

**REGLEMENTATION, EXPERTISE, MISE SUR LE MARCHÉ Les enjeux de la propriété intellectuelle : brevet, certificat d'obtention végétale**

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 9, Numéro 2, 150-1, Mars - Juin 2002, Dossier : Génomique et filière oléagineuse - Journées Chevreul de l' AFECG, Paris, 21-22 novembre 2001

**Auteur(s) :** Roland PETIT-PIGEARD, Sicasov, Direction générale, 7, rue Coq-Héron, 75030 Paris Cedex 01, France.

**Résumé :** Deux systèmes de propriété intellectuelle cohabitent : le certificat d'obtention végétale et le brevet. Ces deux systèmes sont inégalement utilisés à travers le monde. Les sciences de la vie et les biotechnologies étant un enjeu majeur pour le siècle actuel, il convient d'être vigilant et de réfléchir aux répercussions de cette différence de traitement entre l'Europe et les autres pays développés. Il ne faut pas sous-estimer les différences de comportement des responsables politiques et des opinions publiques vis-à-vis du résultat de la génomique et des biotechnologies. Cela concerne en particulier les organismes génétiquement modifiés qui se développent partout dans le monde et dont certains estiment les progrès et les avantages de plus en plus considérables par rapport à l'Europe qui se pose encore la question de leur utilisation, voire de leur existence.

**Mots-clés :** propriété intellectuelle, biotechnologies, génomique, brevet, COV.

ARTICLE

Depuis une décennie, on assiste à une augmentation des recherches dont le but est l'obtention d'huiles à composition d'acides gras modifiées par génie génétique. Le développement de cette production d'huiles à usage alimentaire ou industriel est dû à plusieurs facteurs :

\* La demande des industriels pour un accroissement de la diversité des huiles

En effet, depuis des siècles, l'objectif principal des sélectionneurs a été l'amélioration du rendement de la production. Cela peut conduire à terme à une saturation des marchés et à une surproduction. L'élaboration d'huiles pour des usages spécifiques, soit alimentaires soit industriels, devrait permettre d'ouvrir de nouveaux débouchés aux productions d'oléagineux.

\* La biodiversité des acides gras présents dans le règne végétal

Le métabolisme des plantes a la particularité de produire une incroyable diversité de composés comprenant plus de 20 000 terpénoïdes, flavonoïdes, alcaloïdes et acides gras différents. Parmi ceux-ci, les acides gras sont déjà très largement utilisés à des fins industrielles comme lubrifiants, plastifiants ou tensioactifs. Bien que l'acide gras majoritaire soit généralement l'acide oléique, il existe de nombreuses plantes synthétisant des acides gras inhabituels. Les banques de données des compositions en acides gras des graines et des feuilles représentent un immense catalogue dans lequel, la plupart du temps, l'acide gras d'intérêt est répertorié. Par conséquent, une plante, même si

elle n'est pas agronomiquement exploitable, est une source potentielle de gènes d'intérêt.

\* Les avancées des technologies en biologie moléculaire

Celles-ci permettent de transférer des gènes, à l'aide de vecteurs dans des conditions maîtrisées, d'une variété ou d'une espèce à une autre. L'expression des gènes peut être également contrôlée spatialement et temporellement. L'emploi de promoteurs spécifiques, comme celui de la napine, permet l'expression du gène d'intérêt dans la graine, et au moment où la synthèse des lipides est maximale.

\* La disponibilité des gènes d'intérêt

La plupart des enzymes du métabolisme lipidique étant membranaires, le clonage des gènes, reposant souvent sur la purification des protéines correspondantes ou sur la caractérisation de mutants [1, 2], s'est longtemps avéré fastidieux. Pour preuve, il a fallu attendre 1992 pour connaître la séquence de la première désaturase membranaire [3]. Depuis 2000, la connaissance du génome complet d'*Arabidopsis thaliana* constitue un outil et une source d'information incontournables [4, 5]. Par exemple, la séquence d'un gène d'*A. thaliana* peut servir d'outil pour le clonage d'un gène homologue chez une autre plante synthétisant un acide gras inhabituel. *A. thaliana* constitue de plus un matériel de choix pour les expériences de transgénèse avant l'application aux plantes de grande culture.

Les huiles végétales sont presque essentiellement constituées de triacylglycérols, et leurs propriétés sont liées à la nature des acides gras estérifiant le glycérol. La diversité des triacylglycérols est dépendante :

- de la nature des acides gras et de leur positionnement ;
- de leur degré d'insaturation (saturés, mono-, di- ou tri-insaturés), du positionnement et de la nature de la double liaison (cis, trans) ;
- de la longueur de la chaîne carbonée ;
- de la présence de groupements fonctionnels (OH, époxydes) ;
- de la présence de cycles (furane, cyclopentane).

