

BIOGÉNÈSE DES MONOTERPÈNES (*)

II - La chaîne isoprénique

A. LAMARTI (), A. BADOUC (***), G. DEFFIEUX (***),
J.-P. CARDE (****)**

Le diphosphate d'isopentényle (IPP) est l'isoprène actif. Plusieurs modèles ont été proposés pour établir son site de biosynthèse. Les 3 compartiments, cytoplasme, mitochondries et plastes, peuvent convertir l'IPP en composés terpéniques. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion sont hydrosolubles ou membranaires.

GÉNÉRALITÉS

Les terpènes (= terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. L'étude de leur métabolisme connaît un regain d'intérêt par suite du développement des méthodes analytiques auxquelles est venu s'ajouter l'outil moléculaire (1-5).

Les études sur les différentes voies de biosynthèse des terpènes ont donné lieu à plusieurs revues bibliographiques (6-11). Par contre, on possède peu d'informations sur la compartimentation cellulaire et les régulations des

(*) *Manuscrit reçu le 25 Avril 1994.*

(**) *Département de Biologie, Faculté des Sciences Mhanach II, BP 2121 Tetouan, Maroc.*

(***) *Laboratoire de Mycologie et Biologie végétale, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université de Bordeaux II, 3, place de la Victoire, 33000 Bordeaux Cedex*

(****) *CNRS URA 568, Laboratoire de Physiologie cellulaire végétale, Université de Bordeaux I, av des Facultés, 33405 Talence Cedex.*

systèmes mis en jeu (12-13).

Les recherches sur l'origine biosynthétique des terpènes ont été menées selon diverses orientations.

Ruzicka (14) a proposé les voies de biosynthèse les plus probables en se basant sur la nature chimique des composés.

Arigoni *et al.* (15) de même que Pyun *et al.* (16) ont récemment cherché à caractériser les précurseurs de biosynthèse par analyse des teneurs en isotopes stables. Bricout (17) avait déjà constaté que la biosynthèse des terpènes volatils s'accompagnait d'une exclusion partielle du deutérium. Celle-ci est particulièrement importante pour les monoterpènes, dont la formation fait intervenir l'acétyl coenzyme A *via* l'acide mévalonique.

D'autres auteurs ont utilisé les données génétiques et envisagé des relations de biosynthèse entre les différents constituants (18).

Les expériences fondées sur des incorporations de précurseurs marqués et sur des études enzymatiques (15,19) ont permis de mieux comprendre les mécanismes chimiques de cette biosynthèse. Ainsi, au cours de ces dernières années diverses cyclases extraites de Lamiacées (20-23) ou de Conifères (24) ont été purifiées.

La purification de ces enzymes a parfois débouché sur la production d'anticorps polyclonaux (25-26) pouvant être utilisés en immunocytolocalisation afin de mieux comprendre la localisation sub-cellulaire de ces enzymes.

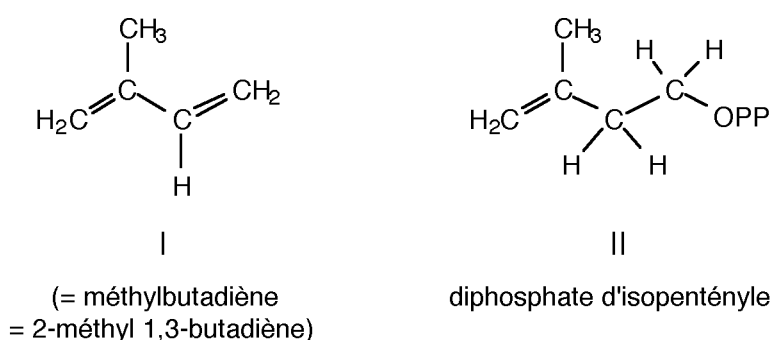
Il est frappant néanmoins de constater qu'aucun travail sur l'immunolocalisation de ces systèmes enzymatiques n'a été publié à ce jour. La seule information d'ordre morphologique dans ce domaine porte sur la localisation, par histochimie, d'une activité monoterpène synthétase dans les poils glandulaires de Menthe verte (*Mentha spicata* Huds.) (27).

Ceci suggère que la détection *in situ* de ces enzymes par des méthodes immunologiques pose des problèmes particuliers et qu'ils ne sont pas facilement décelables par les méthodes habituelles.

RÈGLE ISOPRÉNIQUE

Vers le milieu du XIXème siècle, les travaux sur l'essence de térébenthine sont à l'origine du terme "terpènes" donné aux hydrocarbures de formule brute C₁₀H₁₆ (28). On les trouve fréquemment dans les huiles volatiles des plantes, nommées huiles essentielles car elles renferment la "*Quinta essentia*", la fragrance de la plante.

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) reconnue par Wallach dès 1887 (29). Cet isoprène (I) est à la base du concept de la "règle isoprénique" énoncée en 1953 par Ruzicka (14) et complétée par Lynen *et al.* (30) et Bloch *et al.* (31). Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (II), désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel on les désigne également.



Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isopréniques qui les composent :

- * monoterpènes ($C_5 \times 2$)
- * sesquiterpènes ($C_5 \times 3$)
- * diterpènes ($C_5 \times 4$)
- * triterpènes ($C_5 \times 3$) + ($C_5 \times 3$)
- * tétraterpènes ($C_5 \times 4$) + ($C_5 \times 4$)

Ainsi, les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles.

BIOSYNTÈSE DU DIPHOSPHATE D'ISOPENTÉNYLE

1 - Compartimentation cellulaire

La biosynthèse du diphosphate d'isopentényle (IPP) se fait par la voie de l'acide mévalonique à partir de l'acétyl CoA. Ce dernier est présent dans la

plupart des compartiments cellulaires. En raison de sa place importante à la croisée des chemins du métabolisme primaire et secondaire, de nombreux auteurs ont recherché son origine (32-34).

Dans les mitochondries, l'acétyl CoA dérive de la décarboxylation du pyruvate par le complexe multi-enzymatique de la pyruvate déshydrogénase (PDH). Une acétyl CoA hydroxylase (ACH) transforme l'acétyl CoA en acétate dans la mitochondrie (35). L'acétate provenant de la mitochondrie passe dans le chloroplaste pour être converti en acétyl CoA, car le site exclusif de l'acétyl CoA synthétase (ACS) serait le stroma plastidial (36). Cependant, l'hydrolyse de l'acétyl CoA dans la mitochondrie et sa régénération dans le chloroplaste constitue une perte énergétique considérable peu physiologique.

Dans les chloroplastes, comme pour les mitochondries, la source de l'acétyl CoA serait le pyruvate (37). Pour expliquer la formation du pyruvate dans le plaste, la présence d'une voie glycolytique plastidiale a été évoquée (38). Ce métabolisme pour la synthèse de l'acétyl CoA plastidial semblerait une voie plus physiologique que celle de l'acétate. Schulze-Siebert *et al.* (33) suggèrent que sous certaines conditions photosynthétiques, l'acétyl CoA formé par la voie glycolytique servirait à la synthèse des composés isopréniques tandis que l'acétyl CoA provenant de l'acétate servirait à la synthèse des acides gras. Une troisième possibilité a été évoquée avec la présence d'une carnitine acétyl-transférase dans les mitochondries et dans les chloroplastes (39).

