

## KEMAJUAN PENELITIAN BIOSINTESIS MONOTERPENA DAN PERANAN *Terpene Cyclase*: Suatu Kajian Pustaka

### PROGRESS OF RESEARCH BIOSYNTHESIS MONOTERPENE AND THE ROLE *Terpene Cyclase*: A Review

Mario Nikolaus Dalengkade<sup>1</sup>, Ferry Fredy Karwur<sup>2\*</sup>

<sup>1)</sup> Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana

<sup>2)</sup> Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Kristen Satya Wacana

Email: ferry.karwur@staff.uksw.edu

Diterima 27 April Disetujui 27 Desember 2018

#### INTISARI

Perpanjangan rantai, pemutusan ikatan- $\pi$ , dan penataan kembali ikatan C dari suatu reaksi kompleks oleh siklase menciptakan substrat universal untuk biosintesis C<sub>10</sub>. Dari substrat tersebut mengakibatkan melimpahnya C<sub>10</sub> di alam. Sehingga disepakati oleh peneliti sebagai postulat. Kajian-kajian mekanika dan genetik juga membuktikan postulat tersebut. Selain itu keterlibatan ion-ion logam sebagai pengikat berperang penting dalam biosintesis C<sub>10</sub> dan pengaturannya.

*Kata kunci: C<sub>10</sub>-synthase, gen, divalent/monovalent*

#### ABSTRACT

Chain extension, bond- $\pi$  termination, and rearrangement of C bonds from complex reactions by cyclase create a universal substrate for C<sub>10</sub> biosynthesis. From this substrate it consumes abundant C<sub>10</sub> in nature. Approved by the researcher as a postulate. Mechanical and genetic studies also prove the postulate. In addition, metal ions as a binder play an important role in C<sub>10</sub> biosynthesis and its regulation.

*Keywords: C<sub>10</sub>-synthase, gen, divalent/monovalent*

#### PENDAHULUAN

Ditemukannya ke-12 jenis tumbuhan antara lain *Myristica fragrans* dan *Cananga odorata* sebagai penghasil minyak atsiri, sehingga Indonesia dapat memproduksi minyak atsiri yang bernilai ekonomi di dunia (Departemen Perdagangan Republik Indonesia, 2011; Oyen dan Dung, 1999). Dalam tulisan Hofberger *et al*, (2015) minyak atsiri adalah golongan senyawa terpena dengan monomer berupa unit isoprena (C<sub>5</sub>) berjumlah 200.000, dan dipisahkan menjadi C<sub>10</sub> sampai C<sub>40</sub>.

Jones *et al*, (2008) melaporkan kandungan dalam *Santalum album* L. antara lain  $\alpha$ -pinene, sabinene, dan limonene merupakan golongan senyawa terpena yakni C<sub>10</sub> sebagai pembangun minyak atsiri. Karena C<sub>10</sub> bervariasi, sehingga Devon dan Scott, (1972) memetakan berdasarkan hasil rekayasa genetik menjadi 380 spesies dari 15 famili adalah sebagai berikut; rantai lurus C<sub>5</sub> (reguler dan ireguler), C<sub>10</sub> sikloheksana, C<sub>10</sub> untuk 3-siklik, C<sub>10</sub> alkaloid, C<sub>10</sub> siklopentana, mentana, C<sub>10</sub> siklopentana. Menilik kembali mengenai minyak atsiri, teka-teki yang menantang yakni, “bagaimana beragam tumbuhan penghasil minyak esensial menghasilkan begitu beragamnya senyawa monoterpena?” Dalam tulisan ini,

akan mengkaji kembali C<sub>10</sub> pada lingkupan perubahan rantai C disebabkan oleh karakteristik siklase.

#### ALUR KONVENSIONAL BIOSINTESIS MONOTERPANA

Biosintesis C<sub>10</sub> yang telah diuraikan oleh Mahmoud dan Croteau (2002); Dudareva *et al*, (2004) yakni: 1) penyusunan kedua C<sub>5</sub>/3-methylbut-3-enyl phosphonohydrogen phosphate (IPP dengan DMAP), 2) Penyatuan IPP dengan DMAP, guna membentuk geranyl pirofosfat (GPP; C<sub>10</sub>); 3) Oleh enzim GPP dirubah ke bentuk utama sub-anggota C<sub>10</sub>; 4) Pengalihan bentuk utama ke sub-keluarga C<sub>10</sub> oleh enzim ke berbagai senyawa turunan.