Cette diversité est la conséquence d'enzymes spécifiques intervenant dans la synthèse des triacylglycérols de la graine. Les voies de biosynthèse des triacyl-glycérols ([figure 1](#)) font intervenir trois compartiments cellulaires différents. La synthèse des acides gras s'effectue dans le chloroplaste à partir d'acétyl-CoA et de malonyl-ACP. L'oléoyl-ACP majoritairement synthétisé est hydrolysé par l'acyl-ACP thioestérase puis estérifié à du coenzyme A, avant d'être transféré du chloroplaste *via* le cytoplasme dans le réticulum endoplasmique où il va être un composant du *pool* d'acyl-CoAs. Ce dernier constitue la source de substrats des différentes transacylases qui vont estérifier les différentes positions du squelette glycérol. La composition de ce *pool* est dépendante de plusieurs enzymes. La spécificité de l'acyl-ACP thioestérase chloroplastique va déterminer la longueur de la chaîne de l'acide gras provenant du chloroplaste. Les différentes désaturases chloroplastique et membranaires vont déterminer la nature, le nombre et la position des désaturations des différents acyl-CoAs. La présence d'hydroxylase, de peroxydase et d'élongase va modifier la longueur et la

nature de la chaîne des acyl-CoAs. Enfin, les différentes transacylases vont estérifier, spécifiquement sur une des positions du glycérol, un acide gras donné, augmentant ainsi la diversité des triacylglycérols. Il ressort de cette étude rapide de la voie de la biosynthèse des triacylglycérols qu'un certain nombre d'enzymes apparaissent comme des cibles de choix pour les différentes manipulations génétiques visant à modifier la composition en acides gras des triacylglycérols. Les changements affectant la longueur de chaîne concernent les acyl-ACP thioestérases ou les élongases et l'augmentation du degré d'insaturation des désaturases.

Ces différentes enzymes ont été les cibles des diverses manipulations génétiques effectuées chez les différentes plantes oléagineuses.

### **Diminution de la longueur de la chaîne carbonée des acides gras : colza à haute teneur en acide laurique**

L'acide laurique est largement utilisé dans l'industrie des détergents. La source principale est l'huile de palme. La diversification de l'approvisionnement est l'une des préoccupations des industriels ; aussi l'obtention d'une plante cultivable dans un climat tempéré et produisant une huile à haute teneur en acide laurique a-t-elle été l'un des premiers objectifs de la manipulation de la composition en acides gras par génie génétique.

L'enzyme responsable de la longueur de la chaîne carbonée des acides gras est l'acyl-ACP thioestérase. Généralement, cette enzyme est spécifique pour l'oléoyl-ACP et par conséquent, chez la grande majorité des plantes, l'acide généralement libéré par cette enzyme est l'acide oléique, que l'on retrouve majoritairement dans l'huile.

Il existe cependant des graines dont l'acide gras majoritaire possède une chaîne carbonée plus courte : c'est notamment le cas des variétés de *Cuphea* ( $C_8$  à  $C_{16}$ ) [6] et de la baie de Californie (*Umbelluria californica*), donc l'acide gras majoritaire est l'acide laurique ( $C_{12}$ ) [7].

L'acyl-ACP thioestérase de la baie de Californie a été purifiée et le gène codant pour cette protéine cloné. Ce gène a été introduit chez *Arabidopsis thaliana* par *Agrobacterium* de façon à ce qu'il s'exprime uniquement dans la graine. Les transformants présentent une huile dont l'acide gras majoritaire n'est plus l'acide oléique mais l'acide laurique [8].

Des colzas transgéniques ont été obtenus par le même protocole, l'acide laurique représentant 50 % des acides gras totaux des triacylglycérols de la graine [9]. Ce taux a été amélioré par croisement de cette variété modifiée avec une deuxième variété génétiquement modifiée pour la lysophosphatidyl acide acyltransférase (LPAAT). Chez le colza, cette enzyme estérifie sélectivement la position sn-2 du glycérol par de l'acide oléique. Le gène de la LPAAT de cocotier, spécifique de l'acide laurique, a été introduit dans la variété modifiée. Parmi la descendance de ces croisements, des colzas présentant des taux d'acide laurique supérieur à 90 % ont été obtenus [10].

### **Modification du degré d'insaturation de la chaîne des acides gras**

Les objectifs ont été soit de diminuer le degré d'insaturation, soit de l'augmenter, soit de modifier la configuration de la double liaison.

### *Colza à haute teneur en acide stéarique [11]*

La démarche entreprise par les chercheurs de la société Calgène Monsanto a été d'empêcher l'expression du gène de la stéaroyl-ACP désaturase responsable de la synthèse de l'acide oléique. Pour ce faire, le gène de la  $\Delta^9$ -désaturase chloroplastique de colza a été cloné, puis inséré en position anti-sens dans le génome de colzas.

Les colzas transformés ont été sélectionnés et caractérisés biochimiquement. L'activité de la stéaroyl-CoA désaturase comprise entre 125 et 160 nmoles/mg/h chez le témoin devient indétectable chez les transformants.

Parallèlement, l'acide stéarique présent entre 1,2 et 1,6 % chez le témoin voit son pourcentage atteindre 24 % des acides gras totaux chez les transformants.

Par une démarche analogue, l'introduction du gène de la  $\Delta^{12}$ -désaturase en position anti-sens conduit à la diminution d'acide linoléique, de 20 à 5,0 % chez le colza et à une augmentation de l'acide oléique de 63 à 83 %. Des sojas transgéniques à teneur réduite respectivement en linoléate et linoléate ont été développés par la Société Dupont [12] par une stratégie analogue.

Il existe maintenant de nombreuses plantes de grande culture dont la composition en acides gras des triacylglycérols a été modifiée par transgénèse en utilisant des gènes de désaturases (*tableau 1*).

Les huiles obtenues sont saturées et présentent une très bonne résistance à l'oxydation. Les huiles à teneur haute en oléate et faible en linoléate ont comme finalité l'utilisation alimentaire dans les salades et les fritures. Les autres à plus forte teneur en palmitate et stéarate seront plutôt utilisées pour la confection des margarines, évitant une hydrogénation coûteuse.

