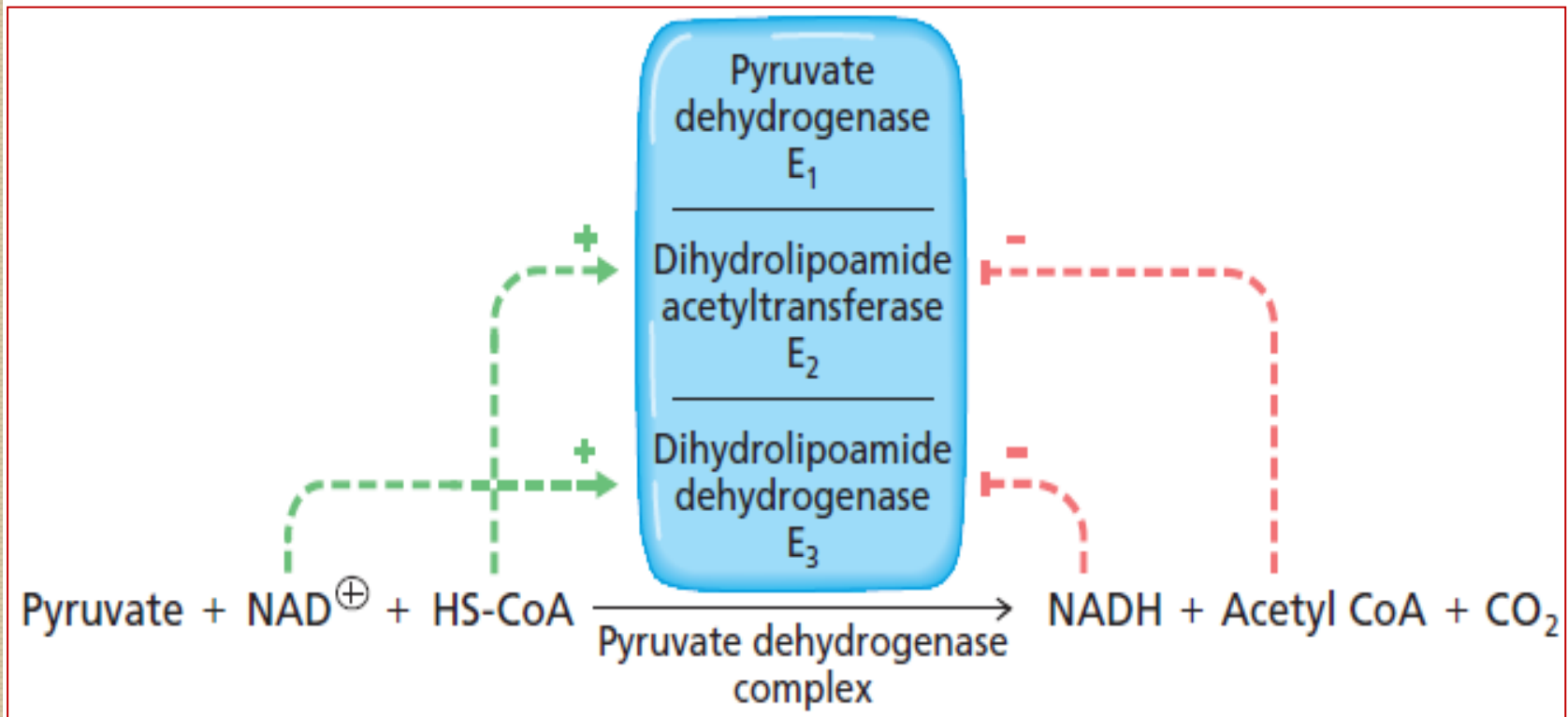


# Regulation of the Citric Acid Cycle

## I. Regulation of pyruvate dehydrogenase complex (PDC):

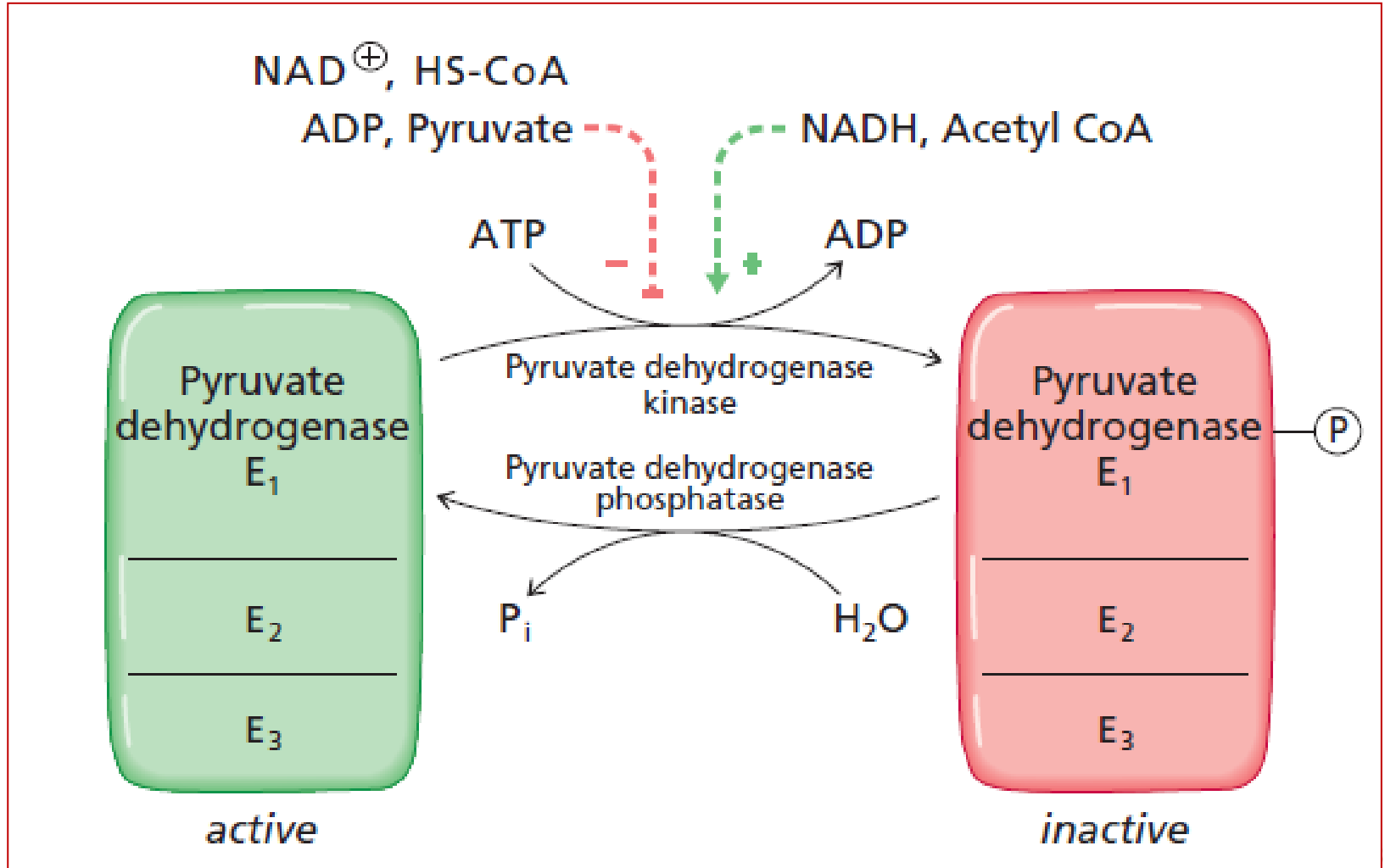
- ❖ يسمح تنظيمه بتحديد مقدار إمداد حلقة كريبس بالأسيتل-كوأ من خلال التحكم بمقدار تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ.
- ❖ يمكن تعديل فعالية أنزيمات هذا المعقد إما بشكل تفارغي **Allosteric modulation** أو من خلال التعديلات التساهمية **Covalent modification**.
- ❖ تستطيع ركائز التفاعل تنشيط معقد البيروفات ديهيدروجيناز, بينما تقوم نواتج التفاعل بتثبيطه.

In most species, accumulation of the products **acetyl CoA** and **NADH** decreases flux through the reactions catalyzed by E2 and E3, respectively.



## Regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex by phosphorylation of the E1 component:

A protein kinase and a protein phosphatase are associated with the mammalian PDC.



# Regulation of the Citric Acid Cycle

## 2. Regulation of citric acid cycle enzymes:

Three enzymes of the citric acid cycle are regulated in mammals:

**Citrate synthase**

Inhibited by **ATP** *in vitro* but not *in vivo* (ATP may not be a physiological regulator).

**Isocitrate dehydrogenase**

Activated by **Ca<sup>2+</sup>** and **ADP**, and inhibited by **NADH**. In bacteria, is regulated by phosphorylation.

**$\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase complex**

E1 component is activated by **Ca<sup>2+</sup>**. The complex is inhibited by **NADH** and **succinyl CoA** *in vitro* but not *in vivo*.