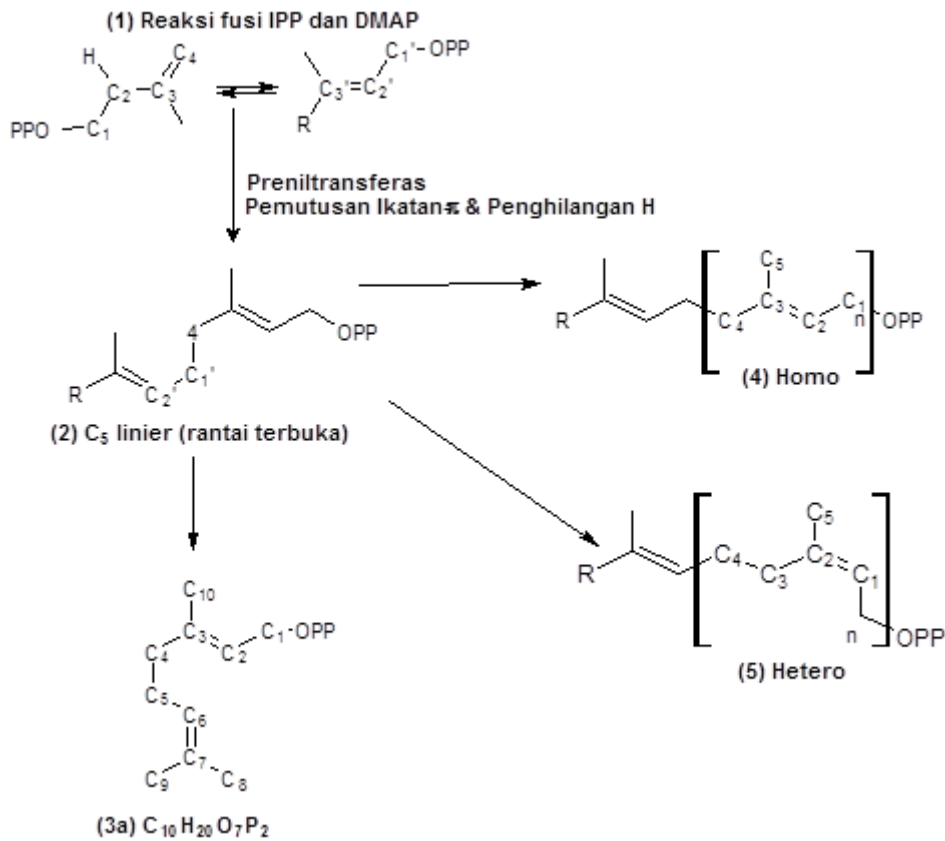
#### BIOSINTESIS IPP DAN DMAP

Mahmoud dan Croteau (2002); Banerjee dan Sharkey (2014) mengemukakan IPP maupun DMAP sebagai isomernya ialah hasil lintasan 3,5-Dihydroxy-3-methylvalerate (MVA), dan Methyl-D-erythritol phosphate disodium salt (MEP). Sharkey *et al*, (2008);

Rohmer *et al*, (1996); Rodríguez-Concepción dan Boronat (2002) menyimpulkan bahwa, dalam MEP terdapat 7 strata reaksi enzimatik. Berpangkal di 1-deoxy-d-xylulose-5-phosphate sodium salt (IspC) mengkatalisis 2-oxidanylidenepropanoate dan triose phosphate (GAP) membentuk deoxyxylulose-5-phosphate (DXP). Setelah itu mengalami redoks akibat IspCase memunculkan MEP lalu dibentuk 4-(cytidine 5'-diphospho)-ME (C2P-ME) oleh MEP-transferase (YgbP), sesudah itu memanfaatkan adenosina trifosfat dengan bantuan 2-phosphotransferase (IspE) menampilkan 2-phospho-4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-methyl-D-erythritol (IspF). Di dua rekasi akhir transfigurasi terlaksana, karena dibantu protein constitutif subtilisin 3 (GcpE) dan protein kloroplas biogenesis 6 (LytB) untuk mencetak IPP dan DMAP.

