

Обзорная статья

УДК: 575.164;633.521;633.854

DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-242-256



Ген *f3'5'h (d)* розовой окраски цветка льна – представитель семейства CYP75 класса генов CYP450: от функции класса до функции гена

А. А. Слободкина, А. В. Павлов, Е. А. Пороховинова

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Александровна Слободкина, a.slobodkina@vir.nw.ru

В публикации охарактеризованы флавоноиды – пигменты растений, их роль, классификация, биосинтез. Основное внимание уделено ферментам класса цитохром P450, которые помимо участия в биосинтезе флавоноидов играют большую роль во множестве других процессов, таких как биосинтез полимеров, метаболизм гормонов, защита от неблагоприятных факторов. Представлены различные сведения о гене *F3'5'H*, кодирующем флавоноид-3',5'-гидроксилазу, освещаются ключевые достижения и основные проблемы его изучения. Говорится о роли данного гена в биосинтезе антоцианов, показана принадлежность его продукта к семейству ферментов CYP75 клана CYP71 цитохромов P450, показаны активные центры фермента.

Лен обычно имеет голубой венчик и дельфинидин в качестве основного пигмента его окраски. В данной публикации охарактеризован ген *d (f3'5'h)*, в рецессивном состоянии обуславливающий розовую окраску цветка и пеларгонидин в качестве основного пигмента. Показано, что *F3'5'H* льна относится к ферментам CYP75, но в отличие от большинства других принадлежит к подсемейству CYP75B. Показана возможность множественного аллелизма *F3'5'H*, приводящего к разным фенотипам, что подтверждает уже известный на формально-генетическом уровне множественный аллелизм гена *d* у льна. На данный момент лен – единственный вид, у которого проявление *F3'5'H*-активности шло в ущерб *F3'H* – возможно, потому что лен филогенетически далек от других древних культурных растений и эволюция этого гена связана с селекцией на желтосемянность.

Ключевые слова: *Linum usitatissimum* L., флавоноиды, биосинтез антоцианов, декоративный лен, *flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3'5'H)*, цитохром P450, CYP75

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР (№ FGEM-2025-0008 «Разработка подходов ускоренной селекции для улучшения хозяйственно ценных признаков декоративных и ягодных культур»).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Слободкина А.А., Павлов А.В., Пороховинова Е.А. Ген *f3'5'h (d)* розовой окраски цветка льна – представитель семейства CYP75 класса генов CYP450: от функции класса до функции гена. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2025;186(1):242-256. DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-242-256

SURVEYS

Review article

DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-242-256

The *f3'5'h (d)* gene for pink coloring of flax flowers is a member of the CYP75 family within the CYP450 gene class: from class function to gene function

Anastasia A. Slobodkina, Andrey V. Pavlov, Elizaveta A. Porokhovinova

N.I. Vavilov All-Russian All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Anastasia A. Slobodkina, a.slobodkina@vir.nw.ru

The publication characterizes flavonoids – plant pigments, their role, classification, and biosynthesis. Attention is mainly paid to the enzymes of the cytochrome P450 class, which, in addition to their participation in flavonoid biosynthesis, play a major role in many other processes, such as polymer biosynthesis, hormone metabolism, and defense against unfavorable factors. Various information about the *flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3'5'H)* gene is presented, highlighting key advances and major problems in its study. The role of this gene in anthocyanin biosynthesis is discussed, its product is shown to belong to the CYP75 enzyme family from the CYP71 clan of cytochromes P450, and the active centers of the enzyme are displayed.

Flax usually has a blue corolla, and delphinidin as the main pigment in its coloration. In this publication, we characterized the *d* gene (*f3'5'h*), which in recessive condition causes pink flower coloration and pelargonidin as the main pigment. It was shown that F3'5'H in flax belongs to CYP75 enzymes, but unlike most others is attributed to the CYP75B subfamily rather than CYP75A. The possibility of multiple allelism of *F3'5'H* leading to different phenotypes was demonstrated, which confirms the multiple allelism of the *d* gene in flax, already known at the formal genetic level. At present, flax is the only species wherein the emergence of F3'5'H activity went to the detriment of F3'H, probably because flax is phylogenetically distant from other ancient cultivated plants and its evolution is associated with selection for yellow seed color.