### *Production d'acide pétrosélinique par des colzas et des sojas transgéniques*

Le coriandre possède un acide gras particulier, l'acide pétrosélinique ( $C_{18:1}$ ,  $\Delta^6$ ). Celui-ci résulte de la désaturation du stéaroyl-ACP par une désaturase particulière [13] qui introduit une double liaison en  $\Delta^6$ .

Cet isomère de l'acide oléique n'est que très peu assimilable par l'homme, car celui-ci ne possède pas les enzymes de dégradation spécifiques des doubles liaisons carbone-carbone en position  $\Delta^6$ . Une huile riche en acide pétrosélinique présente un intérêt indéniable pour la fabrication de margarines diététiques.

La démarche utilisée a été d'introduire simultanément le gène de la stéaroyl-ACP désaturase en position anti-sens et le gène de la  $\Delta^4$  désaturase du coriandre. Les plantes transgéniques obtenues sont capables de produire des triacylglycérols contenant de l'acide pétrosélinique mais en faible quantité [14]. Ce taux a pu être augmenté par l'introduction des gènes de l'acyl-ACP thioestérase et de la 3-cétoacyl-ACP synthétase du coriandre [15].

### *Production d'acides gras poly-insaturés particuliers*

Des banques d'ADNc ont été préparées à partir de graines en cours de maturation de *Momordica charantia* et d'*Impatiens balsamina*. Ces plantes produisent des acides gras insaturés conjugués comme l'acide alpha-élostéarique (18:3 DELTA9 cis, 11 trans, 13 trans) et alpha-parinarique (18:4

DELTA9 cis, 11 trans, 13 trans, 15 cis). Des ADNc, correspondant à des formes divergentes de la DELTA12-désaturase, ont été isolés. Des embryons de soja transformés par ces ADNc accumulent 17 % de ces acides dans leurs triacylglycérols [16]. Ces résultats laissent présager que, dans un proche avenir, des plantes transgéniques produisant une huile riche en ces deux acides, seront utilisées à des fins industrielles [17].

### **Production d'acides gras hydroxylés et époxydés**

Les acides gras hydroxylés présentent un intérêt pour l'industrie chimique (acide ricinoléique 12-OH, 18:1 DELTA9 ; densipoléique 12-OH, 18:2 DELTA9,15 ; lesquéroléique 14-OH, 20:1 et aricoléique 14-OH, 20:2 DELTA11, 17).

L'expression du gène de la DELTA12 hydroxylase de ricin a été effectuée chez *A. thaliana* [18]. La présence de 17 % d'acides gras hydroxylés (ricinoléique, densipoléique et lesquéroléique) dans les triacylglycérols de la graine a été observée. L'accumulation d'acides gras hydroxylés, chez *A. thaliana* et *B. napus*, a également été obtenue lors de l'expression de la DELTA12 hydroxylase de *Lesquerella fendleri* [19]. Une troisième DELTA12 hydroxylase a été exprimée chez *A. thaliana*. Lorsque cette protéine de *Crepis palestina* est produite chez *A. thaliana*, les taux des acides linoléique et linolénique des triacylglycérols diminuent et l'on observe la présence d'acides gras hydroxylés à un taux de 6,2 % [20].

La transformation simultanée d'*A. thaliana* par les gènes de la linolénate DELTA12 acétylénase de *Crepis alpina*, de la linolénate DELTA12 époxygénase de *Crepis palestina* et de l'oléate DELTA12 hydroxylase de *Lesquerella fendleri* a été effectuée [21]. L'analyse des acides gras des graines montre la présence de 1,5 % d'acides acétyléniques, de 15 % d'acides hydroxylés et de 5 % d'acides époxydés, respectivement.

La mise en évidence récente d'une 3-cétoacyl-CoA synthétase spécifique pour l'élongation des acides gras hydroxylés [22] et d'une enzyme à cytochrome P450 de graine produisant des acides époxydés [23] est un élément qui pourrait permettre une augmentation rapide de l'efficacité de la production d'acides gras hydroxylés et époxydés par transgénèse.

### **Production d'acides gras à très longue chaîne**

L'acyl-CoA élongase est l'enzyme cible pour augmenter la longueur de la chaîne carbonée des acides gras. Cette enzyme membranaire localisée dans le réticulum endoplasmique allonge un acyl-CoA en présence de malonyl-CoA [24]. C'est un complexe multienzymatique constitué de plusieurs protéines catalysant chacune une des réactions intermédiaires (*figure 2*).

La première réaction concerne la condensation de l'acyl-CoA avec le malonyl-CoA, elle est catalysée par la 3-cétoacyl-CoA synthase, enzyme spécifique pour l'acyl-CoA et donc déterminante pour la nature des acides gras synthétisés. À ce jour, sept gènes codants pour des 3-cétoacyl-CoA synthases différents de par leur substrat (acyl-CoA), et de par leur fonction, ont été clonés (*tableau 2*).

Ces gènes ont été utilisés pour produire une huile à haute teneur en acide érucique (notamment chez le colza) et une huile riche en acides gras poly-insaturés.

#### \* Huile à haute teneur en acide érucique

L'augmentation de la teneur en acide érucique chez le colza est limitée par l'impossibilité qu'a cette plante de produire de la tri-érucine (triacylglycérol possédant trois acides éruciques). Cette incapacité est liée à la spécificité de la lyso-phosphatidyl acide acyl-transférase (LPAAT) qui estérifie préférentiellement l'oléoyl-CoA sur la position sn-2 du glycérol [25, 26].

Il existe d'autres LPAAT, notamment chez *Limnanthe alba*, qui ont une spécificité différente et dont le substrat de choix est l'érucoyl-CoA. Par conséquent, la stratégie adoptée par Lassner *et al.* [27], a été de transférer le gène de la LPAAT de *Limnanthe alba* chez le colza. Comme espéré, l'analyse des lipides des graines montre la présence de tri-érucine. Ce produit ne représente que 44 % du total des acides gras.