**REKAYASA Geranil Difosfat (GPP)**

Laporan Jo Davisson *et al*, (1985); Cane (1979); Poulter *et al*, (1981); Poulter dan Rilling (1978) yakni reaksi fusi antar atom 1'-4 berlangsung dalam sistem alil (1), kemudian oleh prenyltransferase diubah menjadi GPP asiklik (2) yang merupakan substrat awal pembentukan beragam C<sub>10</sub>. Peneliti lain adalah Poulter dan Rilling (1978); Popjak dan Cornforth (1966); Holloway dan Popjak (1968); Bouvier *et al*, (2000); Burke dan Croteau (2002) menyempurkan laporan tersebut yakni selama reaksi katalis berlangsung, secara geometri mengalami perubahan menjadi cis (4) dan trans (5) (homodimer serta heterodimer) untuk C<sub>5</sub>.



Gambar 1. Fusi antar atom C dan Geometri GPP (sumber modifikasi dari: Poulter, C.D., P.L. Wiggins., A.T. Le. 1981).

Poulter dan Rilling (1976) melaporkan bahwa terdapat energi penggerak sebesar 28 kcal/mol yang mampu memutar ikatan alilik C-C, sehingga menyebabkan perubahan geometri GPP rantai terbuka (2) menjadi ikatan benzena GPP-asiklik (3a & b), dan memiliki kestabilan molekul (struktur ikatan valensi). Thulasiram *et al*, (2007) dalam percobaannya menemukan pengikatan antar atom yakni siklobutana dan siklopropana.

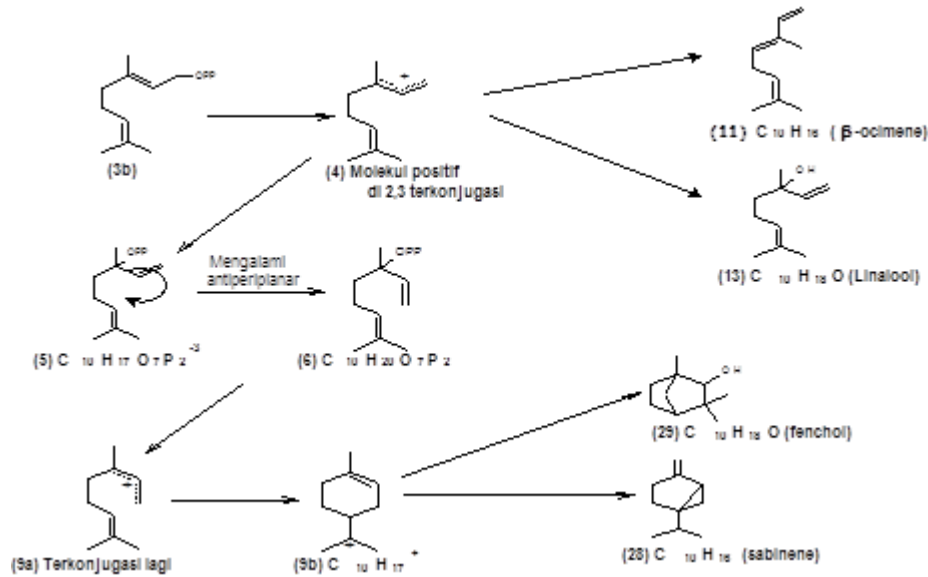
**DARI GPP KE SUB-KELUARGA MONOTERPENA**

Penyebab utama C<sub>10</sub> sangat banyak karena siklase (berdasarkan sifatnya) mampu memproduksi senyawa turunan dan dikelompokan atas fungsi yakni asiklik atau bisiklik, dan monosiklik (Cane *et al*, 1991; Croteau *et al*, 2005; Noma dan Asakawa, 2010).

**CARA GPP MEMBUAT BERAGAM MONOTERPENA**

Faktor utama kenapa C<sub>10</sub> begitu melimpah, karena terdapat dua molekul yang tidak stabil dengan waktu paruh pendek yakni LPP- transoid (linalil pirofosfat) (5) dan NPP- cisoid (neril pirofosfat) (6) adalah hasil reaksi ionisasi serta

isomerisasi dari *prenyltransferase* yang bermula di GPP. Peneliti terdahulu seperti Rojas *et al*, (1983); Croteau (1987) menyatakan pembentukan GPP, LPP, NPP merupakan postulat, semakin menguatkan ialah hasil percobaan Zhang dan Tiefenbacher (2015) membenarkan mengenai postulat tersebut.