Dans le cytoplasme, l'acétyl CoA serait issu du citrate par l'action d'une ATP citrate lyase (ACL) (40).

Toutes ces étapes ont été analysées par Liedvogel (32) qui a établi un schéma sur la compartimentation de l'acétyl CoA et son utilisation dans les différents compartiments cellulaires (figure 1).

Bien que le diphosphate d'isopentényle soit le premier maillon de la chaîne isoprénique, son site de biosynthèse n'est pas encore établi avec certitude. Deux hypothèses (figure 2) sont proposées à ce sujet :

- la première suggère que la synthèse de l'IPP serait propre à chaque compartiment cellulaire (41-42). Ainsi, Schulze-Siebert et Schultz (43) ont montré que les chloroplastes d'Épinards (*Spinacia oleracea* L., *Chenopodiaceae*) sont capables de synthétiser l'IPP de façon autonome.

- la seconde hypothèse est basée sur l'absence d'enzymes impliquées dans la synthèse de l'IPP dans les plastes et les mitochondries : Kreuz et Kleinig (44), Lütke-Brinkhaus et Kleinig (45-46) suggèrent que l'IPP est synthétisé exclusivement dans le cytoplasme ; il est ensuite distribué dans les divers compartiments cellulaires.

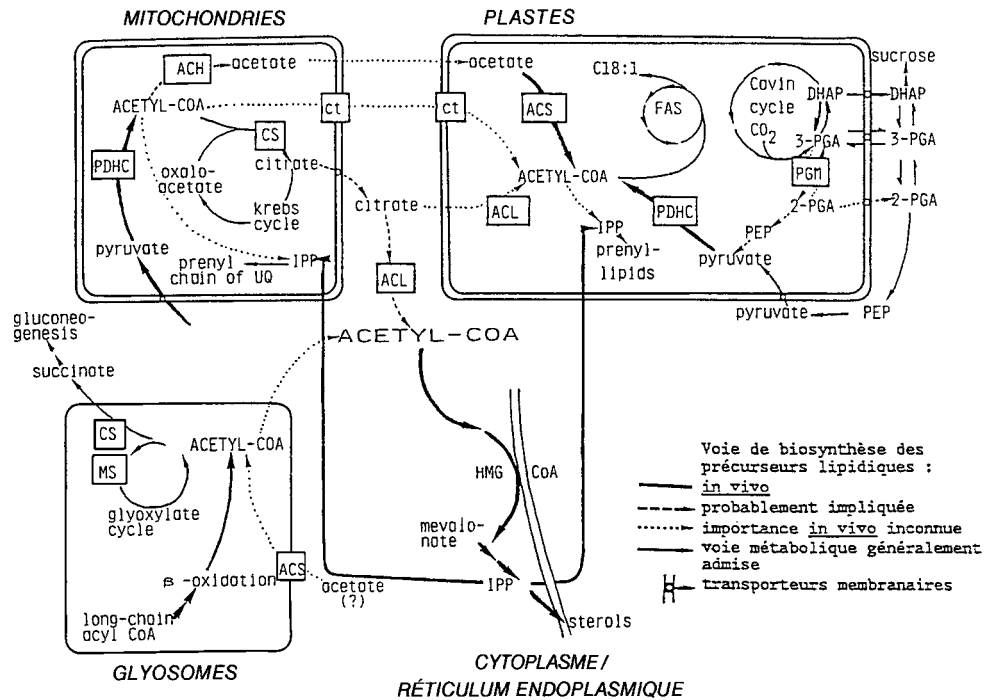


Fig. 1 : Origine et utilisation de l'acétyl CoA dans une cellule végétale (32).

- ACH : acétyl CoA hydroxylase
 IPP : diphosphate d'isopentényle
 ACL : ATP citrate lyase
 MS : malate synthétase
 ACS : acétyl CoA synthétase
 PDH : pyruvate déshydrogénase
 CS : citrate synthétase
 PEP : phosphoénolpyruvate
 ct : carnitine acétyltransférase
 2-PGA : 2-phosphoglycérate
 DHAP : dihydroxyacétonephosphate
 3-PGA : 3-phosphoglycérate
 FAS : 'fatty acid synthesizing system'
 PGM : phosphoglycériomutase
 HMG CoA : β -hydroxy- β -méthylglutaryl CoA