L'équipe de Saskatoon a utilisé le gène (SLC1-1) d'une sn-2 acyl-transférase impliquée dans la synthèse des sphingomyélines de la levure [28]. Ce gène a été transféré chez *A. thaliana*. Les auteurs ont constaté une augmentation non seulement de la quantité d'huile mais également de la présence d'acides gras à très longue chaîne estérifiant la position sn-2 des triacylglycérols. L'acide majoritairement présent est l'acide érucique qui représente environ 50 % des acides gras totaux.

Le taux le plus élevé d'acide érucique a été obtenu par croisement du colza transformé par le gène *FAE1* d'*A. thaliana*, codant pour la 3-cétoacyl-CoA synthase et d'une variété de colza (Héro) produisant une huile contenant 40 % d'acide érucique [29].

L'une des lignées issues de ce croisement synthétise des triacylglycérols dont 67 % des acides est l'acide érucique.

Il résulte de ces différents travaux que la LPAAT n'est pas la seule étape limitante, car même chez les plantes génétiquement modifiées par l'introduction de ce gène, on n'observe pas d'augmentation spectaculaire d'acide érucique. Il semble raisonnable d'envisager qu'il faille également modifier la composition du *pool* d'acyl-CoAs et, plus précisément, d'augmenter la synthèse d'érucoyl-CoA.

#### \* Huiles riches en acides gras polyinsaturés

Les huiles riches en acides gras polyinsaturés (PUFA) proviennent généralement des poissons. Les PUFA sont synthétisés à partir de l'acide oléique par une succession de désaturations et d'élongations (*figure 3*). L'obtention d'une huile végétale ayant des propriétés analogues présente un grand intérêt pour l'alimentation humaine ; or les plantes de grande culture sont incapables de synthétiser ces acides gras. L'analyse systématique des acides gras végétaux a mis en évidence que certaines algues et mousses, comme *Caerohabditis elegans* [30], *Mortiella alpina* [31] et *Physcomitrella paens* [32], contiennent des acides gras polyinsaturés respectivement de la série n-6 et n-3. Cette originalité est due à la présence d'une 3-cétoacyl-CoA synthase (première enzyme de l'acyl-CoA élongase) spécifique pour l'acide gamma-linoléique (gamma- C<sub>18:3</sub>) ou pour le C<sub>18:4</sub> et des Δ<sup>6</sup> et Δ<sup>3</sup> correspondantes. Les gènes codant pour ces enzymes ont été clonés [30, 31, 33]. Ces recherches sont financées par de grandes sociétés comme Abott, BASF et Monsanto. Parker-Baines *et al.* [34] (Abott) ont reconstitué dans une levure la voie de biosynthèse de ces acides gras. Une première souche de levure a été transformée par les gènes des Δ<sup>6</sup> et Δ<sup>12</sup> désaturases de *Mortiella alpina*, permettant à celle-ci de synthétiser de l'acide gamma-linoléique. La co-expression dans une deuxième souche de levure de la Δ<sup>5</sup> désaturase et du gène GLELO codant pour une 3-cétoacyl-CoA

synthase spécifique des acyl-CoAs insaturés permet la production par cet organisme d'acide gamma-linoléique, d'acide arachidonique, d'acide stéaridonique ( $C_{18:4}$ ,  $\Delta 6$ , 9, 12, 15) et d'acide éicosapentaénoïque ( $C_{20:5}$ ,  $\Delta 5$ , 8, 11, 14, 17).

Les taux obtenus sont encore faibles mais laissent présager la fabrication en fermenteur d'huile riche en PUFA.

Beaudoin *et al.* [35] ont, dans un travail similaire, obtenu une levure co-exprimant les gènes d'une  $\Delta 5$ -désaturase et d'un gène de *C. elegans*, codant vraisemblablement pour une enzyme de condensation, synthétisant 44 % de gamma-linolénique.

Enfin, la société Monsanto [36] a obtenu deux colzas transgéniques dans lesquels les gènes des  $\Delta 6$ - et  $\Delta 12$ -désaturases de *Mortiella alpina* avaient été introduits. L'huile du premier transformant contient respectivement 47 % de gamma- $C_{18:3}$ , 3,5 % d'acide stéaridonique ( $C_{18:4}$ ,  $\Delta 6$ ). L'huile du deuxième transformant élaboré à partir d'une variété de colza pauvre en linoléate contient 68 % de gamma- $C_{18:3}$  et seulement 0,6 % d'acide stéaridonique.

### Perspectives

L'ensemble des résultats répertoriés ci-dessus montre que la manipulation par génie génétique de la composition en acides gras est non seulement possible mais largement maîtrisée. Il existe d'ailleurs des variétés déjà commercialisées et cultivées sur des surfaces importantes aux États-Unis, Canada, Brésil et Mexique.

Il n'en reste pas moins que cette technologie est tributaire des gènes disponibles. Il a été montré que la spécificité des acyl-ACP thioestérases pour les acyl-ACP est liée à la composition en amino-acides de la partie C terminale de cette protéine [37]. Il a ainsi été montré que le seul changement de la thréonine en position 231 par une lysine, modifiait la préférence de l'acyl-ACP thioestérase de la baie de Californie du  $C_{12}$ -ACP pour le  $C_{14}$ -ACP. Ce résultat important laisse envisager que l'ingénierie des acyl-ACP thioestérases sera possible prochainement et que, dans certains cas, on pourrait ne plus être tributaire de la disponibilité des gènes.