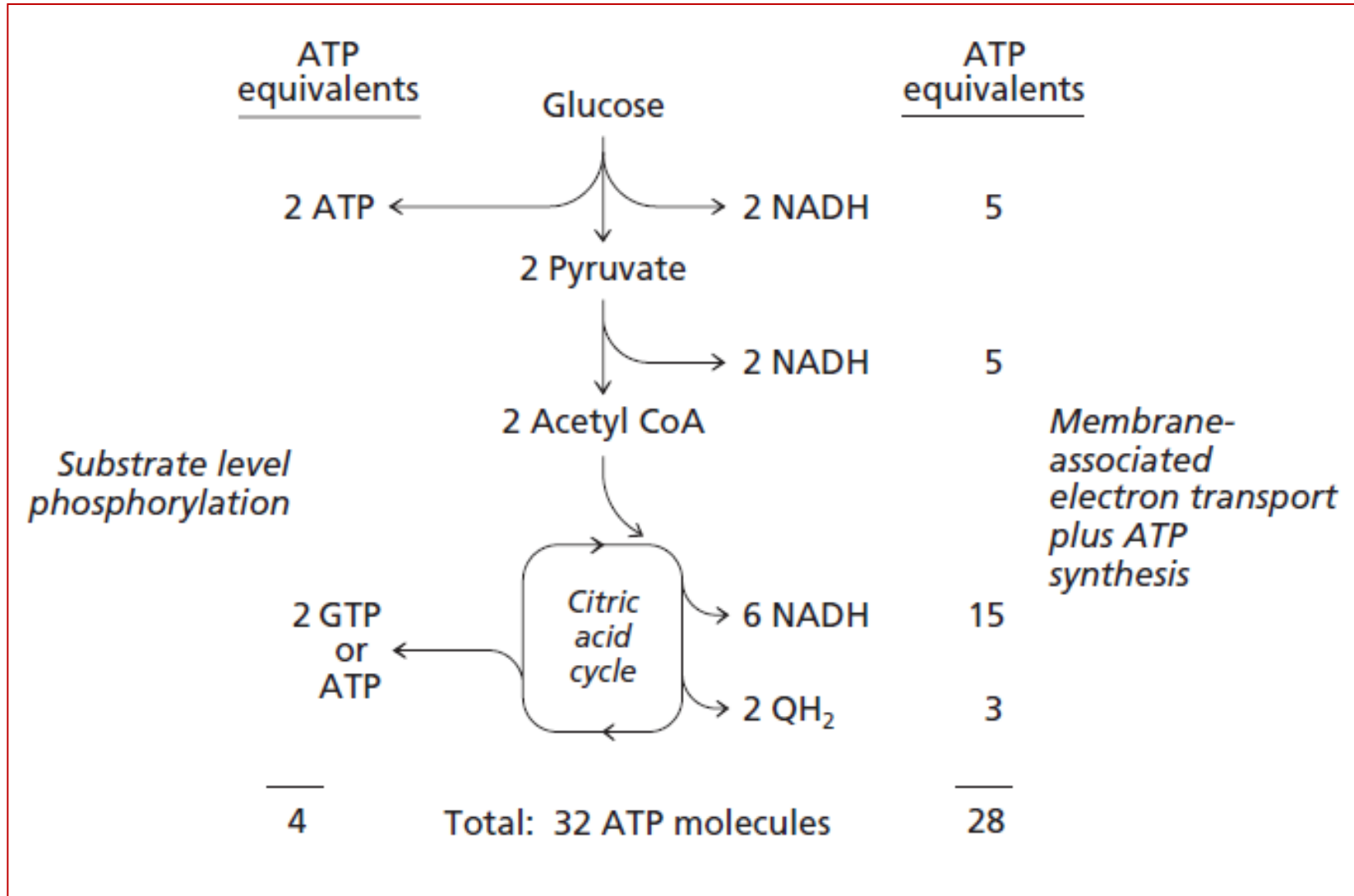
## Reduced coenzymes can fuel production of ATP

- **Oxidation of one NADH  $\approx$  2.5 ATP.**
- **Oxidation of one QH<sub>2</sub>  $\approx$  1.5 ATP.**
- ❖ The complete oxidation of one molecule of acetyl CoA by citric acid cycle produces 3NADH, 1QH<sub>2</sub> and 1GTP(ATP)  $\approx$  10 ATP equivalents.
- ❖ Degradation of one molecules of glucose to 2 pyruvates by glycolysis produces  $\approx$  7 ATP equivalents.
- ❖ Conversion of 2 molecules of pyruvate to 2 molecules of acetyl CoA produces 2 NADH  $\approx$  5 ATP equivalents.