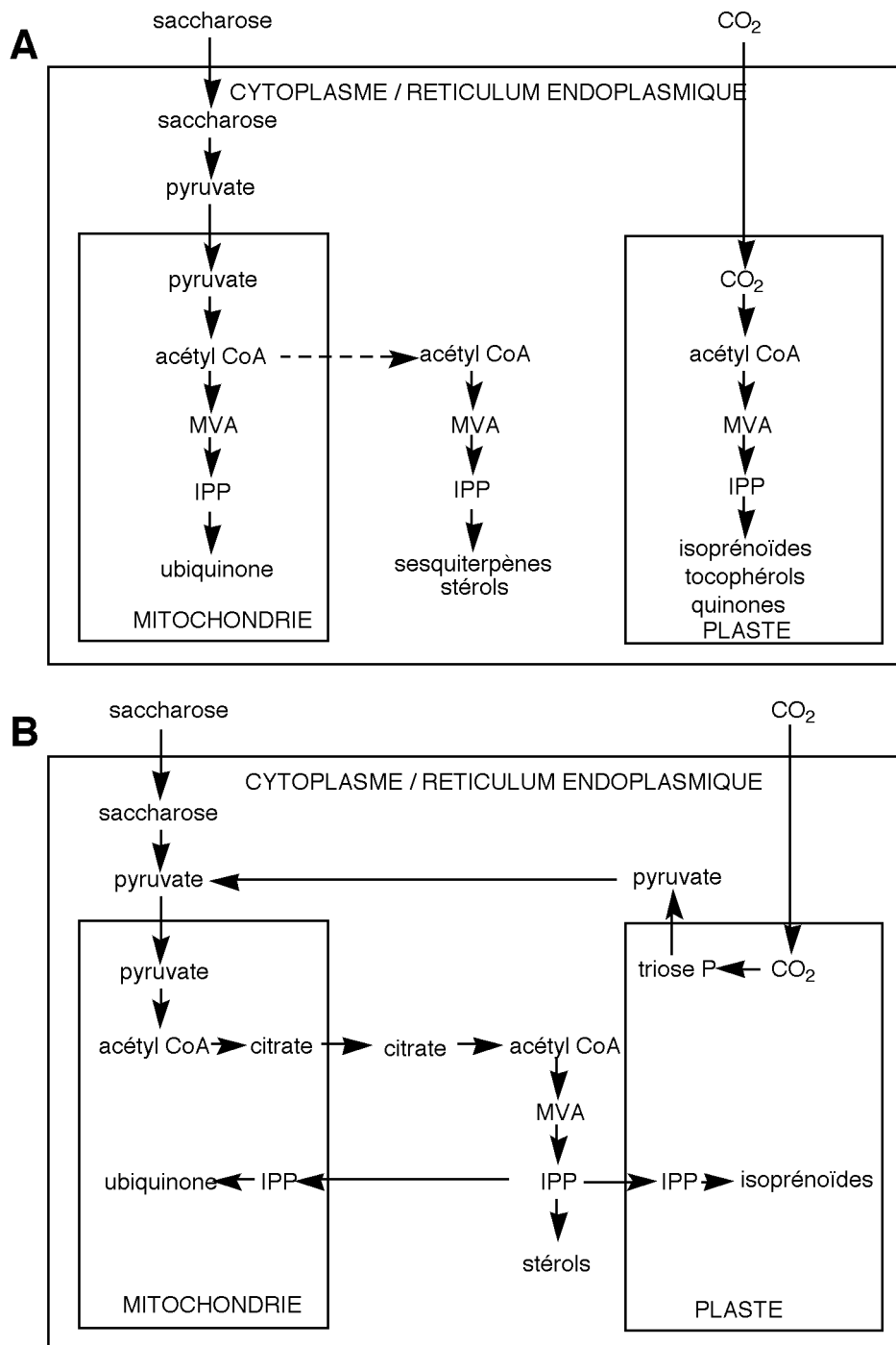


Fig. 2 : Compartmentation de la biosynthèse des isoprénoïdes dans la cellule végétale. A : modèle proposé par Goodwin (41) ; B : modèle retenu par Kreuz et Kleinig (44)

Les travaux menés sur le transport de l'IPP dans les plastes purifiés sont en faveur de cette dernière hypothèse, transport dans lequel sont vraisemblablement impliquées une ou plusieurs protéines (47).

Une théorie alternative a été proposée récemment par Heintze *et al.* (48-49). Seuls les chloroplastes immatures de la base foliaire d'Orge incorporent le $^{14}\text{CO}_2$ pour former des isoprénoïdes plastidiaux en passant par le pyruvate et l'acétyl CoA. Par contre, le chloroplaste mature a la faculté d'importer l'IPP à partir du cytoplasme, l'activité du métabolisme $\text{C}_3 \rightarrow \text{C}_2$ diminuant progressivement durant le développement de l'organite (figure 3).

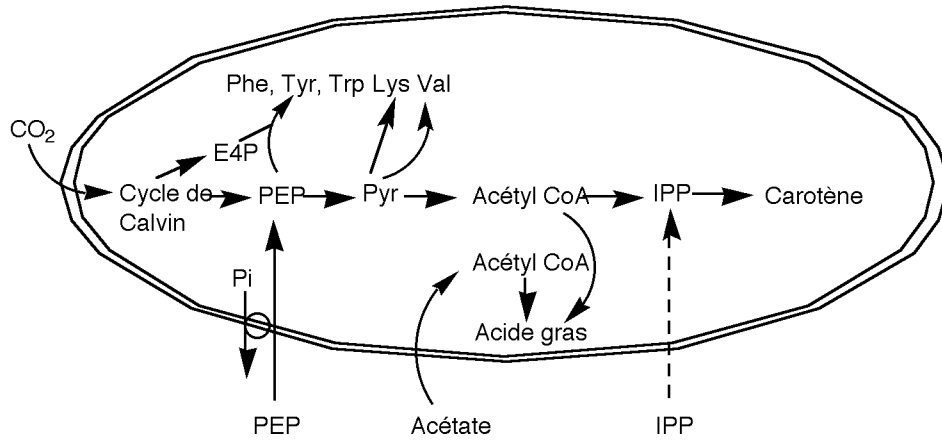
2 - Mécanisme chimique

La voie la plus couramment admise pour la synthèse de la molécule d'IPP consiste en la condensation de deux molécules d'acétyl CoA pour former de l'acétoacétyl CoA (figure 4).

Cette réaction est d'abord catalysée par une acétoacétyl CoA thiolase, couplée à une Fe(2)quinone (50). Puis l'HMG CoA synthétase catalyse la fixation d'une troisième molécule d'acétyl CoA qui donne le β -hydroxy- β -méthylglutaryl coenzyme A (HMG CoA). L'HMG CoA est aussi un substrat pour 2 autres enzymes spécifiques, l'HMG CoA lyase (HMGL) et la 3-méthylglutaconyl CoA hydratase (MGH) (51). Cette fixation d'un acétyl CoA sur un groupement carbonyle est semblable à la réaction permettant l'entrée de l'acétyl CoA dans le cycle de Krebs par condensation sur l'acide oxaloacétique. La réduction de la fonction acide (engagée dans une liaison thioester) en alcool est catalysée par l'HMG CoA réductase et donne l'acide mévalonique dont seule la forme (3R-CH₃) est active. Cette enzyme a été très étudiée ces dernières années et sa présence a été démontrée chez de nombreux végétaux supérieurs et inférieurs (52-54). Elle apparaît sous de nombreuses formes isoenzymatiques dont le déterminisme génétique fait intervenir 2 gènes chez *Arabidopsis thaliana* L., *Brassicaceae* (55).

Un groupement diphosphate va ensuite être fixé sur la fonction alcool primaire de l'acide mévalonique. Le mévalonate 5-diphosphate ainsi formé va réagir avec une troisième molécule d'ATP ; cette réaction fournit un composé instable qui se décompose spontanément en perdant la fonction alcool tertiaire et le groupement carbonyle libre. Ainsi est élaboré un dérivé à 5 atomes de carbone, le diphosphate d'isopentényle (IPP), qui est la forme biologiquement active de la molécule isoprénique (figure 4).

chloroplaste immature



chloroplaste mature

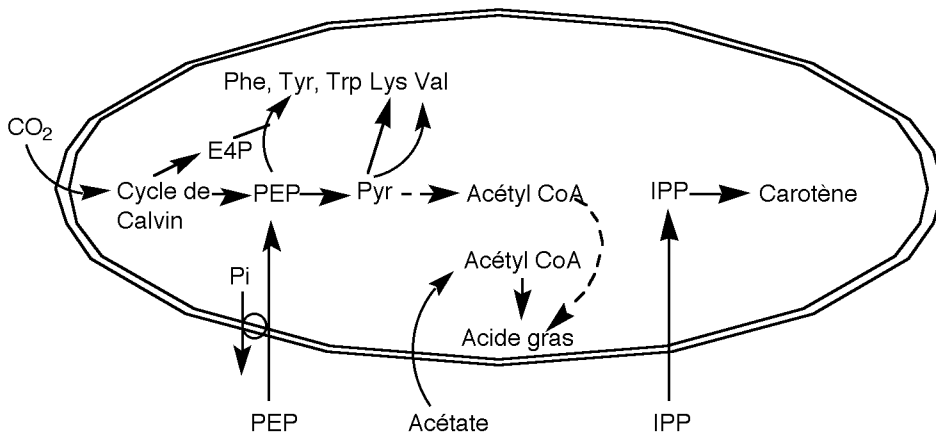


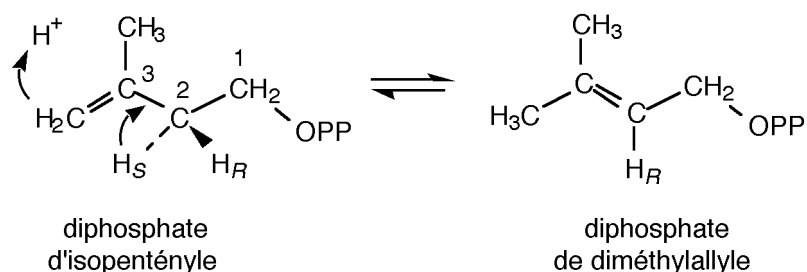
Fig 3 : Modèle illustrant la transition C3- \rightarrow C2 chez les chloroplastes immatures et matures (48).