Gambar 2. Postulat dan varietas C<sub>10</sub> (Sumber modifikasi dari : Croteau. R. 1987).

Pengembangan penelitian biosintesis C<sub>10</sub> terus dilakukan sejak, Croteau (1986) sampai sekarang Hyatt *et al*, (2016) melaporkan bahwa keberhasilan pembuatan substrat analog dan proses kristalisasi 2-fluorin-GPP dan 2-fluorin-LPP sukses memunculkan *fluorocineole*, *fluorobornanes*, *fluorinated olefins*, serta *fluorolimonene*. Pihak lain yaitu Karp *et al*, (2007) menyampaikan pada kisaran 6–79 μmol.L<sup>-1</sup> berfungsi sebagai penghambat dari penggunaan fluoranalog.

**MOLEKUL KOMPLEKS MONOTERPENA SIKLASE**

Kajian genetik yang berhasil dirampung oleh Bolhmann *et al*, (1998) sukses memetakan golongan senyawa terpena yakni *Tpsa-Tpsf*. Baru-baru ini penelitian MEP dari Jones *et al*, (2008); Martin dan Bohlmann (2004); Lückner *et al*, (2002); Yang *et al*, (2005); Williams *et al*, (1998); Cane (1999); MacMillan dan Beale (1999); Wise dan Croteau (1999) yakni ke semua hasil cDNA *SamonoTPS1*, *VVTPS*, *CLLS*, *CTGS* merujuk pada *Tpsb*, karena memamerkan gen C<sub>10</sub> untuk *α-terpineol*, *limonene*. Mereka menemukan untaian 323–327 dan 34–32 berperan sebagai aktivitas siklase yang kaya aspartat bercorak DDXXDD, serta gen reporter RRX<sub>8</sub>W berdasarkan sifat gugus bebas menunjukkan ujung struktur primer protein ialah amino-terminus. Pemerisaan lanjutan menggunakan metode pemanjangan dan pemotongan klon cDNA memberikan fakta bahwa amino-terminus berfungsi sebagai perpindahan gugus pirofosfat untuk membuat tiga substrat

universal yakni C<sub>10</sub>, seskuiterpena/C<sub>15</sub> (FPP), dan diterpena/C<sub>20</sub> (GGPP) dalam biosintesis semua terpena. Oleh peneliti terdahulu Bolhmann *et al*, (1998); Lesburg *et al*, (1997); Tarshis *et al*, (1994); Williams *et al*, (1998) sepakat menyatakan corak tersebut membuktikan terdapat protein dengan tugas khusus, untuk semua terpena *synthase* mengionisasi gugus pirofosfat di substrat awal (3a) karena mengikat unsur Mn<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>. Tapi gen-gen reporter tersebut tidak berlaku untuk semua sekuen protein cDNA C<sub>10</sub>-*synthase*.

Rekayasa C<sub>10</sub> dari hasil penelitian Lückner *et al*, (2002); Starks *et al*, (1997); Rynkiewics *et al*, (2001); Tarshis *et al*, (1994); Lesburg *et al*, (1997) menjelaskan pendayagunaan unsur logam amat substansial, karena sebagai pengaktif siklase. Ini dibuktikan dengan investigasi menyeluruh *Citrus limonum*, lebih menyukai Mn<sup>2+</sup> dari pada Mg<sup>2+</sup>. Disamping itu efisiensi logam divalent/monovalent menjelaskan bahwa, fraksi Mn<sup>2+</sup> berikatan dengan siklase meyebabkan perubahan aktivitas enzim disebabkan perubahan gugus alil karena kesalahan pengklonan gen *Citrus limonum*. Data-data kristalografi menunjukkan struktur tiga dimensi polipeptida dari *trichodiene-forming* dan *ophiobolin-F-forming* menampakan kesamaan corak dengan *SamonoTPS1* serta terdapat permukaan akti dari GPP untuk mengikat siklase dengan gaya yang relatif lemah untuk membentuk molekul kompleks dari GPP siklase. Penjabaran mengenai molekul C<sub>10</sub> dapat disimpulkan bahwa terdapat kesamaan corak dan pemanfaatan senyawa logam.