Keywords: *Linum usitatissimum* L., flavonoids, anthocyanin biosynthesis, ornamental flax, *flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3'5'H)*, cytochrome P450, CYP75

Acknowledgments: the work was carried out within the framework of the state task assigned to VIR according to the theme plan of research (No. FGEM-2025-0008 “Development of accelerated breeding approaches to the improvement of valuable agronomic characters in ornamental and berry crops”).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Slobodkina A.A., Pavlov A.V., Porokhovinova E.A. The *f3'5'h (d)* gene for pink coloring of flax flowers is a member of the CYP75 family within the CYP450 gene class: from class function to gene function. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2025;186(1):242-256. DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-242-256

Введение

Linum usitatissimum L. – ценная прядильная и масличная культура, выращиваемая на всех континентах Земли, за исключением Антарктиды. Среди прядильных растений лен-долгунец занимает третье место в мире по площади возделывания после хлопчатника и джута, а лен масличный – десятое среди масличных после сои, рапса, арахиса, масличной пальмы, подсолнечника, кунжута, кокоса и оливы (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>). В настоящее время интерес к культуре льна стремительно растет, и в связи с этим во многих странах непрерывно расширяются площади посева данной культуры. Общемировая площадь посевов льна-долгунца составляет 0,26 млн га, а льна масличного – 4,5 млн га (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>). Лен масличный за 10 лет – с 2013 по 2022 г. – удвоил свои общемировые площади, тогда как лен-долгунец практически не изменил их. Несмотря на то что среди культур, производящих волокно, лен-долгунец является наиболее ценным видом, площади под ним в России катастрофически уменьшились – с 46 тыс. га в 2013 г. до 33 тыс. га в 2022 г. (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>).

У *L. usitatissimum* выделяют пять подвидов (Elladi, 1940): евроазиатский (*eurasiaticum* Vav. et Ell.), индо-абиссинский (*indo-abysynicum* Vav. et Ell.), средиземноморский (*mediterraneum* Vav. et Ell.), индостанский (*hindustanicum* Ell.) и промежуточный (*transitorium* Ell.). Большинство из них имеют голубую окраску венчика, в отличие от диких видов *L. bienne* Mill., *L. angustifolium* Huds., *L. crepitans* Boenn., в норме имеющих светло-сиреневую окраску. Розовая окраска цветка у культурного льна, всегда связанная с оранжевым цветом пыльников и желтым оттенком семян, была описана у всех подвидов, кроме средиземноморского. По результатам наших исследований, она может быть почти белой, белой с розовым оттенком, светло-розовой, розовой и темно-розовой. Значительную роль в проявлении окраски лепестков играют жилки, которые обычно голубовато-розовые, но бывают фиолетово-розовыми, темно-красно-фиолетовыми, розово-фиолетовыми и просто розовыми. Окраска семян у розовоцветкового льна может варьировать от светло-желтой до темно-коричневой и даже черной. Также встречаются пятнистые семена (Porokhovinova, 2002).

Розовая окраска обусловлена различными аллелями гена *pf1* (*pink flower 1*) – *pf1*, *pf-ad*, *pf-d*, впервые описанного Т. Таммес как ген *d*. Большинство розовоцветковых форм имеет желтые семена, цвет которых обуславливается взаимодействием гена *pf-ad* и ослабителя окраски семян *yspf1* (*yellow seeds after pink flower*). Селекционеры проявляют к этому фенотипу повышенный интерес, так как из желтых семян получается более вкусное и светлое масло (Porokhovinova et al., 2018). Только у одного гена – *pf-d* (по классификации Т. Таммес – *d*) известна нуклеотидная последовательность и биохимическая функция его продукта – флавоноид-3',5'-гидроксилаза (Sudarshan et al., 2017), но не ясна генетическая основа серии множественных аллелей по нему.

Мировая коллекции ВИР – самый ценный источник биологического разнообразия льна. На ее основе в ВИР создается генетическая коллекция, которая на март 2024 г. насчитывает 576 линий, из которых 30 имеют розовую окраску венчика, большинство выделены из селекционных образцов России, Франции, Нидерландов, Украины и Аргентины. В основном это межеумки (21), а также долгунцы (5) и кудряши (4) (Porokhovinova, 2019).

Лен на данный момент не имеет широкого распространения как декоративная культура, но в генетической коллекции ВИР содержится большое разнообразие линий льна, которые имеют потенциал для декоративного цветоводства (Rakhmangulov, Tikhonova, 2021; Rakhmangulov et al., 2022; Rakhmangulov, 2022). Лен максимально адаптивен к условиям России и может не только возделываться в полевых условиях, но также способен произрастать вблизи загазованных магистралей (Berková et al., 2022).

В Госреестре РФ представлены 43 сорта масличного льна, из них четыре – 'ВНИИМК630', 'Еруслан', 'Лучезарный' и 'Светлячок' – имеют светло-розовую, почти белую окраску венчика (<https://gossortrf.ru>), однако созданные для производства семян, они быстро проходят стадию цветения и не являются декоративными.

В настоящее время возрастает интерес к созданию желтосемянных сортов льна, так как они более остальных пригодны для хлебопечения – в желтых семенах содержится больше слизи, за счет которой тесто поднимается при выпекании. Также желтосемянность связана и с повышенным содержанием арабиноксиланов, применяемых в пищевой промышленности (Porokhovinova et al., 2019; Minevich, 2022).

Создание розовоцветкового льна двойного использования – декоративного и пищевого – это возможное новое направление в селекции льна.