ÉLONGATION DE LA CHAÎNE ISOPRÉNIQUE

Les systèmes enzymatiques situés en aval de l'acide mévalonique peuvent être rangés en deux grandes catégories : les systèmes hydrosolubles et les systèmes membranaires. Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones (figure 5). Les enzymes impliquées sont, d'une part, une isomérase et, d'autre part, une ou plusieurs prényltransférases.

1 - Isopentényl diphosphate isomérase

L'IPP est l'intermédiaire clé dans la formation des composés terpéniques. La première étape de la formation des diphosphates des prényles est l'isomérisation de l'IPP en diphosphate de diméthylallyle (DMAPP). Cette réaction est catalysée par une enzyme hydrosoluble, l'isopentényl diphosphate isomérase. Cette enzyme a été purifiée chez *Cinchona robusta* Howard (*Rubiaceae*) et se présente sous 2 formes dont les rôles métaboliques respectifs restent à préciser (⁵⁶). La stéréospécificité de l'isomérase s'exprime par le départ du proton H_S du C₂ de l'IPP (⁵⁷) :



Notons que dans la biosynthèse du caoutchouc, c'est l'inverse qui se produit, car on observe le départ du proton H_R (⁵⁸).

La réaction d'isomérisation est réversible mais elle est surtout favorisée dans le sens de la formation de DMAPP (⁵⁹).

Les trois compartiments, plastes, mitochondries et cytoplasme, peuvent convertir l'IPP en composés terpéniques (figure 2), impliquant que l'IPP isomérase est présente dans chacun d'eux (¹³). Cela a été montré pour les chloroplastes, chromoplastes et leucoplastes (⁶⁰⁻⁶²) et les mitochondries (⁶³).

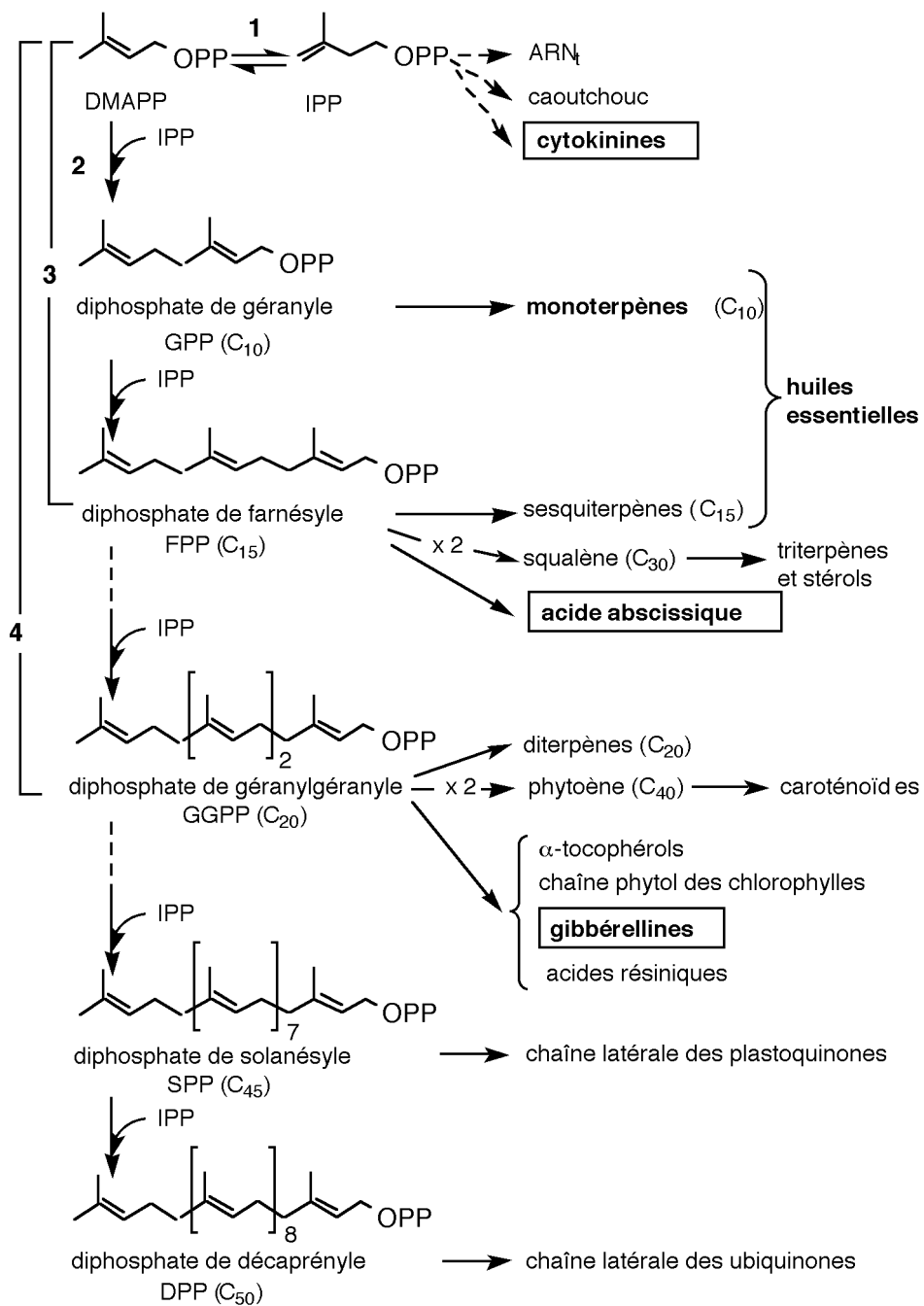


Fig. 5 : Mode d'élongation des processus terpéniques à partir du chaînon élémentaire, le diphosphate d'isopentényle (IPP) (8,52).