Un autre exemple concerne les désaturases [38]. La comparaison des séquences peptiques concernant le site de fixation de l'acide gras des  $\Delta 6$ - $C_{16}$ -ACP et  $\Delta 9$ -ACP désaturases montre que neuf amino-acides diffèrent. Le changement de seulement cinq de ces acides aminés par mutagenèse dirigée de la  $\Delta 6$ - $C_{16}$ -ACP désaturase, conduit à une protéine qui synthétise 76 % de  $\Delta 9$ - $C_{18:1}$ .

Enfin, par la même stratégie, Broun *et al.* [39] ont profité de l'importante homologie existante entre les séquences de l'oléate désaturase d'*A. thaliana* et l'oléate hydroxylase de *Lesquerella fendleri*, pour modifier leur fonction. Le changement de quatre des sept amino-acides de l'oléate désaturase divergeant entre les deux séquences conduit à une protéine capable d'hydroxyler l'oléoyl-ACP. Parallèlement, le changement de six de ces amino-acides transforme l'oléate hydroxylase en oléate désaturase.

## CONCLUSION

Les études biochimiques concernant le métabolisme du colza haut laurate (90,1 % d'acide laurique) élaboré par Monsanto, montrent que l'expression de la C<sub>12:0</sub>-ACP thioestérase de la baie de Californie induit une activité de la voie de dégradation des acides gras par beta-oxydation et des enzymes du cycle de l'acide glyoxylique. Ces résultats sont en bon accord avec une réorientation du métabolisme des acides gras, et notamment de l'acide laurique vers leur dégradation par beta-oxydation. Par ce moyen, la plante transgénique se protège de la surproduction d'un acide gras considéré comme inhabituel et en excès [40].

En résumé, par génie génétique, il est possible de modifier la composition en acides gras des huiles d'une plante oléagineuse de grande culture. Cela peut être effectué par transfert d'un gène d'intérêt d'une autre variété ou d'une autre espèce, ou par ingénierie du gène de la plante considérée. Ces différentes stratégies peuvent permettre l'obtention d'une huile à forte teneur en acide gras désiré.

Enfin, ces approches comportent des limites qui sont à la fois d'ordre technique et scientifique mais également anthropiques (perception par le grand public des OGM et législation).

## REFERENCES

1. OHLROGGE JB, BROWSE J, SOMERVILLE CR (1991). The genetics of plant lipids. *Biochim Biophys Acta*, 1082 : 1-26.
2. WALLIS JG, BROWSE J (2002). Mutants of *Arabidopsis* reveal many roles for membrane lipids. *Prog Lipid Res*, 41 : 254-78.
3. ARONDEL V, LEMIEUX B, HWANG I, GIBSON S, GOODMAN HM, SOMERVILLE CR (1992). Map-based cloning of a gene controlling omega-3 fatty acid desaturation in *Arabidopsis*. *Science*, 258 : 1353-5.
4. The *Arabidopsis* genome initiative (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 408 : 796-815.
5. WHITE JA, BENNING C (2001). Genomic approaches towards the engineering of oil seeds. *Plant Physiol Biochem*, 39 : 263-70.
6. DORMANN P, SPENER F, OHLROGGE J (1993). Characterization of two acyl-acyl carrier protein thioesterases from developing *Cuphea* seeds specific for medium-chain and oleoyl-acyl carrier protein. *Planta*, 189 : 425-32.
7. DAVIES HM, ANDERSON L, FAN C, HAWKINS DJ (1991). Developmental induction, purification, and further characterization of C<sub>12:0</sub>-ACP thioesterase from immature cotyledons of *Umbellularia californica*. *Arch Biochim Biophys*, 290 : 37-45.
8. VOELKER TA, WORRELL AC, ANDERSON L, *et al.* (1992). Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oilseed plants. *Science*, 257 : 72-4.
9. VOELKER TA, HAYES TR, CRAMER AC, DAVIES HM (1996). Genetic engineering of a quantitative trait: metabolic and genetic parameters influencing the accumulation of laurate in rapeseed. *Plant J*, 9 : 229-41.

