



# Highlights der Forschung 2005

Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie

## Abteilung Naturstoff-Biotechnologie Department of Natural Product Biotechnology Prof. Toni M. Kutchan



### Alkaloidbiosynthese

Schlafmohn, *Papaver somniferum*, produziert eine Reihe von pharmazeutisch wichtigen Alkaloiden, von denen das Narkotikum Morphin und das Hustenmittel Codein die bekanntesten Vertreter sind. Sie werden noch heute kommerziell aus den Kapseln der Pflanze gewonnen. Die Biosynthese der Alkaloide ist mehrfach verzweigt und führt zu mehreren

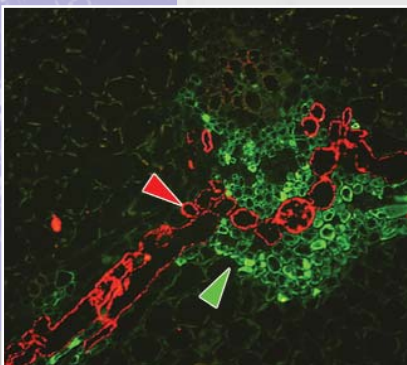
Endprodukten, welche sich zum Großteil im Milchsaft (Latex) der Pflanze anreichern. Die AG Alkaloidbiosynthese erforscht die bisher wenig untersuchte Regulation dieser komplexen Synthese. Neben den Fragen, welche Gene dabei wann und wie aktiviert werden, scheint nach jüngsten Ergebnissen, auch der Ort der Gentranskription eine wichtige Rolle bei der Regulation zu spielen. Die Immunolokalisierung von fünf beteiligten Enzymen zeigte, dass die Synthese der Alkaloide wahrscheinlich in verschiedenen

Zelltypen stattfindet. So erfolgt die Morphinproduktion zunächst in den Parenchymzellen der Leitbündel, wird aber später offenbar in die Latexzellen verlagert. Diese räumliche Trennung der Synthese erfordert sowohl den interzellulären Transport der Zwischenprodukte als auch einen bestimmten Differenzierungsgrad der Zellen. Für diese Theorie spricht auch, dass Morphin als eines der Endprodukte bisher nur aus Gewebekulturen mit intakten Latexzellen, nicht aber aus undifferenzierten Zellkulturen (ohne Latexzellen)

gewonnen werden konnte. Das Bild zeigt den Querschnitt einer Schlafmohnkapsel, an dem die Latexzellen durch Immunfärbungen rot und ein beteiligtes Synthesenzym (SalAT) grün markiert sind.

### Alkaloid Biosynthesis

The opium poppy *Papaver somniferum*, one of the mankind's oldest medicinal plants, is still today the commercial source of the narcotic analgesics morphine and codeine. Along with these two morphinans, opium poppy produces in a branched pathway approximately 80 different alkaloids. The complex process of biosynthesis and its less investigated regulation are the focus of our research. Biochemical data suggested an involvement of multiple cell types in alkaloid biosynthesis in poppy. By immunolocalization of five enzymes of alkaloid formation, we arrived at the conclusion that e.g. the early stages of morphine biosynthesis occur in parenchyma cells surrounding laticifers and then at late stages it moves into the laticifer, which is the storage site of the morphinans. This observation suggests why morphine is not accumulated in undifferentiated *P. somniferum* cell cultures - noting that laticifers are absent from these cultures, but present in tissue cultures. In summary, the intercellular transport of alkaloidal intermediates as well as the level of cellular differentiation add a potential level of regulation to morphine biosynthesis. The picture shows immunolabeling of the acetyltransferase SalAT (in green) of morphine biosynthesis in a cross-section of capsule of *P. somniferum*. The position of laticifers is indicated in red.



### Arbeitsgruppen / Research Groups

**Alkaloidbiosynthese**  
Alkaloid Biosynthesis  
Toni M. Kutchan

**Schlafmohn - Biotechnologie**  
Opium Poppy Biotechnology  
Susanne Frick

**Jasmonat-Wirkungsweise**  
Mode of Action of Jasmonates  
Claus Wasternack & Otto Miersch

**Papaver Genexpressionsanalyse**  
Papaver Gene Expression Analysis  
Jörg Ziegler

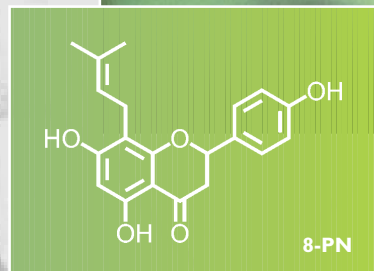
## Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie Department of Bioorganic Chemistry Prof. Ludger Wessjohann