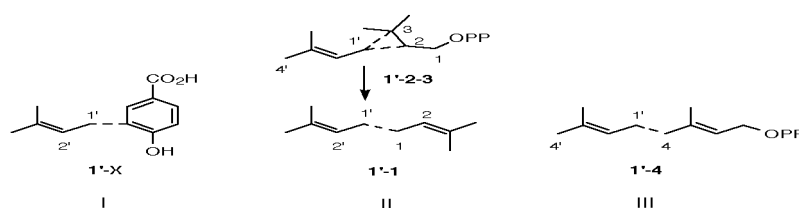
1 : isopentényl diphosphate isomérase

2 : géranyl diphosphate synthétase

3 : farnésyl diphosphate synthétase

4 : géranylgéranyl diphosphate synthétase

On peut distinguer trois types de réaction (13,64) : la condensation 1'-X (I) entre un diphosphate allylique et un composé non isoprénique (dans ce cas, on emploie le terme de prénylation) ; la condensation 1'-2-3 ou "tête-milieu" (II), conduisant, *via* un intermédiaire asymétrique, au squalène ou au phytoène ; enfin, la condensation 1'-4 ou "tête-queue" (III) entre un diphosphate allylique et un diphosphate non allylique, menant à une élongation linéaire de la chaîne isoprénique. C'est ce troisième type de réaction qui sera développé ici.



2 - Prényltransférases

Elles assurent la condensation de l'IPP avec les diphosphates allyliques (65). En fonction de la nature du substrat allylique impliqué dans la réaction de condensation, on distingue trois prényltransférases :

- la géranyl diphosphate synthétase. Elle catalyse la formation du diphosphate de géranyle (GPP), précurseur des monoterpènes, par la condensation de l'IPP et du DMAPP. Elle a été mise en évidence chez certains végétaux supérieurs (21,66). Toutefois, les préparations enzymatiques étaient contaminées par des activités FPP synthétases. La séparation de la GPP synthétase et de la FPP synthétase a été réalisée à partir de cultures de cellules de Raisin (*Vitis vinifera* L., *Vitaceae*) (67) et de feuilles de Géranium (*Pelargonium capitatum* Ait., *Geraniaceae*) (68-69).

- la farnésyl diphosphate synthétase. Elle réalise la condensation de l'IPP avec soit du DMAPP soit du GPP pour former du diphosphate de farnésyle (FPP). C'est une enzyme dimérique (70) qui a été la plus étudiée jusqu'à présent, de par son importance dans la voie de biosynthèse des stéroïdes et des prénylprotéines (1,71-72, etc.).

- la géranylgéranyl diphosphate synthétase. Elle permet l'élaboration du diphosphate de géranylgéranyl (GGPP) à partir de l'IPP et du DMAPP. Elle accepte comme autres substrats le GPP et le FPP.

3 - Localisation subcellulaire des prényltransférases

In vivo, la localisation des produits des réactions de prénylation a permis d'associer à un compartiment cellulaire une activité enzymatique spécifique (figure 6).

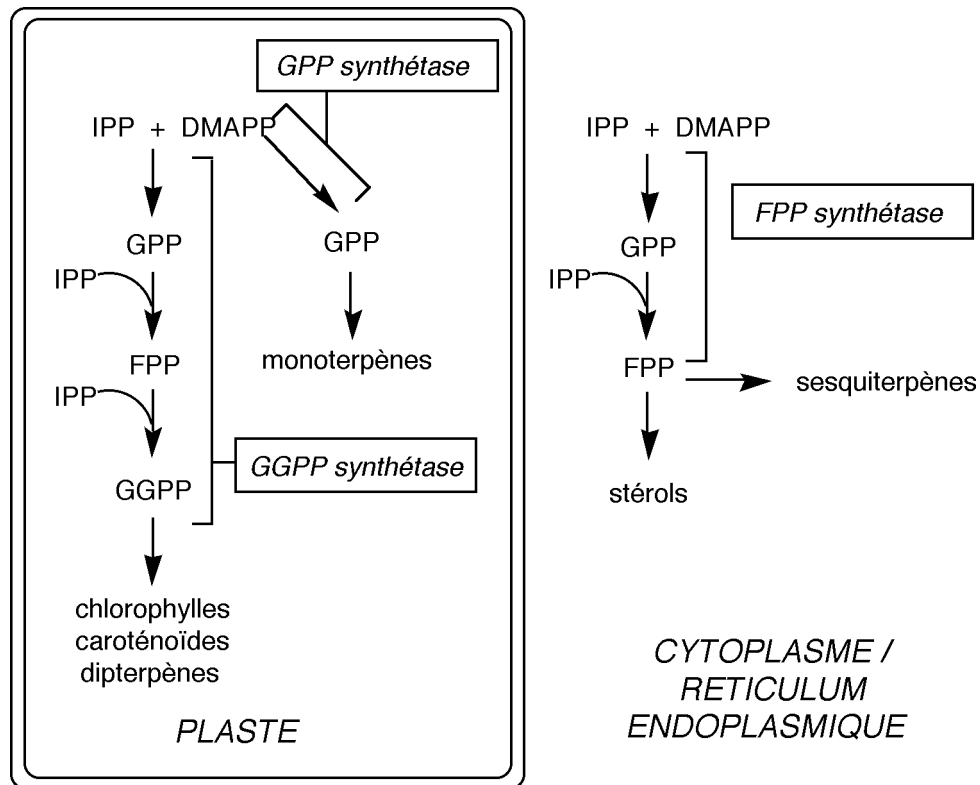


Fig. 6 : Localisation subcellulaire des prényltransférases dans la cellule végétale.

Chez *Citrofortunella mitis* ⁽⁶²⁾ et l'Oranger (*Citrus sinensis* Osbeck, *Rutaceae*) ⁽⁷³⁾, les auteurs ont observé dans des leucoplastes et des chromoplastes une synthèse de monoterpènes acycliques et cycliques à partir de l'IPP et du DMAPP. Ces composés sont également formés lorsqu'on incube des chromoplastes, isolés à partir de fleurs de Jonquille (*Narcissus pseudonarcissus* L., *Amaryllidaceae*), avec de l'IPP ⁽⁷⁴⁾. Les enzymes impliquées dans la biosynthèse sont solubles dans le stroma de l'organite.

Feron *et al.* ⁽⁶⁷⁾ isolent, à partir de cellules de Raisin, des membranes de type plastidial synthétisant exclusivement du GPP en présence d'IPP et de DMAPP. La poursuite de ces travaux a permis à Soler *et al.* ⁽⁷⁵⁾ de montrer pour la première fois qu'une GPP synthétase spécifique est localisée dans des plastes purifiés de cellules de Raisin "Muscat" cultivées *in vitro*.

L'absence d'une activité FPP synthétase dans les organites tels que les plastes et les mitochondries a conduit à l'hypothèse d'une enzyme principalement localisée dans le cytoplasme (74).

Le fait que des membranes de réticulum endoplasmique en présence d'[1-¹⁴C] acétate ou d'[1-¹⁴C]IPP soient capables de réaliser la biosynthèse des sesquiterpènes et des stéroïdes, démontre l'existence d'une FPP synthétase cytoplasmique (76).

Chez les plantes supérieures, le GGPP est le précurseur commun de la biosynthèse des diterpènes, caroténoïdes et des chaînes latérales des plastoquinones, tocophérols et chlorophylles (12-13). L'étude des sites de biosynthèse des pigments que sont les caroténoïdes et les chlorophylles (77) a conduit à établir leur origine au niveau des plastes.

