

REIVINDICACIONES

Se reivindica:

1. Un método *in vivo* mejorado para la producción de nivel elevado de cannabinoides solubles en agua en un cultivo celular de suspensión de *Cannabis* que comprende las etapas de:

- expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo p450 heterólogo;
- expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga;
- expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa;
- expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de ABC heterólogo;
- expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica un factor de transcripción myb; y
- expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga.

2. El método de la reivindicación 1, donde dicho cultivo celular de suspensión de *Cannabis* comprende un cultivo celular de suspensión de *Cannabis sativa*.

3. El método de la reivindicación 1, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

4. El método de la reivindicación 3, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

5. El método de la reivindicación 4, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de un fosfato de dinucleótido de nicotinamida-adenina (NADPH) a dicho citocromo P450.

6. El método de la reivindicación 5, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 3.

7. El método de la reivindicación 6, donde dicha glucosiltransferasa es una glucosiltransferasa heteróloga.

8. El método de la reivindicación 7, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 7, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 7.

9. El método de la reivindicación 7, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es una glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana*.
10. El método de la reivindicación 9, donde dicha glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 29, SEQ ID NO. 31, SEQ ID NO. 33, SEQ ID NO. 35, SEQ ID NO. 37, SEQ ID NO. 39, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas, o una secuencia homóloga en *Nicotiana benthamiana*.
11. El método de la reivindicación 1, donde dicho transportador de ABC heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 9, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 9.
12. El método de la reivindicación 1, donde dicho factor de transcripción myb es un factor de transcripción myb12 endógeno de *Cannabis* o un ortólogo de este.
13. El método de la reivindicación 12, donde dicho factor de transcripción myb endógeno de *Cannabis* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.
14. El método de la reivindicación 1, donde dicha catalasa heteróloga se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.
15. El método de la reivindicación 1, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.
16. El método de la reivindicación 1, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.
17. El método de la reivindicación 16, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.
18. El método de la reivindicación 1, donde dichos cannabinoides solubles en agua están aislados.
19. Un método *in vivo* para la producción de cannabinoides solubles en agua en un cultivo celular de suspensión de *Cannabis* que comprende las etapas de:
- expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de citocromo p450 heterólogo;
 - expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga; y
 - expresar en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa.
20. El método de la reivindicación 19, donde dicho cultivo celular de suspensión de *Cannabis* comprende un cultivo celular de suspensión de *Cannabis sativa*.

21. El método de la reivindicación 19, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.
22. El método de la reivindicación 21, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.
23. El método de la reivindicación 22, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de un fosfato de dinucleótido de nicotinamida-adenina (NADPH) a dicho citocromo P450.
24. El método de la reivindicación 23, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 3.
25. El método de la reivindicación 24, donde dicha glucosiltransferasa es una glucosiltransferasa heteróloga.
26. El método de la reivindicación 25, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 7, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 7.
27. El método de la reivindicación 25, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es una glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana*.
28. El método de la reivindicación 27, donde dicha glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 26, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 29, SEQ ID NO. 31, SEQ ID NO. 33, SEQ ID NO. 35, SEQ ID NO. 37, SEQ ID NO. 39, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas, o una secuencia homóloga en *Nicotiana benthamiana*.
29. El método de la reivindicación 19, y que expresa adicionalmente en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de ABC identificado como SEQ ID NO. 9, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 9.
30. El método de la reivindicación 19, y que expresa adicionalmente en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica un factor myb de *Cannabis* que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.
31. El método de la reivindicación 19, y que expresa adicionalmente en una célula de *Cannabis* modificada genéticamente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias

enumeradas.

32. El método de la reivindicación 19, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.

33. El método de la reivindicación 19, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.

34. El método de la reivindicación 19, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.

35. El método de la reivindicación 19, donde dichos cannabinoides solubles en agua están aislados.

36. Un método *in vivo* para la producción de cannabinoides hidroxilados y glicosilados en un cultivo celular de suspensión de *Cannabis* que comprende las etapas de:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidoreductasa P450 heteróloga; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa heteróloga; y
- expresar en una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de ABC.

37. Un método *in vivo* mejorado para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en un tricoma de *Cannabis*:

- una planta de *Cannabis*;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidoreductasa P450 heteróloga;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa que tiene una secuencia que se dirige a tricoma;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de glucosa de UDP/UDP-galactosa heterólogo que tienen una secuencia que se dirige a la membrana plasmática;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un factor de transcripción myb; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga.