**The complete aerobic oxidation of one molecule of glucose by glycolysis and citric acid cycle produces approximately 32 ATP equivalents.**

- ❖ **The complete oxidation of one glucose by the pentose phosphate cycle produces 12 NADH  $\approx$  30 ATP equivalents.**

**ATP production from the catabolism of one molecule of glucose by glycolysis, the citric acid cycle, and reoxidation of NADH and QH<sub>2</sub>.**



# Citric acid cycle is amphibolic

❖ **Citric acid cycle isn't always a "Cycle"**: It is not exclusively a catabolic pathway for the oxidation of acetyl CoA. Some intermediates of the citric acid cycle are important anabolic precursors in biosynthesis pathways, and some catabolic pathways produce citric acid cycle intermediates.

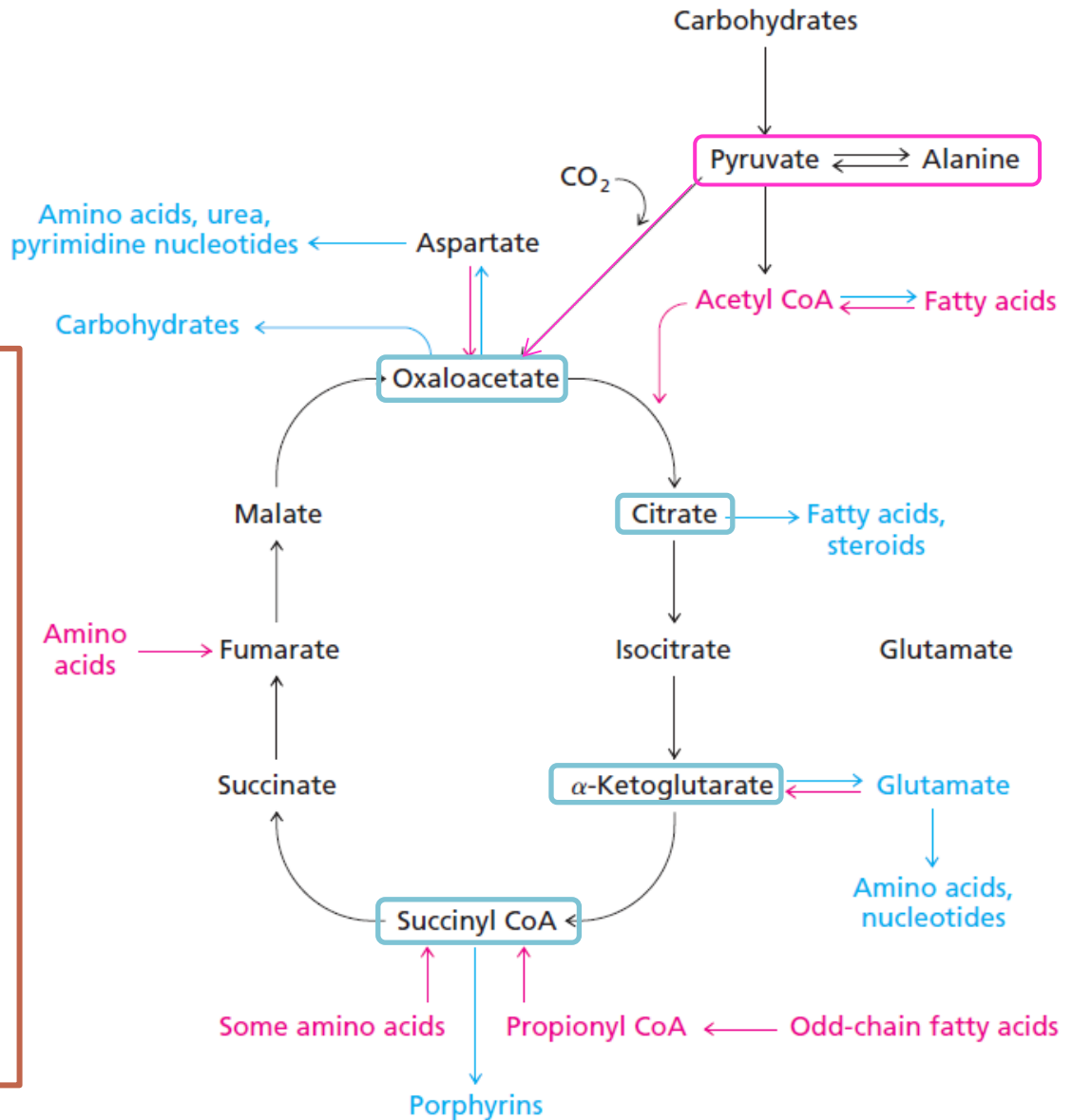
❖ **When citric acid cycle functions as a multistep catalyst**: only small amounts of each intermediate are needed to convert large quantities of acetyl CoA to products.