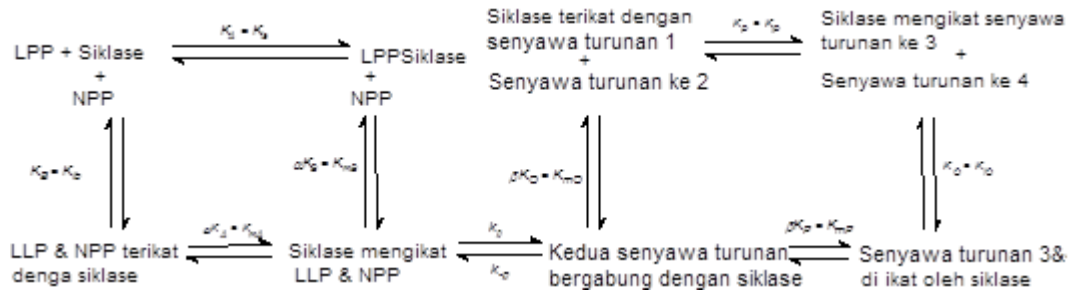
**PEMBAHASAN**

Uraian molekuler C<sub>10</sub> diatas Segel (1968); Chayet *et al*, (1984); Croteau (1986); Poulter *et al*, (1981) mencoba menjelaskan mengenai siklase dari sisi mekanik, dengan memisalkan LPP, NPP, siklase, dan produk turunannya.

Ketika LPP terikat dengan siklase, maka membentuk suatu senyawa kompleks (LLP-siklase). Kemudian LPP-siklase di ikat oleh NPP sehingga membentuk prekursor

kompleks (pada gambar 3 yakni kompleksitas siklase mengikat LPP). Enzim kompleks berlaku sama untuk NPP. Lazimnya secara mekanik guna memperoleh senyawa turunan C<sub>10</sub> yakni pertama-tama dengan menurunkan kecepatan reaksi (persamaan 1)

$$v = k_p [EAB] \dots \dots \dots (1)$$



Gambar 3. Alur mekanika siklase guna menghasilkan keragaman C<sub>10</sub>. Ketrangan lainnya : konstanta disosiasi (K<sub>A</sub>, K<sub>B</sub>, αK<sub>A</sub>, αK<sub>B</sub>) dan tingkat kejenuhan LPP serta NPP (αK<sub>A</sub> (K<sub>mA</sub>) dan αK<sub>B</sub> (K<sub>mB</sub>)) (Sumber : Segel, I.H. 1968)

Tahapan akhir yakni setelah LPP dan NPP berikatan dengan siklase, baik kecepatan reaksi, konstanta kesetimbangan, dan penurunan aktivitas enzim untuk sistem yang kompleks dapat dicari dengan persamaan (2).

$$\frac{v}{[E]_i} = \frac{k_p [EAB]}{[E] + [EA] + [EB] + [EAB]} \dots \dots \dots (2)$$

Karena setiap jenis siklase memiliki perbedaan sifat, maka terdapat perbedaan konsentrasi dalam sintesis C<sub>10</sub>. Untuk mencari nilai konsentrasi dapat diselesaikan dengan persamaan (3a).

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[A][B]}{\alpha K_A K_B + 1 + \frac{[A]}{K_A} + \frac{[B]}{K_B} + \frac{[A][B]}{\alpha K_A K_B}} \dots \dots \dots (3a)$$

Bentuk lain dari persamaan (3a) yakni persamaan (3b)

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[A][B]}{\alpha K_A K_B + \alpha K_B [A] + \alpha K_A [B] + [A][B]} \dots \dots \dots (3b)$$

Dengan catatan kecepatan maksimum berbanding lurus dengan konstanta disosiasi produk di kali penghabatan enzim :  $V_{max} = k_p [E]_i$

Pemecahan perbedaan kecepatan reaksi dari prekursor kompleks yakni persamaan (3) disusun menjadi persamaan (4).

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[A]}{\alpha K_A \left(1 + \frac{K_B}{[B]}\right) + [A] \left(1 + \frac{\alpha K_B}{[B]}\right)} \dots \dots \dots (4)$$

Apabila yang dicari adalah nilai dari LPP, maka kecepatan NPP perlu diketahui dengan  $V_{max}$  dan  $K_{maopp}$  adalah tetapan konstanta [NPP]. Asalkan  $NPP = \infty$  dan konstanta disosiasi = 0, maka dapat diselesaikan menggunakan persamaan (5).