### Isoprenoide

Hopfen (*Humulus lupulus*) wurde dem Bier ursprünglich nicht als Geschmackskomponente zugesetzt, sondern um die Haltbarkeit

zu erhöhen, denn die Hopfenbitterstoffe besitzen milde antibiotische Eigenschaften. Jüngere, ausführlichere Untersuchungen der Inhaltsstoffe von Hopfendolden und deren Fermentationsprodukten führten zur Aufklärung einer Vielzahl weiterer Substanzen mit phytomedizinischen Eigenschaften. Herausragend ist dabei 8-Prenylnaringenin, 8-PN, das stärkste bekannte Phytoestrogen, welches aber nur in kleinen Mengen gebildet wird. Phytoestrogene sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe mit milder östrogenen Wirkung ohne ein Steroidhormon zu sein. Sie haben ein gutes pharmakologisches Profil und können z.B. beim prämenstruellen Syndrom eingesetzt werden. Die Arbeitsgruppe Isoprenoide der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie entwickelte ein patentiertes Verfahren, das erlaubt 8-PN aus dem verfügbaren Hopfenprodukt Xanthohumol in hoher Ausbeute zu erhalten, ohne das natürliche Kohlenstoffgerüst des Wirkstoffes anzutasten oder Schutzgruppen zu benötigen.



Hopfendolden

Die Arbeitsgruppe Isoprenoide der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie entwickelte ein patentiertes Verfahren, das erlaubt 8-PN aus dem verfügbaren Hopfenprodukt Xanthohumol in hoher Ausbeute zu erhalten, ohne das natürliche Kohlenstoffgerüst des Wirkstoffes anzutasten oder Schutzgruppen zu benötigen.

### Arbeitsgruppen / Research Groups

**Pflanzen- und Pilzinhaltstoffe / Microanalytik**  
Plant and Fungal Metabolites / Microanalytics  
Norbert Arnold & Jürgen Schmidt

**Strukturanalytik & Computerchemie**  
Structural Analysis & Computational Chemistry  
Wolfgang Brandt & Andrea Porzel

**Isoprenoide**  
Isoprenoids  
Ludger Wessjohann

**Synthese & Methodenentwicklung**  
Synthesis & Method Development  
Ludger Wessjohann & Bernhard Westermann

### Isoprenoids

Hops (*Humulus lupulus*) originally was not added to the beer brewing process for flavouring purposes, but because of the mild antibiotic properties of its bitter acids acting as preservatives. More recent studies revealed a spectrum of other constituents with phyto medicinal relevance, most prominently xanthohumol and 8-prenylnaringenin (8-PN). The latter is the strongest phytoestrogen known so far, but is formed only in minute amounts. Phytoestrogens are plant derived substances with mild estrogenic properties and a favorable pharmacological profile used, e.g., in PMS treatment, without being a steroid hormone. The Department of Bioorganic Chemistry developed a patented process to convert the available hop constituent xanthohumol to 8-PN in high yield, without effecting the natural carbon skeleton and without a need for protective group chemistry.

## Abteilung Stress- und Entwicklungsbiologie Department of Stress and Developmental Biology Prof. Dierk Scheel



### Zelluläre Signaltransduktion

Pflanzen haben im Laufe der Evolution hocheffiziente Abwehrstrategien gegen ein breites Spektrum mikrobieller Invasoren entwickelt. Durch Rezeptoren auf der pflanzlichen Zellmembran werden bestimmte Oberflächenstrukturen der Erreger erkannt und als „fremd“ eingestuft. Das Signal wird über aufeinanderfolgende Kinasekaskaden ins Innere

der Zelle und in den Zellkern weitergeleitet, wo es die Aktivierung von Abwehrgenen auslöst. Die Übertragung der Information erfolgt durch Phosphorylierung der einzelnen Signalübertragungsmodule, den sogenannten Mitogen-aktivierten Protein (MAP)-Kinasen. Viele Module dieser MAP-Kinase-Kaskaden sind noch unbekannt. Wissenschaftler der Arbeitsgruppe *Zelluläre Signaltransduktion* suchen nach den fehlenden Bausteinen, speziell nach den Reaktionspartnern der MAP-Kinasen AtMPK3 und AtMPK6 aus *Arabidopsis thaliana*. Dafür wurden in einem Proteinarray (siehe Abbildung) mit 1700 *Arabidopsis*-Proteinen Kinase-

reaktionen durchgeführt. Im Ergebnis des Screens konnten mehrere mögliche Substrate der beiden Enzyme identifiziert werden. Viele der gefundenen Proteine haben als Transkriptionsfaktoren, Rezeptoren, Splicing-Faktoren oder Histone eine Funktion in der großen Maschinerie der zellulären Signaltransduktion.