38. El método de la reivindicación 37, donde dicha planta de *Cannabis* comprende *Cannabis sativa*.

39. El método de la reivindicación 37, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide

hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

40. El método de la reivindicación 39, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

41. El método de la reivindicación 37, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de un NADPH a dicho citocromo P450.

42. El método de la reivindicación 41, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 3.

43. El método de la reivindicación 42, donde dicha glucosiltransferasa que tiene una secuencia que se dirige a tricoma es una glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma.

44. El método de la reivindicación 43, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma es identificada como SEQ ID NO. 19, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 19.

45. El método de la reivindicación 43, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma es una glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana* que tiene una secuencia que se dirige a tricoma.

46. El método de la reivindicación 37, donde dicho factor de transcripción myb es un factor de transcripción myb12 endógeno de *Cannabis* o un ortólogo de este.

47. El método de la reivindicación 46, donde dicho factor de transcripción myb endógeno de *Cannabis* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

48. El método de la reivindicación 37, donde dicha catalasa heteróloga se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

49. El método de la reivindicación 37, donde dicha catalasa heteróloga comprende una catalasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma.

50. El método de la reivindicación 49, donde dicha catalasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 47, SEQ ID NO. 48, SEQ ID NO. 49, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

51. El método de la reivindicación 37, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.

52. El método de la reivindicación 37, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.

53. El método de la reivindicación 52, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.

54. El método de la reivindicación 37, donde dichos cannabinoides solubles en agua están aislados.

55. El método de la reivindicación 37, donde dicho transportador de UDP-glucosa/UDP-galactosa que tiene una secuencia objetivo de membrana plasmática transporta sustrato de azúcar a dicha glucosiltransferasa que tiene una secuencia que se dirige a tricoma en dicho tricoma de *Cannabis*.

56. El método de la reivindicación 55, donde dicho transportador de UDP-glucosa/UDP-galactosa que tiene una secuencia que se dirige a la membrana plasmática es identificado como SEQ ID NO. 21, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 21.

57. Un método *in vivo* para la producción de cannabinoides hidroxilados y glicosilados en un cultivo celular de suspensión de *Cannabis* que comprende las etapas de:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa heteróloga.

58. Un método *in vivo* para la producción de cannabinoides hidroxilados en un planta de *Cannabis* que comprende las etapas de:

- una planta de *Cannabis* modificada genéticamente que expresa:
- una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de citocromo P450 heterólogo; y
- una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga.

59. El método de la reivindicación 58, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

60. El método de la reivindicación 59, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

61. El método de la reivindicación 58, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de un NADPH a dicho citocromo P450.

62. El método de la reivindicación 61, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID

NO. 3.

63. Un método *in vivo* para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en un tricoma de *Cannabis*:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa que tiene una secuencia que se dirige a tricoma; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de glucosa de UDP/UDP-galactosa heterólogo que tienen una secuencia que se dirige a la membrana plasmática.

64. El método de la reivindicación 63, donde dicho *Cannabis* comprende *Cannabis sativa*.

65. El método de la reivindicación 63, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

66. El método de la reivindicación 65, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

67. El método de la reivindicación 63, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de NADPH al citocromo P450.

68. El método de la reivindicación 67, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 3.

69. El método de la reivindicación 68, donde dicha glucosiltransferasa que tiene una secuencia que se dirige a tricoma es una glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma.

70. El método de la reivindicación 69, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma es identificada como SEQ ID NO. 19, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 7.

71. El método de la reivindicación 69, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma es una glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana* que tiene una secuencia que se dirige a tricoma.

72. El método de la reivindicación 63 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica un factor myb de *Cannabis* que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una

secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

73. El método de la reivindicación 63 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

74. El método de la reivindicación 63, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.

75. El método de la reivindicación 63, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.

76. El método de la reivindicación 75, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.

77. El método de la reivindicación 63, donde dichos cannabinoides solubles en agua están aislados.

78. El método de la reivindicación 63, donde dicho transportador de UDP-glucosa/UDP-galactosa que tiene una secuencia que se dirige a la membrana plasmática es identificado como SEQ ID NO. 21, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 21.

79. Un método *in vivo* mejorado para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en el citosol de una célula de *Cannabis*:

- generar una cepa de *cannabis* donde uno o más genes de sintasa de cannabinoide ha sido alterado y/o inactivado;
- expresar en dicha cepa de *cannabis* una o más sintasas cannabinoides que corresponden al gen inactivado y donde dicha una o más sintasas cannabinoides que tienen su señal dirigida a tricoma alterada y/o quitada;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un factor de transcripción myb; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga.