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[A]}{K_{maopp} + [A]} \dots \dots \dots (5)$$

**SIMPULAN**

Terobosan terbesar untuk memahami molekul C<sub>10</sub> secara mendetail telah berhasil yakni dengan cara mengkonstruksi substrat asli sehingga menghasilkan substrat analog. Rekayasa substrat analog sukses memproduksi berbagai senyawa C<sub>10</sub> secara efisien, dan dengan dukungan kajian mekanika mampu menjelaskan kompleksitas multireaksi siklase. Sehingga para peneliti (yang berkecimpung dalam dunia sintesis C<sub>10</sub>) mengetahui apabila terjadinya kesalahan substrat/siklase dan mutasi pada tingkatan genetik. Walaupun terobosan begitu pesat, tapi di Indonesia belum sampai pada tingkatan molekuler dan genetik C<sub>10</sub>.

## UCAPAN TERIMAH KASIH

Terima kasih kepada Kemendikbud atas bantuan dana guna melanjutkan studi magister.

## KEPUSTAKAAN

- Banerjee. A., T.D. Sharkey. 2014. Methylerythritol 4-phosphate (MEP) Pathway Metabolic Regulation (Review). *Nat. Prod. Rep.* 31:1043-1055.
- Bolhmann. J., G. Meyer-Gauen., R. Croteau. 1998. Plant Terpenoid Synthases: Molecular Biology and Phylogenetic Analysis. *PNAS.* 95:4126-4133.
- Bouvier. F., C. Suire., A. dHarlingue., R.A. Backhaus., B. Camara. 2000. Molecular Cloning of Geranyl Diphosphate Synthase and Compartmentation of Monoterpene Synthesis in Plant Cell. *J. Plant.* 24:241-252.
- Burke. C., R. Croteau. 2002. Geranyl Diphosphate Synthase From *Abies grandis*: cDNA Isolation, Functional Expression, and Characterization. *Arch. Biochem. Biophys.* 405:130-136.
- Cane. D. 1979. The Stereochemistry of Allylic Pyrophosphate Metabolism. *Tetrahedron.* 36:1109-1159.
- Cane. D.E. 1999. Sesquiterpene Biosynthesis: Cyclization Mechanisms. In: Cane. D.E. (Ed.). *Comprehensive Natural Products Chemistry: Isoprenoids, Including Carotenoids and Steroids.* pp. 155-200. Pergamon Press: Oxford.
- Cane. D.E., C. Abell., P.H.M. Harrison., B.R. Hubbard., C.T. Kane., R. Lattman., J.S. Oliver., S.W. Weiner. 1991. Terpenoid Biosynthesis and the Stereochemistry of Enzyme-Catalysed Allylic Addition Elimination Reactions. *The Royal Society.* 332:123-129.
- Chayet. L., M.C. Rojas., O. Cori., C.A. Bunton., D.C. McKenzie. 1984. Complexes of Bivalent Cations with Neryl and Geranyl Pyrophosphate: Their Role in Terpene Biosynthesis. *Bioor. Chem.* 12:329-338.
- Croteau. R. 1986. Evidence for the Ionization Steps in Monoterpene Cyclization Reactions Using 2-Fluorogeranyl and 2-Fluorolinalyl Pyrophosphates as Substrates. *Arch. Biochem. Biophys.* 251:777-782.
- Croteau. R. 1987. Biosynthesis and Catabolism of Monoterpenoids. (Review). *Am. Chem. Soc.* 87:929-954.
- Croteau. R.B., E.M. Davis., K.L. Ringer., M.R. Wildung. 2005. (-)-Menthol Biosynthesis and Molecular Genetics (Review). *Naturwissenschaften.* 92:562–577.
- Devon, T.K., A.I. Scott. 1972. *Handbook of Naturally Occurring Compounds. Part 2 Terpenes.* Academic Press. New York and London.