Dogbo et Camara (78) ont isolé une GGPP synthétase à partir du stroma de chromoplastes du Poivron (*Capsicum annuum* L., *Solanaceae*). Le clonage de l'ADNc et son séquençage a permis la détermination de la séquence complète en acides aminés de cette enzyme (4).

L'utilisation d'une technique de cryofixation a apporté des informations nouvelles sur la localisation de l'enzyme, notamment dans les chloroplastes, et montré son association préférentielle avec les plastoglobules stromatique dont l'accumulation marque le début de la transition chloroplaste-chromoplaste (79).

RÉFÉRENCES

- 1 - Goldstein (J.L.), Brown (M.S.) - Regulation of the mevalonate pathway. - *Nature*, 1990, **343**, 425-430.
- 2 - Jennings (S.M.), Tsay (Y.H.), Fisch (T.M.), Robinson (G.W.) - Molecular cloning and characterization of the yeast gene for squalene synthetase. - *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, **88**, 6038-6042.
- 3 - Choi (D.), Ward (B.L.), Bostock (R.M.) - Differential induction and suppression of Potato 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase genes in response to *Phytophthora infestans* and to its elicitor arachidonic acid. - *Plant Cell*, 1992, **4**, 1333-1344.
- 4 - Kuntz (M.), Römer (S.), Suire (C.), Huguency (P.), Weil (J.H.), Schantz (R.), Camara (B.) - Identification of a cDNA for the plastid-located geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Capsicum annuum* : Correlative increase in enzyme activity and transcript level during fruit ripening. - *Plant J.*, 1992, **2**, 25-34.

- 5 - Colby (S.M.), Alonso (W.R.), Katahira (E.J.), McGarvey (D.J.), Croteau (R.) - 4S-Limonene Synthase from the Oil Glands of Spearmint (*Mentha spicata*) - cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of the catalytically active monoterpene cyclase. - *J. Biol. Chem.*, 1993, **268**, 23016-23024.
- 6 - Gershenzon (J.), Croteau (R.) - Regulation of monoterpene biosynthesis in higher plants. - *Rec. Adv. Phytochem.*, 1990, **24**, 99-160.
- 7 - Grayson (D.H.) - Monoterpenoids. - *Nat. Prod. Rep.*, 1990, **7**, 327-347.
- 8 - Singh (N.), Luthra (T.), Sangwan (R.S.), Thakur (R.S.) - Metabolism of monoterpenoids in aromatic plants. - *Curr. Res. Med. Aromat. Plants*, 1990, **11**, 174-196.
- 9 - Banthorpe (D.V.) - Classification of Terpenoids and General Procedures for their Characterization. - in Charlwood (B.V.) & Banthorpe (D.V.) *Methods in Plant Biochemistry. Vol. 7 Terpenoids*, London San Diego, Academic Press, 1991, pp. 1-41.
- 10 - Beale (M.H.) - Biosynthesis of C₅-C₂₀ Terpenoid Compounds. - *Nat. Prod. Rep.*, 1991, **8**, 441-454.
- 11 - Goodwin (T.W.) - Biosynthesis of carotenoids: An overview. - *Methods Enzymol.*, 1993, **214**, 330-340.
- 12 - Gray (J.C.) - Control of Isoprenoid Biosynthesis in Higher Plants. - *Adv. Bot. Res.*, 1987, **14**, 25-91.
- 13 - Kleinig (H.) - The role of plastids in isoprenoid biosynthesis. - *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1989, **40**, 39-59.
- 14 - Ruzicka (L.) - The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. - *Experientia*, 1953, **9**, 357-396.
- 15 - Arigoni (D.), Cane (D.E.), Shim (J.H.), Croteau (R.), Wagschal (K.) - Monoterpene cyclization mechanisms and the use of natural abundance deuterium NMR-short cut or primrose path ? - *Phytochemistry*, 1993, **32**, 623-631.
- 16 - Pyun (H.J.), Coates (R.M.), Wagschal (K.C.), McGeady (P.), Croteau (R.) - Regiospecificity and Isotope Effects Associated with the Methyl-Methylene Eliminations in the Enzyme-Catalyzed Biosynthesis of (R)- and (S)-Limonene. - *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 3998-4009.
- 17 - Bricout (J.) - *Recherches sur le fractionnement des isotopes stables de l'hydrogène et de l'oxygène dans quelques végétaux.* - Thèse Doct. État Univ. Paris VI, 1978.

- 18 - Nishizawa (A.), Honda (G.), Tabata (M.) - Genetic control of the enzymatic formation of cyclic monoterpenoids in *Perilla frutescens*. - *Phytochemistry*, 1992, **31**, 139-142.
- 19 - Gershenzon (J.), McCaskill (D.), Rajaonarivony (J.), Mihaliak (C.), Karp (F.), Croteau (R.) - Biosynthetic methods for plant natural products: new procedures for the study of glandular trichome constituents. - *Rec. Adv. Phytochem.*, 1991, **25**, 347-370.
- 20 - Dehal (S.S.), Croteau (R.) - Partial purification and characterization of two sesquiterpene cyclases from sage (*Salvia officinalis*) which catalyze the respective conversion of farnesyl pyrophosphate to humulene and caryophyllene. - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1988, **261**, 346-356.
- 21 - Croteau (R.), Purkett (P.T.) - Geranyl pyrophosphate synthase: Characterization of the enzyme and evidence that this chain-length specific prenyltransferase is associated with monoterpene biosynthesis in sage (*Salvia officinalis*). - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989, **271**, 524-535.
- 22 - Alonso (W.R.), Croteau (R.) - Purification and characterization of the monoterpene cyclase γ -terpinene synthase from *Thymus vulgaris*. - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1991, **286**, 511-517.
- 23 - Alonso (W.R.), Rajaonarivony (J.I.M.), Gershenzon (J.), Croteau (R.) - Purification of 4S-Limonene Synthase, a Monoterpene Cyclase from the Glandular Trichomes of Peppermint (*Mentha x piperita*) and Spearmint (*Mentha spicata*). - *J. Biol. Chem.*, 1992, **267**, 7582-7587.
- 24 - Gijzen (M.), Lewinsohn (E.), Croteau (R.) - Characterization of the constitutive and wound-inducible monoterpene cyclases of Grand Fir (*Abies grandis*). - *Arch. Biochem Biophys.*, 1991, **289**, 267-273.
- 25 - Alonso (W.R.), Crock (J.E.), Croteau (R.) - Production and characterization of polyclonal antibodies in Rabbits to 4S-limonene synthase from spearmint (*Mentha spicata*). - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1993, **301**, 58-63.
- 26 - Funk (C.), Croteau (R.) - Induction and characterization of a cytochrome P-450-dependent camphor hydroxylase in tissue cultures of common Sage (*Salvia officinalis*). - *Plant Physiol.*, 1993, **101**, 1231-1237.
- 27 - Gershenzon (J.), Maffei (M.), Croteau (R.) - Biochemical and Histochemical Localization of Monoterpene Biosynthesis in the Glandular Trichomes of Spearmint (*Mentha spicata*). - *Plant Physiol.*, 1989, **89**, 1351-1357.