80. El método de la reivindicación 79, donde dicho uno o más genes de sintasa de cannabinoides comprende un gen de sintasa de cannabinoides que se selecciona del grupo que consiste en: un gen de sintasa de CBG, un gen de sintasa de THCA, un gen de sintasa de CBDA, o un gen de sintasa de CBCA.

81. El método de la reivindicación 80, donde dicha una o más sintasas cannabinoides

que tienen su señal dirigida a tricoma alterada y/o quitada se seleccionan del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 22 o SEQ ID NO. 46, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquier secuencia.

82. El método de la reivindicación 79, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

83. El método de la reivindicación 82, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

84. El método de la reivindicación 83, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de NADPH al citocromo P450.

85. El método de la reivindicación 84, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 3.

86. El método de la reivindicación 85, donde dicha glucosiltransferasa es una glucosiltransferasa heteróloga.

87. El método de la reivindicación 86, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 7, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 7.

88. El método de la reivindicación 86, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es una glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana*.

89. El método de la reivindicación 88, donde dicha glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 26, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 29, SEQ ID NO. 31, SEQ ID NO. 33, SEQ ID NO. 35, SEQ ID NO. 37, SEQ ID NO. 39, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas de una secuencia homóloga de *Nicotiana benthamiana*.

90. El método de la reivindicación 79 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de ABC identificado como SEQ ID NO. 9, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 9.

91. El método de la reivindicación 79 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica un factor myb de *Cannabis* que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

92. El método de la reivindicación 79 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

93. El método de la reivindicación 79, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.

94. El método de la reivindicación 79, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.

95. El método de la reivindicación 94, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.

99. El método de la reivindicación 79, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides hidroxilados.

100. Un método *in vivo* para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en el citosol de una célula de *Cannabis*:

- generar una cepa de *cannabis* donde uno o más genes de sintasa de cannabinoide ha sido alterado y/o inactivado;
- expresar en dicha cepa de *cannabis* una o más sintasas cannabinoides que corresponden al gen inactivado y donde dicha una o más sintasas cannabinoides tienen su señal dirigida a tricoma alterada y/o quitada;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa.

101. El método de la reivindicación 100, donde dicho uno o más genes de sintasa de cannabinoides comprende un gen de sintasa de cannabinoides que se selecciona del grupo que consiste en: un gen de sintasa de CBG, un gen de sintasa de THCA, un gen de sintasa de CBDA, o un gen de sintasa de CBCA.

102. El método de la reivindicación 101, donde dicha una o más sintasas cannabinoides que tienen su señal dirigida a tricoma alterada y/o quitada comprenden la SEQ ID NO. 22 o SEQ ID NO. 46, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquier secuencia.

103. El método de la reivindicación 100, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

104. El método de la reivindicación 103, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

105. El método de la reivindicación 104, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de NADPH al citocromo P450.

106. El método de la reivindicación 105, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ

ID NO. 3.

107. El método de la reivindicación 106, donde dicha glucosiltransferasa es una glucosiltransferasa heteróloga.

108. El método de la reivindicación 107, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 7, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 7.

109. El método de la reivindicación 107, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es una glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana*.

110. El método de la reivindicación 109, donde dicha glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 26, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 29, SEQ ID NO. 31, SEQ ID NO. 33, SEQ ID NO. 35, SEQ ID NO. 37, SEQ ID NO. 39, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas, o una secuencia homóloga de *Nicotiana benthamiana*.

110. El método de la reivindicación 100 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica un factor myb de *Cannabis* que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

111. El método de la reivindicación 100 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas anteriormente.

112. El método de la reivindicación 100, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.

113. El método de la reivindicación 100, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.

114. El método de la reivindicación 113, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.

115. El método de la reivindicación 100, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides hidroxilados.

116. Un método *in vivo* mejorado para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en un citosol de célula de una planta que no produce cannabinoides:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de sintasa cannabinoide heteróloga donde la secuencia dirigida a tricoma ha sido inactivada y/o quitada;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa;
- Expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga; y
- introducir una cantidad de cannabinoides a dicha planta que no produce cannabinoides.

