



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Polyketide synthases in *Cannabis sativa* L

Flores-Sanchez, I.J.

Citation

Flores-Sanchez, I. J. (2008, October 29). *Polyketide synthases in Cannabis sativa L*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13206>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/13206>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

Cannabis sativa L. planten produceren een breed spectrum aan secundaire metabolieten. Deze kunnen worden onderverdeeld in cannabinoïden, flavonoïden, stilbenoïden, terpenoïden, alkaloiden en lignanen. De meest bekende groep van de natuurlijke componenten van deze plant zijn de cannabinoïden. De farmacologische aspecten van deze secundaire metabolieten groep zijn zeer uitgebreid onderzocht en de biosynthese route van de cannabinoïden is gedeeltelijk bekend. Hoewel het bekend is dat geranyl difosfaat (GPP) en olivetolzuur de eerste precursors zijn in deze biosynthese route, is de biosynthese van olivetolzuur nog niet aangetoond. Er is gesuggereerd dat de olivetol biosynthese geïnitieerd kan worden door een polyketide synthase (PKS). Dit proefschrift gaat over de karakterisering van polyketide synthases in cannabis planten.

Van *C. sativa* zijn er meer dan 480 verbindingen geïdentificeerd waarvan er waarschijnlijk slechts 247 secundaire metabolieten zijn. Deze groep kan onderverdeeld worden in cannabinoïden, flavonoïden, stilbenoïden, terpenoïden, alkaloiden en lignanen. Maar, wat weten we over de biosynthese en over de functie van deze verbindingen in de plant? **Hoofdstuk 1** is een samenvatting waarin de natuurlijke verbindingen uit cannabis worden beschreven vanuit een biosynthese perspectief. Het blijkt dat enzymen die tot de polyketide synthase groep behoren betrokken kunnen zijn bij de biosynthese van de initiële precursors van de cannabinoïd, flavonoïd en stilbenoïd biosynthese routes.

De polyketide synthases (PKSs) zijn compacte enzymen welke een zeer groot aantal polyketide verbindingen maken. In planten zijn er verschillende PKSs geïdentificeerd en bestudeerd. Een overzicht van aspecten zoals specificiteit, reactiemechanisme, structuur als ook de evolutie wordt gegeven in **Hoofdstuk 2**.

In **Hoofdstuk 3** staat het onderzoek beschreven van ruwe eiwitextracten van cannabis plantweefsels naar de enzymactiviteiten van polyketide synthase. Er

zijn verschillen in activiteit van chalcone synthase (CHS), stilbeen synthase (STS) en olivetol-vormende PKSs waargenomen tijdens de ontwikkeling en groei van de klierhaartjes op de vrouwelijke bloemen. Hoewel de biosynthese en ophoping van cannabinoïden plaats vindt in de klierhaartjes, is er in dit weefsel geen activiteit van een olivetolzuur-vormend PKS waargenomen. Analyse van verschillende weefsels toonde verschillen aan in de concentraties van cannabinoïden en flavonoïden. Dit suggereert dat er een complexe regulatie is op de fluxen van de verschillende biosyntheseroutes in de plant.

In **Hoofdstuk 4** wordt *in silicio* de genexpressie beschreven van een PKS geïsoleerd uit de klierhaartjes. De verkregen aminozuursequentie vertoonde 51–72% identiteit met andere CHS/STS type sequenties van de PKS familie. Fylogenetisch onderzoek toonde aan dat deze PKS (PKSG2) overeen kwam met andere niet-chalcone en stilbeen-producerende PKSs. Model analyses op basis van de homologie van deze cannabis PKS voorspelde een “3D-overall” vouwing van het eiwit, vergelijkbaar met het lucerne CHS2, met kleine sterische verschillen van de residuen die de “active site” vormen van het PKSG2.

Het induceren van *Cannabis sativa* celcultures is beschreven voor verschillende doeleinden. Maar tot nog toe zijn in celcultures de cannabinoïden nog niet aangetoond. Hoewel bij celcultures elicitering wel is toegepast voor het induceren en/of verbeteren van de secundaire metaboliet productie, zijn er geen gegevens beschikbaar betreffende het elicitering effect op de secundaire metaboliet productie in *C. sativa* celcultures. In **Hoofdstuk 5** wordt het effect van elicitering op het secundaire metabolisme van de celcultures beschreven. Metabolietprofielen, geanalyseerd met behulp van ¹H-NMR spectroscopie en “principal component analysis (PCA)” vertoonde variaties in enkele van de metabolietgroepen. Echter zowel in de controle als in de geëliciteerde cannabis celcultures zijn er geen cannabinoïden gevonden in. Met behulp van een tijdreeks werd de genexpressie van THCA-synthase gevolgd. De resultaten suggereren dat andere verbindingen uit de signaalroute de cannabinoïd biosynthese route kunnen reguleren

.