- 28 - Gildemeister (E.) - Allgemeine Geschichte der ätherischen Öle - in Gildemeister (E.), *Die ätherischen Öle von E. Gildemeister und Fr. Hoffmann*, Leipzig, Schimmel & C^o, 1910, 2e ed., pp. 15-98.
- 29 - Wallach (O.) - Zur Kenntnis der Terpene und ätherischen Oele. - *Justus Lieb. Ann. Chem.*, 1887, **238**, 78-89.
- 30 - Lynen (F.), Eggerer (H.), Henning (U.), Kessel (I.) - Farnesylpyrophosphat und 3-Methyl- Δ^3 -butenyl-1-pyrophosphat, die biologischen Vorstufen des Squalens. Zur Biosynthese der Terpene. III. - *Angew. Chem.*, 1958, **70**, 738-742.
- 31 - Bloch (K.), Chaykin (S.), Phillips (A.H.), Waard (A.) - Mevalonic acid pyrophosphate and isopentenylpyrophosphate. - *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 2595-2604.
- 32 - Liedvogel (B.) - Acetyl Coenzyme A and Isopentenylpyrophosphate as Lipid Precursors in Plant Cells - Biosynthesis and Compartmentation. - *J. Plant Physiol.*, 1986, **124**, 211-222.
- 33 - Schulze-Siebert (D.), Heintze (A.), Schultz (G.) - Substrate flow from photosynthetic carbon metabolism to chloroplast isoprenoid synthesis in spinach. Evidence for a plastidic phosphoglycerate mutase. - *Z. Naturforsch., C: Biosci.*, 1987, **42**, 570-580.
- 34 - Bach (T.J.), Weber (T.), Motel (A.) - Some properties of enzymes involved in the biosynthesis and metabolism of β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA in plants. - in Towers (G.H.N.) & Stafford (H.A.) *Biochemistry of the Mevalonic Acid Pathway to Terpenoids*, New York, Plenum Press, 1990, pp. 1-82.
- 35 - Liedvogel (B.), Stumpf (P.K.) - Origin of acetate in spinach leaf cell. - *Plant Physiol.*, 1982, **69**, 897-903.
- 36 - Kuhn (D.N.), Knauf (M.), Stumpf (P.K.) - Subcellular localization of acetyl-CoA synthetase in leaf protoplasts of *Spinacia oleracea*. - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1981, **209**, 441-450.
- 37 - Liedvogel (B.) - Acetate concentration and chloroplast pyruvate dehydrogenase complex in *Spinacia oleracea* leaf cells. - *Z. Naturforsch.*, 1985, **40C**, 182-188.
- 38 - Schulze-Siebert (D.), Heineke (D.), Scharf (H.), Schultz (G.) - Pyruvate-derived amino acids in spinach chloroplasts. Synthesis and regulation during photosynthetic carbon metabolism. - *Plant Physiol.*, 1984, **76**, 465-471.
- 39 - McLaren (I.), Wood (C.), Jalil (M.N.H.), Yong (B.C.S.), Thomas (D.R.) - Carnitine acyltransferases in chloroplasts of *Pisum sativum* L. - *Planta*, 1985, **163**, 197-200.

- 40 - Kaethner (T.M.), Ap Rees (T.) - Intracellular location of ATP citrate-lyase in leaves of *Pisum sativum* L. . - *Planta*, 1985, **163**, 290-294.
- 41 - Goodwin (T.W.) - Regulation of terpenoid synthesis in higher plants. - in Pridham (J.B.) & Swain (J.) *Biosynthetic Pathways in Higher plants*, London, Academic Press, 1965, pp. 57-71.
- 42 - Rogers (L.J.), Shah (S.P.J.), Goodwin (T.W.) - The intracellular localization of mevalonate activating enzymes : Its importance in the regulation of terpenoid biosynthesis. - in Goodwin (T.W.) *Biochemistry of Chloroplasts Vol. II*, London New York, Academic Press, 1967, pp. 283-292.
- 43 - Schulze-Siebert (D.), Schultz (G.) - Full autonomy in isoprenoid synthesis in spinach chloroplasts. - *Plant Physiol. Biochem.*, 1987, **25**, 145-153.
- 44 - Kreuz (K.), Kleinig (H.) - Synthesis of prenyl lipids in cells of spinach leaf. Compartmentation of enzymes for formation of isopentenyl diphosphate. - *Eur. J. Biochem.*, 1984, **141**, 531-535.
- 45 - Lütke-Brinkhaus (F.), Kleinig (H.) - Carotenoid and chlorophyll biosynthesis in isolated plastids from Mustard seedling cotyledons (*Sinapis alba* L.) during etioplast-chloroplast conversion. - *Planta*, 1987, **170**, 121-129.
- 46 - Lütke-Brinkhaus (F.), Kleinig (H.) - Formation of isopentenyl diphosphate *via* mevalonate does not occur within etioplasts and etiochloroplasts of mustard (*Sinapis alba* L.) seedlings. - *Planta*, 1987, **171**, 406-411.
- 47 - Soler (E.), Clastre (M.), Bantignies (B.), Marigo (G.), Ambid (C.) - Uptake of isopentenyl diphosphate by plastids isolated from *Vitis vinifera* L. cell suspensions. - *Planta*, 1993, **191**, 324-329.
- 48 - Heintze (A.), Gorchach (J.), Leuschner (C.), Hoppe (P.), Hagelstein (P.), Schulze-Siebert (D.), Schultz (G.) - Plastidic isoprenoid synthesis during chloroplast development. - *Plant Physiol.*, 1990, **93**, 1121-1127.
- 49 - Heintze (A.), Preiss (M.), Riedel (A.), Schultz (G.) - Pyruvate and acetyl-CoA as intermediates in isoprenoid synthesis of immature chloroplasts. - *2nd Symposium of the European Network on Plant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994.
- 50 - Vollack (K.U.), Weber (T.), Zeiler (S.), Raudot (V.), Bach (T.J.) - Further studies on the Fe(II)/quinone-stimulated enzymatic conversion of acetyl-CoA into 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA in radish. - *2nd Symposium of the European Network on Plant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994.