117. El método de la reivindicación 116, donde dicha planta que no produce cannabinoides es *Nicotiana benthamiana*.

118. El método de la reivindicación 116, donde dicha uno o más enzimas de sintasa de cannabinoides heterólogos donde la secuencia que se dirige a tricoma ha sido inactivada y/o quitada comprende un gen de sintasa de cannabinoides que se selecciona del grupo que consiste en: un gen de sintasa de CBG, un gen de sintasa de THCA, un gen de sintasa de CBDA, o un gen de sintasa de CBCA.

119. El método de la reivindicación 118, donde dicha secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de sintasa de cannabinoide heterólogo donde la secuencia que se dirige al tricoma ha sido inactivada y/o quitada comprende una enzima de sintasa de cannabinoide heteróloga donde la secuencia que se dirige a tricoma ha sido inactivada y/o quitada identificada como SEQ ID NO. 46, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 46 o SEQ ID NO. 22, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 22.

120. El método de la reivindicación 116, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

121. El método de la reivindicación 120, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

122. El método de la reivindicación 121, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de NADPH al citocromo P450.

123. El método de la reivindicación 122, donde dicha oxidorreductasa P450 heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 3.

124. El método de la reivindicación 123, donde dicha glucosiltransferasa es una glucosiltransferasa heteróloga.

125. El método de la reivindicación 124, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga es identificada como SEQ ID NO. 7, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 7.

126. El método de la reivindicación VC100, donde dicha glucosiltransferasa es una

glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana*.

127. El método de la reivindicación 126, donde dicha glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 26, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 29, SEQ ID NO. 31, SEQ ID NO. 33, SEQ ID NO. 35, SEQ ID NO. 37, SEQ ID NO. 39, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas, o una secuencia homóloga de *Nicotiana benthamiana*.

128. El método de la reivindicación 116 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica un factor myb de *Cannabis* que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

129. El método de la reivindicación 116 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

130. El método de la reivindicación 116, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.

131. El método de la reivindicación 116, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.

132. El método de la reivindicación 131, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.

133. El método de la reivindicación 116, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides hidroxilados.

134. Un método *in vivo* para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en un citosol de célula de una planta que no produce cannabinoides:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de sintasa cannabinoide heteróloga donde la secuencia dirigida a tricoma ha sido inactivada y/o quitada;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidoreductasa P450 heteróloga;
- expresar una glucosiltransferasa que tiene una secuencia que se dirige a tricoma; y
- introducir una cantidad de cannabinoides a dicha planta que no produce cannabinoides.

135. Un método *in vivo* para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en el tricoma de una planta que no produce cannabinoides:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una o más enzimas de sintasa de cannabinoide heteróloga;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidoreductasa P450 heteróloga;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de glucosa de UDP/UDP-galactosa heterólogo que tienen una secuencia que se dirige a la membrana plasmática;
- Expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga; y
- introducir una cantidad de cannabinoides a dicha planta que no produce cannabinoides.

136. El método de la reivindicación 135, donde dicha planta que no produce cannabinoides es *Nicotiana benthamiana*.

137. El método de la reivindicación 135, donde dicha uno o más enzimas de sintasa de cannabinoides heterólogos donde la secuencia que se dirige a tricoma ha sido inactivada y/o quitada comprende un gen de sintasa de cannabinoides que se selecciona del grupo que consiste en: un gen de sintasa de CBG, un gen de sintasa de THCA, un gen de sintasa de CBDA, o un gen de sintasa de CBCA.

138. El método de la reivindicación 137, donde dicha secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de sintasa de cannabinoide heterólogo donde la secuencia que se dirige al tricoma ha sido inactivada y/o quitada comprende una enzima de sintasa de cannabinoide heteróloga donde la secuencia que se dirige a tricoma ha sido inactivada y/o quitada identificada como SEQ ID NO. 46, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 46 o SEQ ID NO. 22, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 22.

139. El método de la reivindicación 135, donde dicho citocromo P450 heterólogo hidroxila un cannabinoide para formar un cannabinoide hidroxilado y/u oxida un cannabinoide hidroxilado para formar un ácido carboxílico cannabinoide.

140. El método de la reivindicación 139, donde dicho citocromo P450 heterólogo es identificado como SEQ ID NO. 1, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 1.

141. El método de la reivindicación 140, donde dicha oxidoreductasa P450 heteróloga facilita la transferencia de electrones de NADPH al citocromo P450.

142. El método de la reivindicación 141, donde dicha oxidoreductasa P450 heteróloga

es identificada como SEQ ID NO. 3, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 3.