- Dudareva. N., D. Martin., C.M. Kish., N. Kolosova., N. Gorenstein., J. Fäldt., B. Miller., J. Bohlmann. 2003. (*E*)- $\beta$ -Ocimene and Myrcene Synthase Genes of Floral Scent Biosynthesis in Snapdragon: Function and Expression of Three Terpene Synthase Genes of a New Terpene Synthase Subfamily. *Plant Cell.* 15:1227-1241.
- Dudareva. N., E. Pichersky., J. Gershenzon. 2004. Biochemistry of Plant Volatiles. *Plant Physiol.* 31:1043-1055.
- Hofberger, J.A., A.M. Ramirez., E.V.D. Bergh., X. Zhu., H.J. Bouwmeester., R.C. Schuurink., M.R. Schranz. 2015. Large-Scale Evolutionary Analysis of Genes and Supergene Clusters from Terpenoid Modular Pathways Provides Insights into Metabolic Diversification in Flowering Plants. *PLoS. One.* 10:1-37.
- Holloway. P.W., G. Popjak 1968. Isopentenyl Pyrophosphate Isomerase from Liver. *J. Biochem.* 106:835-840.
- Hyatt. D.C., B. Youn., Y. Zhao., B. Santhamma., R.M. Coates., R.B. Croteau., CH. Kang. 2016. Structure of Limonene Synthase, a Simple Model for Terpenoid Cyclase Catalysis. *PNAS.* 104:5360-5365.
- Jo Davisson. V., T.R. Neal., C.D. Poulter. 1985. Farnesyl Pyrophosphate Synthetase. A Case for Common Electrophilic Mechanisms for Prenyltransferases and Terpene Cyclases. *J. Am. Chem. Soc.* 107:5277-5279.
- Jones, C.G., C.I. Keeling, E.L. Ghisalberti, E.L. Barbour, J.A. Plummer, J. Bohlmann. 2008. Isolation of cDNA and Fungsional Characterization of Two Multi-product Terpene Enzymes from Sandalwood, *Santalum album L.* *Arch. Biochem. Biophys.* 477:121-130.
- Karp. F., Y. Zhao., B. Santhamma., B. Assink., R.M. Coates., R.B. Croteau. 2007. Inhibition of Monoterpene Cyclases by Inert Analogues of Geranyl Diphosphate and Linalyl Diphosphate. *Arch. Biochem. Biophys.* 468:140-146.
- Lesburg. C.A., G. Zhai., D.E. Cane., D.W. Christianson. 1997. Crystal Structure of Pentalenene Synthase: Mechanistic Insights on Terpenoid Cyclization Reactions in Biology. *Science.* 277:1820-1824.
- Lücker. J., M.K. El Tamer., W. Schwab., F.W.A. Verstappen., L.H.W. van der Plas., H.J. Bouwmeester., H.A. Verhoeven. 2002. Monoterpene Biosynthesis in Lemon (*Citrus limon*) cDNA Isolation and Functional Analysis of Four Monoterpene Synthases. *Eur. J. Biochem.* 269:3160-3171.
- MacMillan. J., M.H. Beale. 1999. Diterpene biosynthesis. In: Cane. D.E. (Ed.). *Comprehensive Natural Products Chemistry: Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids.* pp. 217-243. Pergamon Press: Oxford.
- Mahmoud, S.S., R.B. Croteau. 2002. Strategies for Transgenic Manipulation of Monoterpene Biosynthesis in Plants (Review). *Trends. Plant. Sci.* 7:366-373.
- Martin. D.M., J. Bohlmann. 2004. Identification of *Vitis vinifera* (-)- $\alpha$ -terpineol Synthase by in Silico Screening of Full-length cDNA ESTs and Functional Characterization of Recombinant Terpene Synthase. *Phytochemistry.* 65:1223-1229.