- 51 - Van der Heijden (R.), Verpoorte (R.), Duine (J.A.) - Metabolic enzymes of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A in *Catharanthus roseus*. - *2nd Symposium of the European Network on Pant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994.
- 52 - Bach (T.J.) - Synthesis and metabolism of mevalonic acid in plants. - *Plant Physiol. Biochem.*, 1987, **25**, 163-178.
- 53 - Ji (W.), Hatzios (K.K.), Cramer (C.L.) - Expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in Maize tissues. - *Physiol. Plant.*, 1992, **84**, 185-192.
- 54 - Moore (K.B.), Oishi (K.K.) - Characterization of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity during Maize seed development, germination, and seedling emergence. - *Plant Physiol.*, 1993, **101**, 485-491.
- 55 - Boronat (A.), Balcells (L.), Campos (N.), Enjuto (M.), Lumbreras (V.), Marín (C.), Arró (M.), Becerra (B.), Ferrer (A.) - Molecular biology of *Arabidopsis thaliana* 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. - *2nd Symposium of the European Network on Pant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994.
- 56 - Ramos-Valdivia (R.), Van der Heijden (R.), Camara (B.), Verpoorte (R.), Purification and characterization of isopentenyl pyrophosphate isomerase from elicitor-treated *Cinchona robusta* cell suspension cultures. - *2nd Symposium of the European Network on Pant Terpenoids*, Strasbourg, January 23-27, 1994.
- 57 - Cane (D.E.), Abell (C.), Harrison (P.H.M.), Hubbard (B.R.), Kane (C.T.), Lattman (R.), Oliver (J.S.), Weiner (S.W.) - Terpenoid biosynthesis and the stereochemistry of enzyme-catalyzed allylic addition-elimination reactions. - *Philos. Trans. R. Soc. London, B*, 1991, **332**, 123-129.
- 58 - Archer (B.L.) - Polyisoprene. - in Bell (E.A.) & Charlwood (B.V.) *Secondary plant product*, Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag, 1980, pp. 309-327.
- 59 - Lützow (M.), Beyer (P.) - The isopentenyl-diphosphate Δ -isomerase and its relation to the phytoene synthase complex in Daffodil chromoplasts. - *Biochem. Biophys. Acta*, 1988, **959**, 118-126.
- 60 - Block (M.A.), Joyard (J.), Douce (R.) - Site of synthesis of geranylgeraniol derivatives in intact spinach chloroplasts. - *Biochim. Biophys. Acta*, 1980, **631**, 210-219.
- 61 - Camara (B.), Bardat (F.), Monéger (R.) - Sites of biosynthesis of carotenoids in *Capsicum* chromoplasts. - *Eur. J. Biochem.*, 1982, **127**, 255-258.

- 62 - Gleizes (M.), Pauly (G.), Carde (J.P.), Marpeau (A.), Bernard-Dagan (C.) - Monoterpene hydrocarbon biosynthesis by isolated leucoplasts of *Citrofortunella mitis*. - *Planta*, 1983, **159**, 373-381.
- 63 - Lütze-Brinkhaus (F.), Liedvogel (B.), Kleinig (H.) - On the biosynthesis of ubiquinones in plant mitochondria. - *Eur. J. Biochem.*, 1984, **144**, 537-541.
- 64 - King (C.H.R.), Poulter (C.D.) - Model Studies of Terpene Biosynthesis. Intermolecular 1'-2 Electrophilic Condensation of 3-Methyl-2-butenyl Acetate. - *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 1413-1420.
- 65 - Rilling (H.C.) - Prenyltransferase. - *Pure Appl. Chem.*, 1979, **51**, 597-608.
- 66 - Heide (L.), Berger (U.) - Partial purification and properties of geranyl pyrophosphate synthase from *Lithospermum erythrorhizon* cell cultures. - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989, **273**, 331-338.
- 67 - Feron (G.), Clastre (M.), Ambid (C.) - Prenyltransferase compartmentation in cells of *Vitis vinifera* cultivated in vitro. - *FEBS Lett.*, 1990, **271**, 236-238.
- 68 - Suga (T.), Endo (T.) - Geranyl diphosphate synthase in leaves of *Pelargonium roseum*. - *Phytochemistry*, 1991, **30**, 1757-1761.
- 69 - Endo (T.), Suga (T.) - Demonstration of geranyl diphosphate synthase in several higher plants. - *Phytochemistry*, 1992, **31**, 2273-2275.
- 70 - Hugueney (P.), Camara (B.) - Purification and characterization of farnesylpyrophosphate synthase from *Capsicum annum*. - *FEBS Lett.*, 1990, **273**, 235-238.
- 71 - Glomset (J.A.), Gelb (M.H.), Farnsworth (C.G.) - Prenyl proteins in eukaryotic cells : a new type of membrane anchor. - *Trends Biochem. Sci.*, 1990, **15**, 139-142.
- 72 - Davisson (V.J.), Neal (T.R.), Poulter (C.D.) - Farnesyl-Diphosphate Synthase. Catalysis of an Intramolecular Prenyl Transfer with Bisubstrate Analogs. - *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 1235-1245.
- 73 - Pérez (L.M.), Pauly (G.), Carde (J.P.), Belingheri (L.), Gleizes (M.) - Biosynthesis of limonene by isolated chromoplasts from *Citrus sinensis* fruits. - *Plant Physiol. Biochem.*, 1990, **28**, 221-229.
- 74 - Mettal (U.), Boland (W.), Beyer (P.), Kleinig (H.) - Biosynthesis of monoterpene hydrocarbons by isolated chromoplasts from daffodil flowers. - *Eur. J. Biochem.*, 1988, **170**, 613-616.

- 75 - Soler (E.), Feron (G.), Clastre (M.), Dargent (R.), Gleizes (M.), Ambid (C.) - Evidence for a geranyl-diphosphate synthase located within the plastids of *Vitis vinifera* L. cultivated in vitro. - *Planta*, 1992, **187**, 171-175.
- 76 - Belingheri (L.), Pauly (G.), Gleizes (M.), Marpeau (A.) - Isolation by an aqueous two-polymer phase system and identification of endomembranes from *Citrofortunella mitis* fruits for sesquiterpene hydrocarbon synthesis. - *J. Plant Physiol.*, 1988, **132**, 80-85.
- 77 - Dogbo (O.), Bardat (F.), Laferriere (A.), Quennemet (J.), Brangeon (J.), Camara (B.) - Metabolism of plastid terpenoids. I. Biosynthesis of phytoene in plastid stroma isolated from higher plants. - *Plant Sci.*, 1987, **49**, 89-101.
- 78 - Dogbo (O.), Camara (B.) - Purification of isopentenyl pyrophosphate isomerase and geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Capsicum* chromoplasts by affinity chromatography. - *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, **920**, 140-148.
- 79 - Cheniclet (C.), Rafia (F.), Saint-Guily (A.), Verna (A.), Carde (J.P.) - Localization of the enzyme geranylgeranylpyrophosphate synthase in *Capsicum* fruits by immunogold cytochemistry after conventional chemical fixation or quick-freezing followed by freeze-substitution. Labelling evolution during fruit ripening. - *Biol. Cell*, 1992, **75**, 145-154.

ABSTRACT

Monoterpene biogenesis II - The terpenic chain

The isopentenyl diphosphate (IPP) is the active isoprene. Several models have been proposed to establish its biosynthesis site. The 3 compartments, cytoplasm, mitochondria and plastids, can convert the IPP in terpenic compounds. The enzymatic systems responsible for this conversion are hydrosoluble or membranous.

Key-words : mevalonic acid, isopentenyl diphosphate, prenyltransferase, compartmentation.