Citric acid cycle intermediates that are depleted by entry into biosynthetic pathways (**cataplerotic reaction**), must be replenished by **anaplerotic "filling up" reactions**.

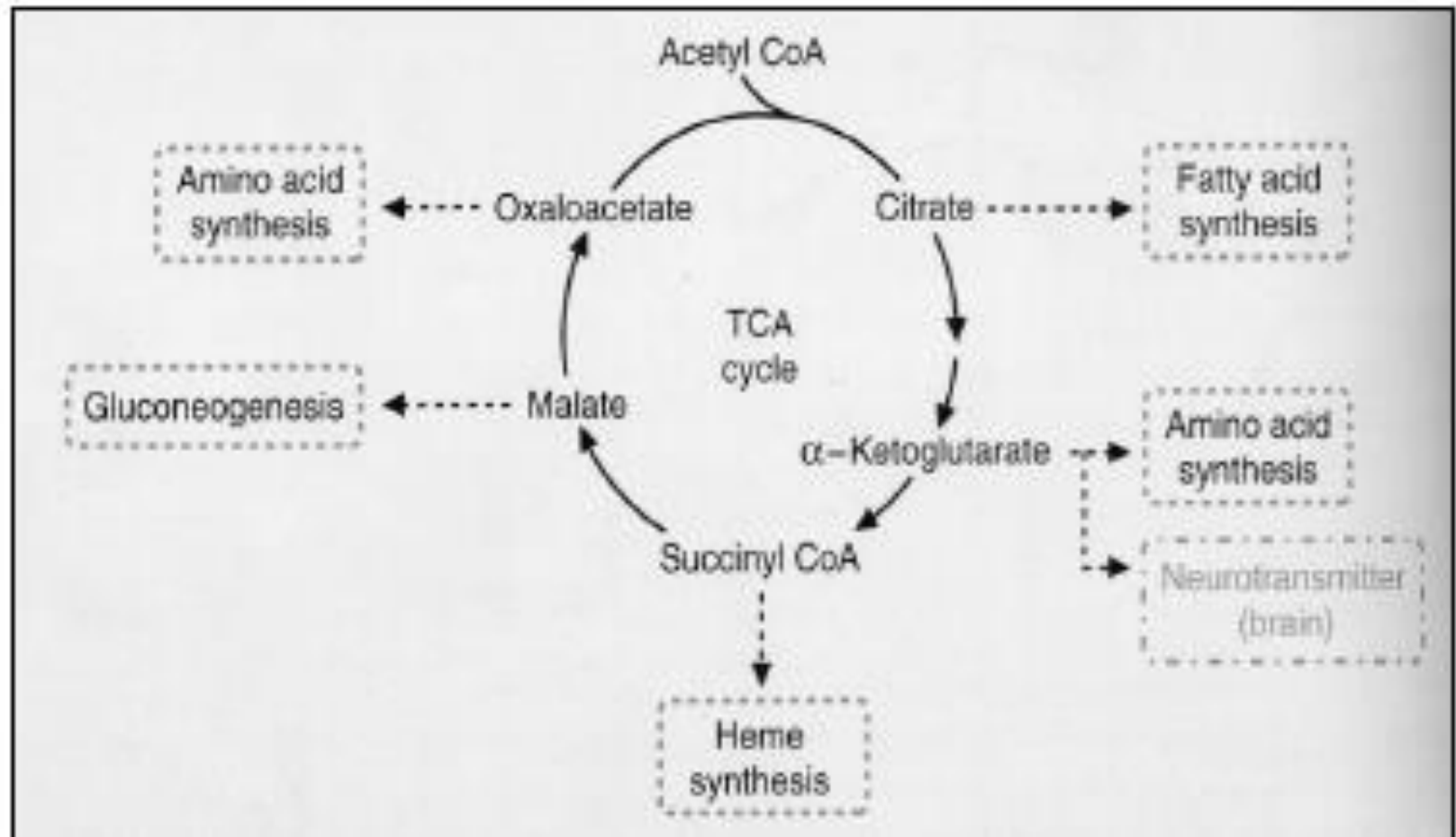


# Routes leading to and from the citric acid cycle

- Intermediates of the citric acid cycle are precursors of carbohydrates, lipids, and amino acids, as well as nucleotides and porphyrins (blue lines).
- Reactions feeding into the cycle replenish the pool of cycle intermediates (purple lines).