10. KNUTZON DS, HAYES TR, WYRICK A, XIONG H, DAVIES HM, VOELKER TA (1999). Lysophosphatidic acid acyltransferase from coconut endosperm mediates the insertion of laurate at the sn-2 position of triacylglycerols in lauric rapeseed oil and can increase total laurate levels. *Plant Physiol*, 120 : 739-46.
11. KNUTZON DS, THOMPSON GA, RADKE SE, JOHNSON WB, KNAUF VC, KRINDL JC (1992). Modification of *Brassica* seed oil by antisense expression of a stearyl-acyl carrier protein desaturase gene. *Proc Natl Acad Sci*, 89 : 2624-8.
12. HILTZ WD, YADAV NS, REITER RS, MAURAS CJ, KINNEY AJ (1995). Reducing polyunsaturation in oils of transgenic canola and soybean. *Plant Lipid Metabolism* : 506-8.
13. CAHOON EB, OHLROGGE JB (1994). Metabolic evidence for the involvement of a  $\Delta^4$ -palmitoyl-acyl carrier protein desaturase in petroselinic acid synthesis in coriander endosperm and transgenic tobacco cells. *Plant Physiol*, 104 : 827-37.
14. CAHOON EB, SHANKLIN J, OHLROGGE JB (1992). Expression of a coriander desaturase results in petroselinic acid production in transgenic tobacco. *Proc Natl Acad Sci*, 89 : 11184-8.
15. MEKHEDOV S, CAHOON EB, OHLROGGE J (2001). An unusual seed specific 3-ketoacyl-ACP synthase associated with the biosynthesis of petroselinic acid in coriander. *Plant Mol Biol*, 47 : 507-18.
16. CAHOON EB, CARLSON TJ, RIPP KG, *et al.* (1999). Biosynthetic origin of conjugated double bounds: production of fatty acid components of high-value drying oils in transgenic soybean embryos. *Proc Natl Acad Sci*, 96 : 12935-40.
17. CALRON EB, RIPP KG, HALL SE, KINNEY AJ (2001). Formation of conjugated delta 8, delta 10-double bounds by delta 12-oleic-acid desaturase-related enzymes: biosynthetic origin of calendic acid. *J Biol Chem*, 276 : 2637-43.
18. BROUN P, SOMERVILLE CR (1997). Accumulation of ricinoleic, lesquerolic and densipolic acids in seeds of transgenic *Arabidopsis* plants that expressed a fatty acid hydroxylase cDNA from castor bean. *Plant Physiol*, 113 : 933-42.
19. BROUN P, BODDUPALLI S, SOMERVILLE CR (1998). A bifunctional oleate 12-hydroxylase : desaturase from *Lesquerella fendleri*. *Plant J*, 13 : 201-10.
20. SING S, THOMAEUS S, LEE M, STYMNE S, GREEN A (2001). Transgenic expression of a  $\Delta^{12}$ -epoxygenase gene in *Arabidopsis* seeds inhibits accumulation of linoleic acid. *Planta*, 212 : 872-9.
21. THOMAEUS S, CARLSSON S, STYMNE S (2001). Distribution of fatty acids in polar and neutral lipids during seed development in *Arabidopsis thaliana* genetically engineered to produce acetylenic epoxy and hydroxy fatty acids. *Plant Science*, 161 : 997-1003.
22. MOON M, SMITH MA, KUNST L (2001). A condensing enzyme from the seeds of *Lesquerella fendleri* that specifically elongates hydroxy fatty acids. *Plant Physiol*, 127 : 1635-43.

23. CAHOON EB, RIPP KG, HALL SE, MCGONIGLE B (2002). Transgenic production of epoxy fatty acids by expression of a cytochrome P450 enzyme from *Euphorbia lagascae* seed. *Plant Physiol*, 128 : 615-24.
24. CASSAGNE C, LESSIRE R, BESSOULE JJ, *et al.* (1994). Biosynthesis of very long chain fatty acids in higher plants. *Prog Lipid Res*, 33 : 55-69.
25. BERNERTH R, FRENTZEN M (1990). Utilization of erucoyl-CoA by acyltransferases from developing seeds of *Brassica napus* (L.) involved in triacylglycerol biosynthesis. *Plant Sci*, 67: 21-8.
26. CAO Y, OO K, HUANG AHC (1990). Lysophosphatidate acyltransferase in the microsomes from maturing seeds of Meadowfoam (*Limnanthes alba*). *Plant Physiol*, 94 : 1199-206.
27. LASSNER MW, LEVERING CK, DAVIES HM, KNUTZON DS (1995). Lysophosphatidic acid acyltransferase from meadowfoam mediates insertion of erucic acid at the sn-2 position of triacylglycerol in transgenic rapeseed oil. *Plant Physiol*, 109 : 1385-94.
28. ZOU J, KATAVIC V, GIBLIN M, *et al.* (1997). Modification of seed oil content and acyl composition in the Brassicaceae by expression of a yeast sn-2 acyltransferase gene. *Plant Cell*, 9 : 909-23.
29. KATOURIE V, FRIESEN W, BARTON DL, *et al.* (2000). Utility of the *Arabidopsis* FAE1 and yeast SLC1-1 genes for improvements in erucic acid and oil content in rapeseed. *Biochem Soc Trans*, 28 : 935-7.
30. MICHAELSON LV, NAPIER JA, LAZARUS CM, GRIFFITHS G, STOBART AK (1998). Isolation of a  $\Delta 5$  desaturase gene from *Caenorhabditis elegans*. *FEBS Lett*, 49 : 215-8.
31. MICHAELSON LV, LAZARUS CM, GRIFFITHS G, NAPIER JA, STOBART AK (1998). Isolation of a  $\Delta 5$  desaturase gene from *Mortiella alpina*. *J Biol Chem*, 273 : 19055-9.
32. GIRKE T, SCHMIDT H, ZHRINGER U, RESKI R, HEINZ E (1998). Identification of a novel  $\Delta 6$  acyl group desaturase by targeted gene disruption in *Physcomitrella patens*. *Plant J*, 15 : 39-48.
33. ZANK TK, ZHRINGER U, LERCHL J, HEINZ E (2000). Cloning and functional expression of the first plant fatty acid elongase specific for  $\Delta 6$  polyunsaturated fatty acids. *Biochem Soc Trans*, 28 : 654-7.
34. PARKER-BAINES JM, DAS T, BOBIK E, *et al.* (2000). Identification and characterization of an enzyme involved in the elongation of n-3 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Proc Natl Acad Sci*, 97 : 6421-6.
35. BEAUDOIN F, MICHAELSON LV, HEY SJ, *et al.* (2000). Heterologous reconstitution in yeast of the polyunsaturated fatty acid biosynthetic pathway. *Proc Natl Acad Sci*, 97 : 6421-6.
36. URSIN V, KNUTZON D, THORNTON J, KNAUF V (2000). *Production of beneficial omega-3 and omega 6 fatty acids in transgenic canola*. Abstract 49, 14th international symposium on plant lipids, Cardiff, 23-28 juillet 2000.
37. YUAN L, VOELKER TA, HAWKINS DJ (1995). Modification of the substrate specificity of an acyl-acyl carrier protein thioesterase by protein engineering. *Proc Natl Acad Sci*, 92 : 10639-43.