143. El método de la reivindicación 142, donde dicha glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma es identificada como SEQ ID NO. 19, o una secuencia al menos 80 % idéntica a la SEQ ID NO. 19.

144. El método de la reivindicación 135, donde dicha glucosiltransferasa es una glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana benthamiana*.

145. El método de la reivindicación 144, donde dicha glucosiltransferasa de *Nicotiana tabacum* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 26, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 29, SEQ ID NO. 31, SEQ ID NO. 33, SEQ ID NO. 35, SEQ ID NO. 37, SEQ ID NO. 39, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas, cada una que tiene una secuencia que se dirige a tricoma, o una secuencia homóloga de *Nicotiana benthamiana*, cada una que tiene una secuencia que se dirige a tricoma.

146. El método de la reivindicación 135 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica un factor myb de *Cannabis* que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

147. El método de la reivindicación 135 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 13 o SEQ ID NO. 15, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

148. El método de la reivindicación 135 y que expresa adicionalmente una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga que tiene un dominio que se dirige a tricoma que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 47 o SEQ ID NO. 48 o SEQ ID NO. 49 o SEQ ID NO. 50, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

149. El método de la reivindicación 135, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados que tienen uno o más restos de glucósidos.

150. El método de la reivindicación 135, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides glicosilados.

151. El método de la reivindicación 150, donde dichos cannabinoides acetilados comprenden una forma de cannabinoide de O-glucósido de acetilo.

152. El método de la reivindicación 135, donde dichos cannabinoides solubles en agua comprenden cannabinoides hidroxilados.

153. Un método *in vivo* aumentado para la acumulación y producción de alto nivel de cannabinoides solubles en agua en el tricoma de una planta que no produce

cannabinoides:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de sintasa de cannabinoide;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidoreductasa P450 heteróloga;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una glucosiltransferasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de glucosa de UDP/UDP-galactosa heterólogo que tienen una secuencia que se dirige a la membrana plasmática;
- introducir una cantidad de cannabinoides a dicha planta que no produce cannabinoides.

154. Un método *in vivo* mejorado para la producción de cannabinoides solubles en agua en un cultivo de suspensión de células de *Nicotiana benthamiana* que comprende las etapas de:

- generar un cultivo de células en suspensión de *Nicotiana benthamiana*;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de sintasa cannabinoide heteróloga donde la secuencia dirigida a tricoma ha sido inactivada y/o quitada;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidoreductasa P450 heteróloga;
- expresar una glucosiltransferasa endógena;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un transportador de ABC heterólogo;
- Expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga; y
- introducir una cantidad de cannabinoides a dicha planta que no produce cannabinoides.

155. Un método *in vivo* mejorado para glicosilar cannabinoides en *Nicotiana benthamiana* que comprende las etapas de:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una enzima de sintasa de cannabinoide heterólogo;
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un citocromo P450 heterólogo;

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una oxidorreductasa P450 heteróloga;
- introducir una cantidad de cannabinoides a dicha planta que no produce cannabinoides.

156. Un método para aumentar la producción de cannabinoides que comprende las etapas de:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga donde dicha catalasa tiene una secuencia que se dirige a tricoma en una planta que produce cannabinoides.

157. El método de la reivindicación 156, donde dicha planta que produce cannabinoides es *Cannabis Sativa*.

158. El método de la reivindicación 157, donde dicha catalasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 47 o SEQ ID NO. 48 o SEQ ID NO. 49 o SEQ ID NO. 50, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

159. Un método para aumentar la producción de cannabinoides que comprende las etapas de:

- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una catalasa heteróloga donde dicha catalasa tiene una secuencia que se dirige a tricoma; y
- expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un factor de transcripción myb.

160. El método de la reivindicación 159, donde dicha planta que produce cannabinoides es *Cannabis Sativa*.

161. El método de la reivindicación 160, donde dicha catalasa heteróloga que tiene una secuencia que se dirige a tricoma que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 47 o SEQ ID NO. 48 o SEQ ID NO. 49 o SEQ ID NO. 50, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.

162. El método de la reivindicación 159, donde dicho factor de transcripción myb es un factor de transcripción myb12 endógeno de *Cannabis* o un ortólogo de este.

163. El método de la reivindicación 162, donde dicho factor de transcripción myb endógeno de *Cannabis* se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, o una secuencia al menos 80 % idéntica a cualquiera de las secuencias enumeradas.