# Efflux of Intermediates from TCA Cycle



# Glyoxylate Pathway

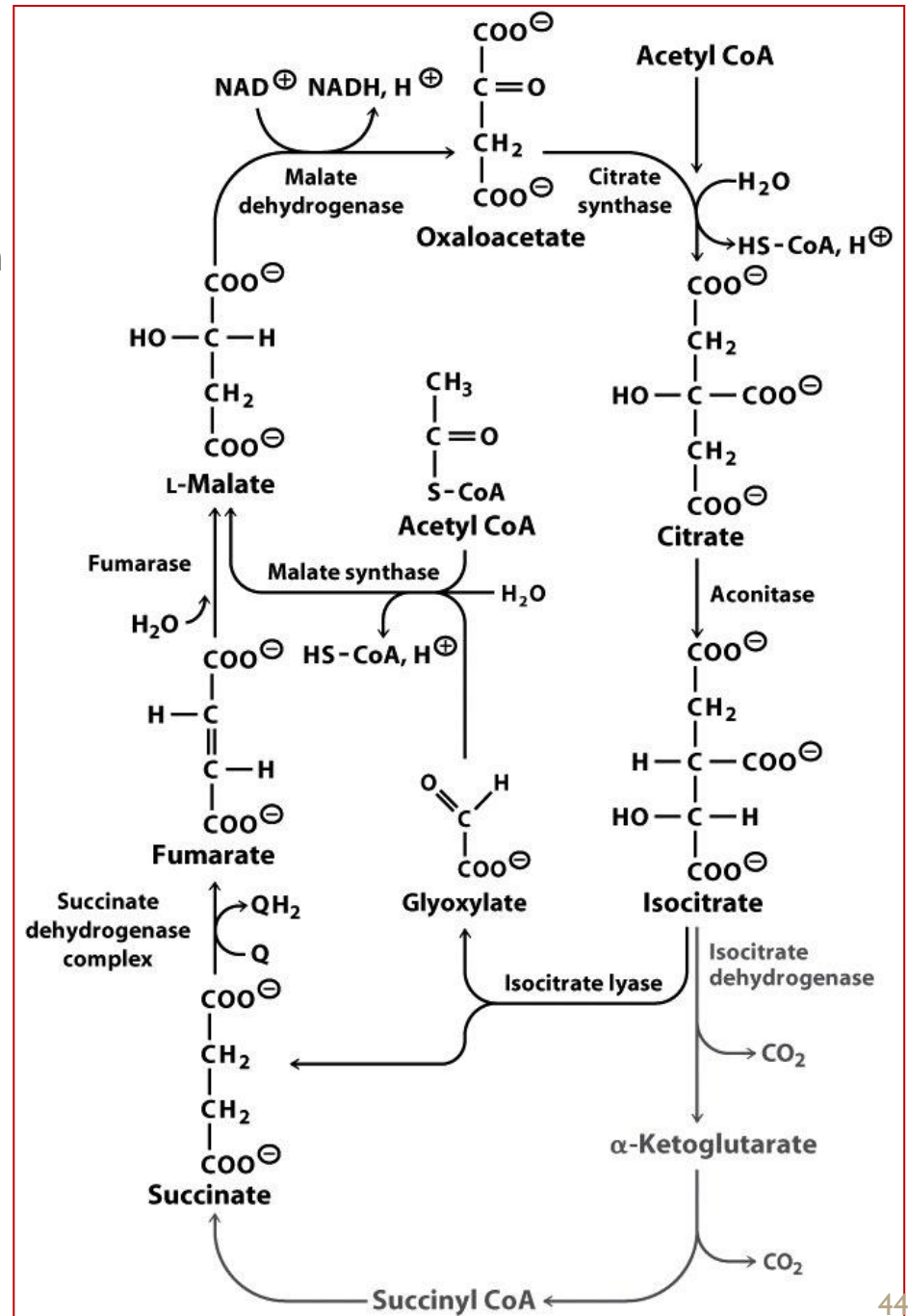
- ❖ Route that bypasses some of the reactions of the citric acid cycle in **bacteria, protists, fungi, plants and some animals.**
- ❖ Anabolic alternative for acetyl CoA metabolism, leading to the formation of glucose from acetyl CoA via four-carbon compounds; synthesis of carbohydrates from acetyl CoA precursors (Ethanol and Acetate).
- ❖ Two different reactions: **isocitrate lyase** and **maltate synthase.**