38. CAHOON EB, LINDQVIST Y, SCHNEIDER G, SHANKLIN J (1997). Redesign of soluble fatty acid desaturase from plants for altered substrate specificity and double bond position. *Proc Natl Acad Sci*, 94 : 4872-7.
39. BROUN P, SHANKLIN J, WHITTLE E, SOMERVILLE C (1998). Catalytic plasticity of fatty acid modification enzymes underlying chemical diversity of plant lipids. *Science*, 282 : 1315-7.
40. ECCLESTON VS, OHLORROGE JB (1998). Expression of lauroyl-acyl carrier protein thioesterase in *Brassica napus* seeds induces pathways for both fatty acid oxidation and biosynthesis and implies a set point for triacylglycerol accumulation. *Plant Cell*, 10 : 613-21.
41. HAZEBROOK JP (2000). Analysis of genetically modified oils. *Prog Lipid Res*, 39 : 477-506.

#### Illustrations

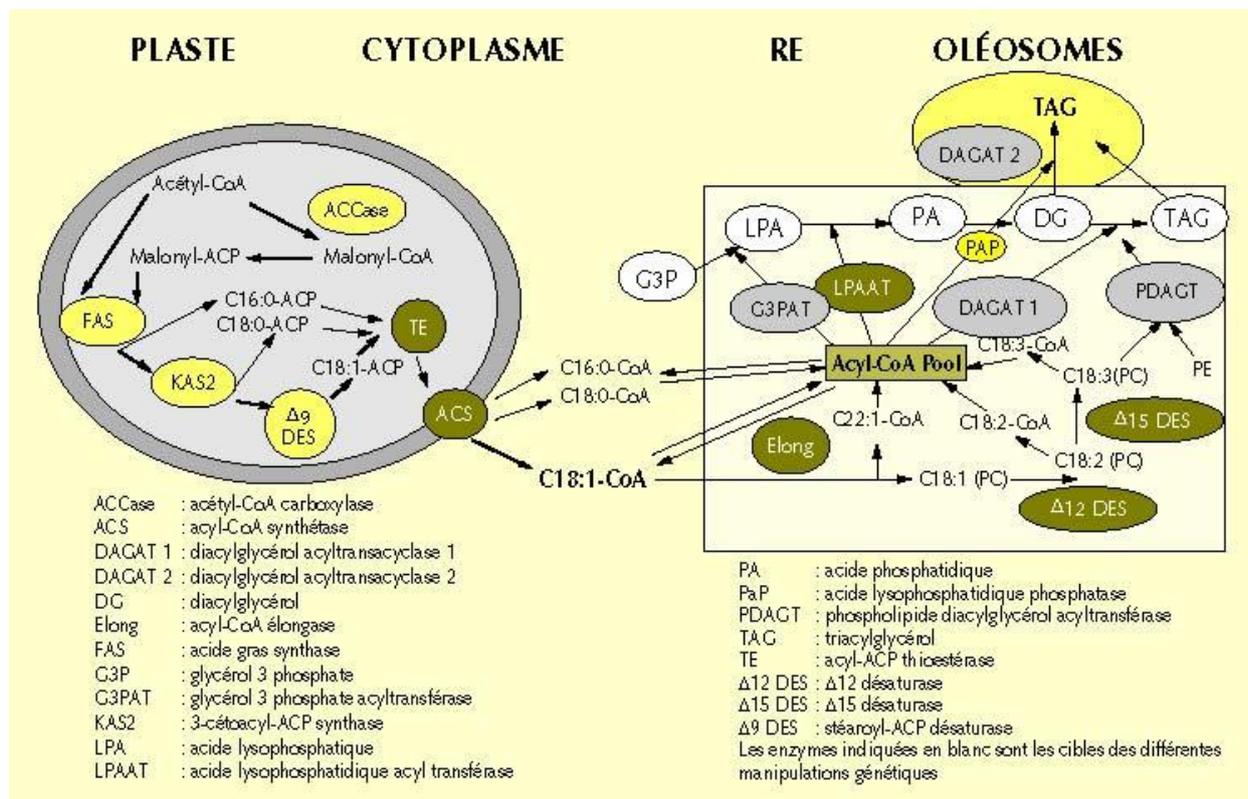


Figure 1. Biosynthèse des triacylglycérols chez la graine.

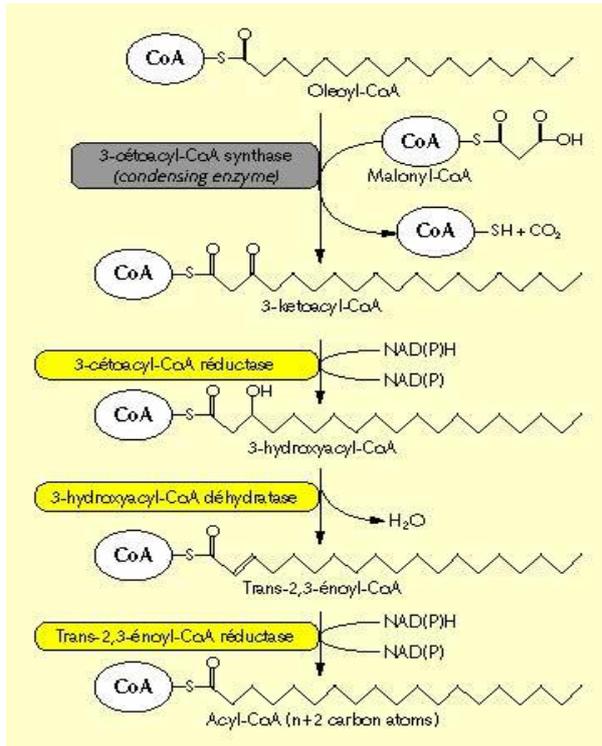


Figure 2. Réactions intermédiaires de l'acyl-CoA élongase.