- Ministry of Trade of Republic of Indonesia. 2011. Indonesian Essential Oil. The Scant of Natural Life. Handbook of Commodity Profile. Policy Analysis and Development Agency: Ministry of Trade Republic of Indonesia.
- Noma. Y., Y. Asakawa. 2010. Biotransformation of Monoterpenoids. in Mander. L., H-W. Liu, (ed) Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology, (9 ed.). pp. 669-801. Elsevier Ltd: Oxford.
- Oyen, L.P.A., N.X. Dung. 1999. Plant Resources of South-East Asia. Part 19 Essential-oil plants. Backhuys: Netherlands.
- Phillips. M.A., M.R. Wildung., D.C. Williams., D.C. Hyatt., R. Croteau. 2003. cDNA Isolation, Functional Expression, and Characterization of (+)- $\alpha$ -pinene Synthase and (-)- $\alpha$ -pinene Synthase from Loblolly pine (*Pinus taeda*): Stereocontrol in Pinene Biosynthesis. Arch. Biochem. Biophys. 411:267–276.
- Popjak. G., J.W. Cornforth., 1966. Substrate Stereochemistry in Squalene Biosynthesis. J. Biochem. 101:553-568.
- Poulter, C.D., P.L. Wiggins., A.T. Le. 1981. Farnesyl Pyrophosphate Synthetase. A Stepwise Mechanism for the 1'-4 Condensation Reaction. J. Am. Chem. Soc. 103:3926-3927.
- Poulter. C. D., H.C. Rilling. 1976. Prenyltransferase: The Mechanism of the Reaction. Biochemistry. 15:1079-1083.
- Poulter. C.D., H.C. Rilling. 1978. The Prenyl Transfer Reaction. Enzymatic and Mechanistic Studies of the 1'-4 Coupling Reaction in the Terpene Biosynthetic Pathway. Am. Chem. Soc. 11:307-313.
- Rodríguez-Concepción. M., A. Boronat. 2002. Elucidation of the Methylerythritol Phosphate Pathway for Isoprenoid Biosynthesis in Bacteria and Plastids. A Metabolic Milestone Achieved through Genomics. Plant. Physiol. 130:1079-1089.
- Rohmer. M., M. Seemann., S. Horbach., S. Bringer-Meyer., H. Sahm. 1996. Glyceraldehyde 3-Phosphate and Pyruvate as Precursors of Isoprenic Units in an Alternative Non-mevalonate Pathway for Terpenoid Biosynthesis. J. Am. Chem. Soc. 118:2564-2566.
- Rojas. M.C., L. Chayet., G. Portilla., O. Cori. 1983. Substrate and Metal Specificity in the Enzymic Synthesis of Cyclic Monoterpenes from Geranyl and Neryl Pyrophosphate. Arch. Biochem. Biophys. 222:389-396.
- Rynkiewics. M.J., D.E. Cane., D.W. Christianson. 2001. Structure of Trichodiene Synthase From *Fusariumsporotrichioides* Provides Mechanistic Inferences on the Terpene Cyclisation Cascade. PNSA. 98:13543-13548.
- Segel, I.H. 1968. Biochemical Calculations. How to Solve Mathematical Problems in General Biochemistry Second Edition. John Wiley and Sons. Inc. Canada.
- Sharkey. T.D., A.E. Wiberley., A.R. Donohue. 2008. Isoprene Emission from Plants: Why and How (Invited Review). Annals. Botany. 101:5-18.
- Starks. C.M., K. Back., J. Chappell., J.P. Noel. 1997. Structural Basis for Cyclic Terpene Biosynthesis by Tobacco 5-Epi-Aristolochene Synthase. Science. 277:1815-1820.
- Tarshis. L.C., M. Yan., C.D. Poulter., J.C. Sacchettini. 1994. Crystal structure of Recombinant Farnesyl Diphosphate Synthase at 2.6-Å Resolution. Biochemistry. 33:10871-10877.
- Thulasiram. H.V., H.K. Erickson., C.D. Poulter. 2007. Chimeras of Two Isoprenoid Synthases Catalyze All Four Coupling Reactions in Isoprenoid Biosynthesis. Science. 316:73-76.
- Williams. D.C., D.J. McGarvey., E.J. Katahira., R. Croteau. 1998. Truncation of Limonene Synthase Preprotein Provides a Fully Active 'Pseudomature' Form of This Monoterpene Cyclase and Reveals the Function of the Amino-Terminal Arginine Pair. Biochemistry. 37:12213-12220.
- Wise. M.L., R. Croteau. 1999. Monoterpene biosynthesis. In: Cane. D.E. (Ed.). Comprehensive Natural Products Chemistry: Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids. pp. 97-154. Pergamon Press: Oxford.
- Yang. T., J. Li., H-X. Wang., Y. Zeng. 2005. A Geraniol-synthase Gene from *Cinnamomum tenuipilum*. Phytochemistry. 66:285-293.
- Zhang. Q., K. Tiefenbacher. 2015. Terpene Cyclization Catalysed Inside a Self-assembled Cavity. Nature. Chem. 7:197-202.