#### Arbeitsgruppen/Research Groups

##### Molekulare Kommunikation in Pflanze-Pathogen-Interaktionen

Molecular Communication in Plant-Pathogen Interactions  
Wolfgang Knogge

##### Zelluläre Signaltransduktion

Cellular Signaling  
Dierk Scheel & Justin Lee

##### Induzierte Pathogenabwehr

Induced Pathogen Defense  
Dierk Scheel & Sabine Rosahl

##### Metallhomöostase

Metal Homeostasis  
Stephan Clemens

##### Bioinformatik & Massenspektrometrie

Bioinformatics & Mass Spectrometry  
Steffen Neumann



### Cellular Signaling

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascades are highly conserved eukaryotic signal transduction modules that convey signals from various extra- and intracellular stimuli into the specific cellular responses. This proceeds via a series of consecutive kinase events that modify the activity/function of the phosphorylated protein substrates. To dissect the role of MAPK in plant defence

reactions, we focus on identifying MAPK substrates which are the least well understood of all studied eukaryote systems. A screen for substrates of AtMPK3 and AtMPK6, two *Arabidopsis* MAPKs involved in plant stress responses, was initiated by using kinase reactions on high-density protein arrays consisting of ca. 1.700 unique *Arabidopsis* proteins. Based on this *in vitro* screen, many potential substrates, including transcription factors/regulators, splicing factors, receptors, histones, ribosomal proteins and many others that are potentially involved in intracellular signaling, were identified. Interestingly, the one and only real plant MAPK phospho-substrate reported to-date was also found with our screen. This demonstrates the potential of our screening method in identifying authentic MAPK substrates of physiological relevance.

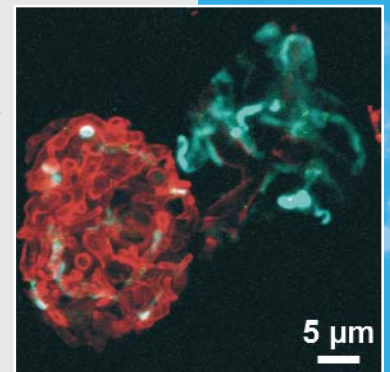
## Abteilung Sekundärstoffwechsel Department of Secondary Metabolism Prof. Dieter Strack



### Zellbiologie der Mykorrhiza

#### Plastiden in den Wurzeln mykorrhizierter Pflanzen

Plastiden erfüllen neben der Photosynthese viele weitere Aufgaben im pflanzlichen Stoffwechsel. Die Arbeitsgruppe *Zellbiologie der Mykorrhiza* untersucht, welche Rolle die Organellen bei der Etablierung der arbuskulären Mykorrhiza spielen. Jüngste Ergebnisse zeigen, dass es während der Symbiose zu einer dramatischen Vermehrung der Plastiden kommt, verbunden mit der Biosynthese von Fettsäuren, Aminosäuren und Carotenoidabkömmlingen. Gestalt und Stoffwechsel der Plastiden hängen dabei vom jeweiligen Stadium der Symbiose ab. So sind die Arbuskeln in der Frühphase der Entwicklung von zahlreichen linsenförmigen Plastiden umgeben, die wahrscheinlich den erhöhten Bedarf des Pilzes an Fett- und Aminosäuren decken. Im Gegensatz dazu kommt es später beim Zerfall der Arbuskel zur Ausbildung tubulärer Plastiden und der Anreicherung eines Enzyms (DXR), das an der Produktion von Carotenoidabbauprodukten beteiligt ist. Der Grund für diese Wandlung der Plastiden während der Entwicklung der Symbiose ist zur Zeit noch ungeklärt. Die abgebildete CLSM-Aufnahme zeigt einen intakten und einen zerfallenden Arbuskel; die Pilzstrukturen wurden rot, das beteiligte DXR-Enzym blau und das Plastidenteilungsprotein FtsZ grün dargestellt.



5 µm

5 µm

### Cell Biology of Mykorrhiza

#### Plastids in arbuscular mycorrhizal roots

Apart from photosynthesis, plastids have many other functions in plant metabolism. A particularly dramatic proliferation of these organelles, connected to the biosynthesis of fatty acids, amino acids and of carotenoid oxidation products (apocarotenoids) is observed, when root cortical cells are colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. Plastid shape and metabolism vary depending on the respective symbiotic stage. The CLSM micrograph (superposition of 30 optical sections of 0.49 µm) shows a degraded and an intact arbuscule after labelling fungal material (red color), immunolocalizing an enzyme involved in apocarotenoid accumulation (DXR, blue color), and a protein involved in plastid division (FtsZ, green color). DXR activity is almost exclusively located near the decomposing arbuscule. The functional reason for this concomitant formation of tubular plastids and the accumulation of apocarotenoids is still unclear. The early phase of arbuscule development, in contrast, is characterized by large numbers of lens-shaped plastids and certainly constitutes a strong demand for other plastid products like fatty acids and amino acids.

#### Arbeitsgruppen/Research Groups

##### Phenylpropanstoffwechsel

Metabolism of Phenylpropanoids  
Dieter Strack & Carsten Milkowski

##### Molekulare Physiologie der Mykorrhiza

Molecular Physiology of Mycorrhiza  
Michael H. Walter

##### Zellbiologie der Mykorrhiza

Cell Biology of Mycorrhiza  
Bettina Hause

##### Metabolite Profiling & Enzymbiochemie

Metabolite Profiling & Biochemistry of Enzymes  
Willibald Schliemann