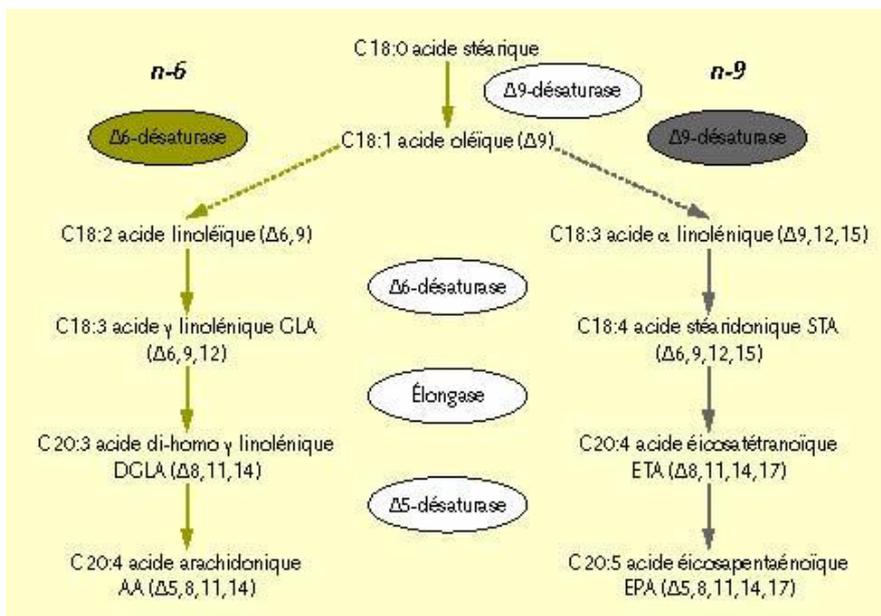


Figure 3. Synthèse des acides gras poly-insaturés.

Tableau 1. Plantes oléagineuses dont le degré d'insaturation des acides gras des triacylglycérols a été modifié (d'après J.P. Hazelbrook [41]).

Type d'huile	Plantes	Créateurs
Riche en oléate	Toumesol	Dow, DuPont, Instituto de la Grasa
	Canola	Cargill, DuPont
	Soja	DuPont, Monsanto
	Maïs	DuPont
	Cacahuète	Mycogen, Univ. Floride
Pauvre en linoléate	Canola	Cargill, DuPont
	Soja	DuPont
	Lin	CSIRO
Pauvre en acides gras saturés	Canola	Cargill, DuPont
	Soja	DuPont, N.C. St. University
Riche en palmitate et/ou stéarate	Toumesol	Instituto de la Grasa
	Canola	Cargill, Monsanto

Tableau 2. Les différentes enzymes de condensation des acyl-CoA élongases.

Gènes	Sources	Substrat spécifique	Voie de biosynthèse	Références
FAEI	<i>A. thaliana</i> , <i>S. napus</i> , <i>S. rapa</i> , <i>S. campestris</i> , <i>S. olearacea</i> , <i>A. porrum</i> , <i>L. annua</i> , <i>L. alba</i>	C18:CoA	Triacylglycérols des graines	James et al. (1995) <i>Plan Cell</i> , 7 : 309-19, Barret et al. (1998) <i>Theor Appl Genet</i> , 96 : 177-86, Clemens et al. (1997) <i>Plant Physiol</i> , 115 : 313, Bao et al. (1998) <i>Plant Physiol</i> , 118 : 183-90, Das et al. (2002) <i>Plant Sci</i> , 162 : 245-50
KCSI	<i>A. thaliana</i> , <i>S. chinensis</i>	C18:0	Cires épicuticulaires	Todd et al. (1999) <i>Plant J</i> , 17 : 119-130 Lassner et al. (1996) <i>Plant Cell</i> , 8 : 281-92
CUT1	<i>A. thaliana</i> ,	C24:0-CoA	Cires épicuticulaires	Millar et al. (1999) <i>Plant Cell</i> , 11 : 825-38
Fiddlehead	<i>A. thaliana</i> ,	Inconnu	Synthèse de la cuticule ?	Pruitt et al. (2000) <i>Proc Natl Acad Sci</i> , 97 : 1311-6
CEELO1	<i>C. elegans</i>	C18:3 (n=6)	Acides gras poly-insaturés	Das et al. (2000) <i>Biochem Soc Trans</i> , 28 : 658-60
GLELO	<i>M. alpina</i> <i>P. patens</i>	C18:4-CoA (n=3) C18:3-CoA (n=6)	Acides gras poly-insaturés	Parker-Baines et al. (2000) <i>Proc Natl Acad Sci</i> , 97 : 8284-9 Zank et al. (2000) <i>Biochem Soc Trans</i> , 28 : 654-7
LKCS3	<i>L. fendleri</i>	C18:0-OH-CoA	Acides hydroxylés	Moon et al. (2001) <i>Plant Physiol</i> , 127 : 1635-43