- **No carbon atoms of the acetyl group of acetyl CoA are released as CO<sub>2</sub> during glyoxylate cycle.**
- **Glyoxylate cycle lead to the net formation of oxaloacetate from two acetyl CoA (precursor in gluconeogenesis).**

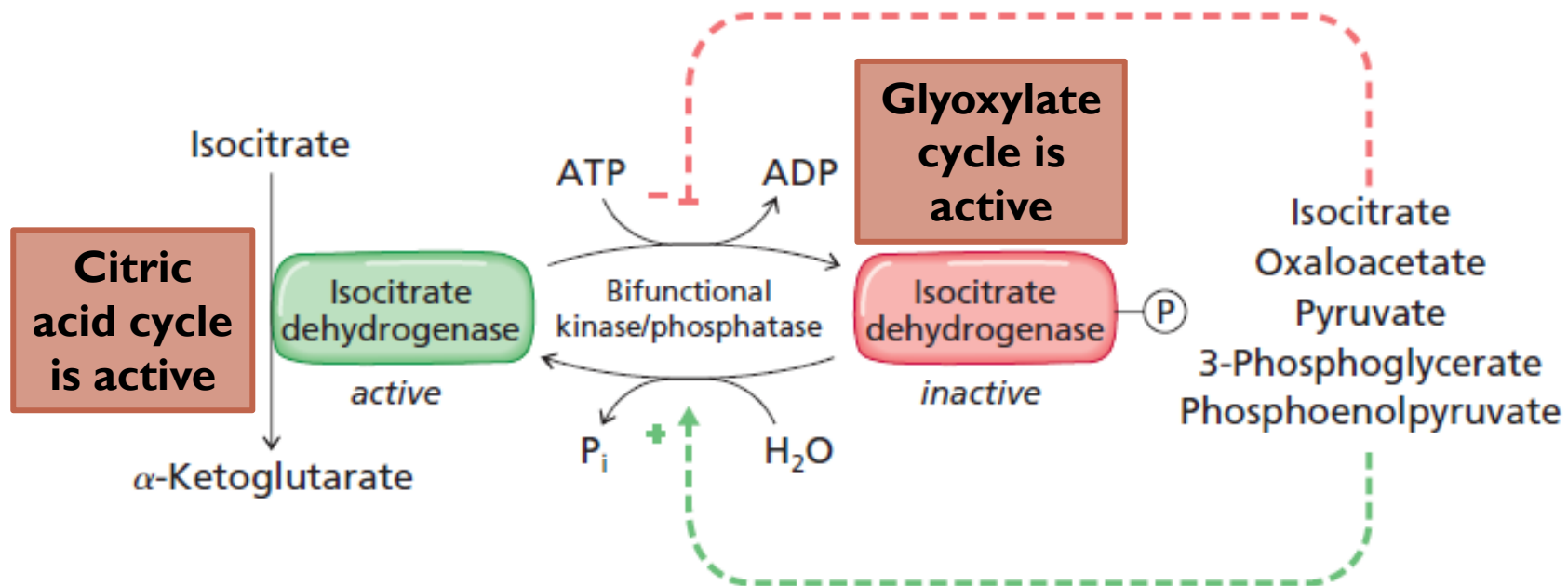


# Glyoxylate pathway

- Isocitrate is split into two-carbon molecule (glyoxylate) and a four-carbon dicarboxylic acid (succinate).
- Glyoxylate combines with acetyl CoA to make a four-carbon dicarboxylic acid (malate).
- Malate can be converted to oxaloacetate (precursor in gluconeogenesis).
- Succinate produced in the cleavage of isocitrate is oxidized to oxaloacetate to replace the oxaloacetate molecule consumed in glucose synthesis.



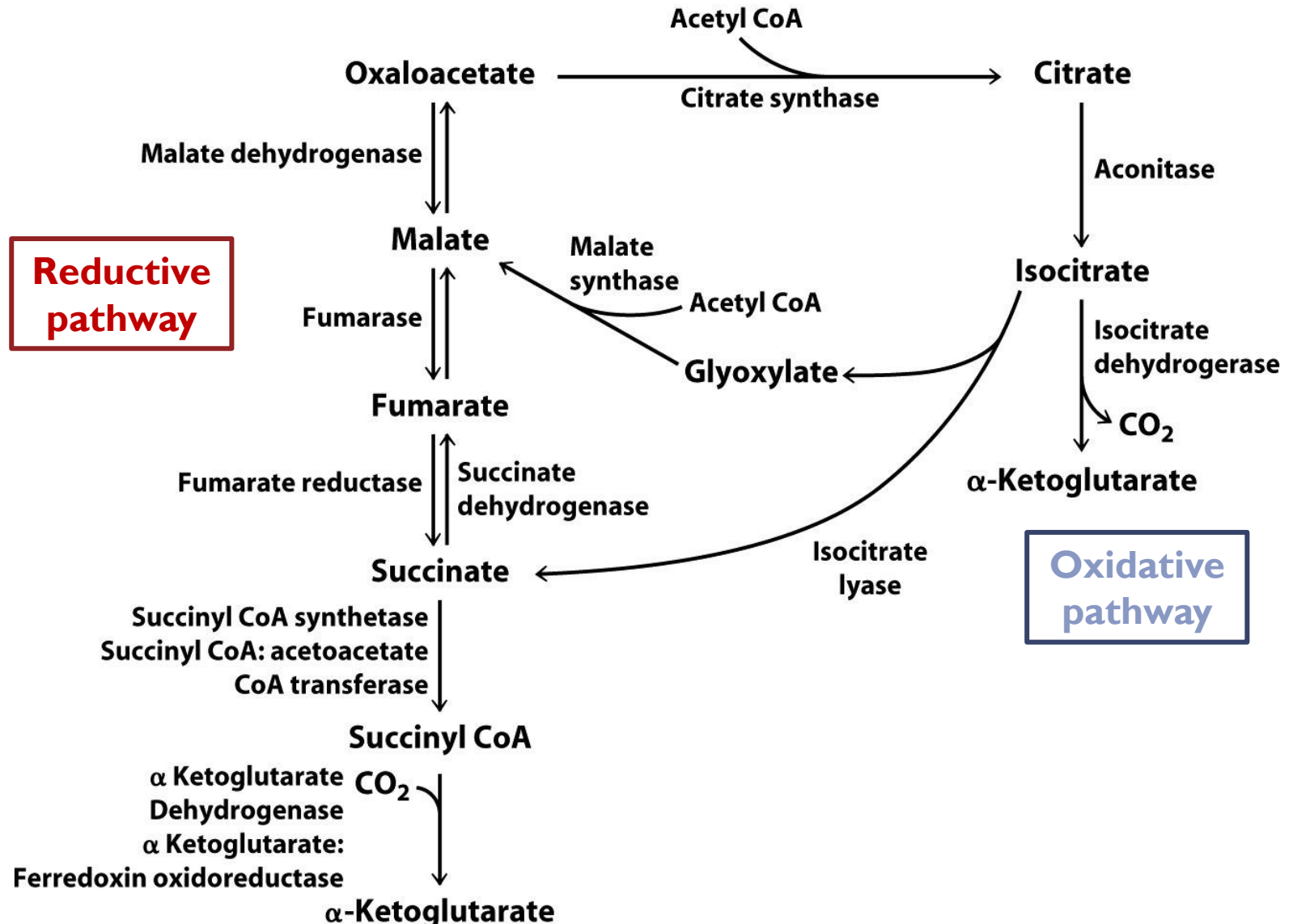
- In eukaryotes, citric acid cycle enzymes are located in mitochondria, while isocitrate lyase and malate synthase are in cytosol.
- **In bacteria**, since all enzymes found in cytosol, it is important to regulate the flow of metabolites in either cycles (**Regulation of isocitrate dehydrogenase**).




# Evolution of the Citric Acid Cycle

- ❖ Production of ATP equivalents via glycolysis and citric acid cycle is not an important source of metabolic energy in certain species (glucose is not a major carbon source).
- ❖ Most species of bacteria do not have a complete citric acid cycle, but are able to synthesize all the precursors of amino acids, porphyrins, and fatty acids **by the Forked pathway**:
  1. Most commonly, bacteria have only parts of the left-hand side of the cycle: Reduction of oxaloacetate to succinate or succinyl CoA or  $\alpha$ -ketoglutarate (reverse of the traditional citric acid cycle).
  2. Many species of bacteria have also enzymes from the right-hand side of the cycle, especially citrate synthase and aconitase (synthesis of citrate and isocitrate from oxaloacetate and acetyl CoA).

# Forked pathway found in many species of bacteria



- 
- ❖ **Hundreds of diverse species of bacteria can survive in the complete absence of oxygen:**
    1. Either **obligate** anaerobes: oxygen is a lethal.
    2. Or facultative anaerobes: they can survive in oxygen-free or oxygen-rich environments (*E.Coli*).
  
  - ❖ When growing anaerobically, they use the forked pathway to produce the necessary metabolic precursors with out accumulation of reducing equivalents that cannot be reoxidized by oxidative phosphorylation.