В связи с этим *цель данного обзора* – обобщение сведений о формировании окраски растений, систематизация имеющихся данных о молекулярно-генетических процессах, определяющих розовую окраску цветка и желтую – семян, а также описание механизмов, лежащих в основе формирования плейотропного действия гена *pf1 (d)*. Для этого необходимо определить путь биосинтеза дельфинидина, дающего голубую окраску венчика льна, выявить ген, мутация в котором приводит к образованию пеларгонидина вместо дельфинидина и розовой окраске цветка. Также нужно охарактеризовать продукт этого гена – фермент, семейство и клан, к которым он относится, так как каждой из перечисленных групп свойственны определенные консервативные участки, участвующие в 3D-сборке фермента с целью его прикрепления к конкретной мембране. Следует прояснить его взаимодействие с другими ферментами, обеспечение связывания с субстратом (флавоноидом) и проведение непосредственно реакции гидроксирования.

Растение – сложный организм, у которого многие функции взаимосвязаны, и поиск перекрывающихся путей биосинтеза может дать выход на контроль синтеза других веществ – вторичных метаболитов фенольной природы.

Флавоноиды – пигменты растений

Важную роль в защите живых организмов от избыточного ультрафиолетового излучения играют пигменты. У растений это хлорофиллы, флавоноиды, каротиноиды и меланины. Флавоноиды представляют разнообразную группу вторичных растительных метаболитов фенольной природы. Путь биосинтеза флавоноидов приводит к образованию основных групп соединений: халконов, флавонов, изофлавонов, флаванолов, флаван-3-олов, антоцианов и проантоцианидинов. Флавоноиды – О-гетероциклические соединения, их структурную основу составляет трициклическая молекула флавана, которая состоит из двух бензольных колец,

обозначаемых А и В, соединенных С3-фрагментом, который вместе с кислородным атомом образует пирановое кольцо. Связующий С3-фрагмент определяет класс, к которому принадлежит тот или иной флавоноид. Антоцианидины имеют гидроксильную группу в положении С3, флавоны – оксигруппу в С4, а флавонолы – гидроксильную группу в С3 и оксигруппу в С4 (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 1)¹.

Флавоноиды внутри каждого класса различают по числу и положению заместителей, обычно ОН-групп, в А и В кольцах, которые дополнительно могут быть метилированы или гликозилированы. У большинства флавоноидов кольцо А имеет ОН-группы либо в положении С7, либо – С5 и С7. Эти группы редко метилируются. Кольцо В практически всегда гидроксильровано в положении С4 и обычно также в С3 и С5, в последних двух случаях ОН-группы часто метилированы (рис. 1) (Britton, 1986). Всего известно свыше 9000 флавоноидов (Williams, Gray, 2004). Внутри классов антоцианов и флавонолов пигменты различаются наличием заместителей в положениях С3' и С5'. Всего известно более 300 отдельных флавонов и флавонолов и около 22 антоцианидинов (Britton, 1986). Ж. Дюбуа с коллегами (Dubois, Harborne, 1975; Dubois et al., 1979) установили, что лепестки льна содержат из антоцианидинов производные дельфинидина, цианидина, пеларгонидина; флавонолы представлены производными кемферола и мирицетина, а флавоны – изоориентином, витексином, изовитексином, вицетином-1 и вицетином-2, причем вне зависимости от антоциановой окраски. Те же флавоны присутствуют и в листьях, плюс, дополнительно, ориентин, люцетин-1 и люцетин-2. Метоксилированные антоцианины у льна не синтезируются (Porokhovina, 2019).

олетового излучения, экстремальных температур, засухи и других факторов абиотического стресса, а при биотическом стрессе – в защите от патогенных микроорганизмов и травоядных животных. Флавоноидные соединения играют ведущую роль в привлечении симбиотических организмов в ризосфере. Флавоноиды участвуют в росте и развитии растений (Pourcel et al., 2007).

Флавоноидные пигменты окрашивают растительные ткани в различные цвета: желтый, розовый, красный, синий, фиолетовый и коричневый, а также видимый только в ультрафиолете цвет. Придавая яркую окраску цветкам, плодам и семенам, в том числе в ультрафиолетовом диапазоне, они привлекают насекомых, птиц и других животных и тем самым способствуют опылению и распространению растений. Значительная доля флавоноидных соединений бесцветна в видимом спектре (Pourcel et al., 2007). Пыльца многих растений имеет желтый цвет благодаря большому количеству флавоноидов. Показано, что у кукурузы в отсутствии этих соединений понижается фертильность пыльцы. Некоторые флавоноиды (кверцетин, апигенин, кемпферол) подавляют полярный транспорт ауксина и таким образом могут влиять на его распределение в растении (Sharova, 2016).

Фенольные компоненты важны не только для растений. Растительная пища, богатая определенными флавоноидами, является источником соединений, полезных для здоровья человека и домашних животных.

Антиоксидантные функции флавоноидов остаются слабоизученными. Наиболее обоснована антиоксидантная активность флаванолов и флавонолов. Лучшим среди них считается кверцетин, который присутствует в растениях в форме рутина (кверцетин-3-рутинозида). Главный его источник в диете человека – лук, также его

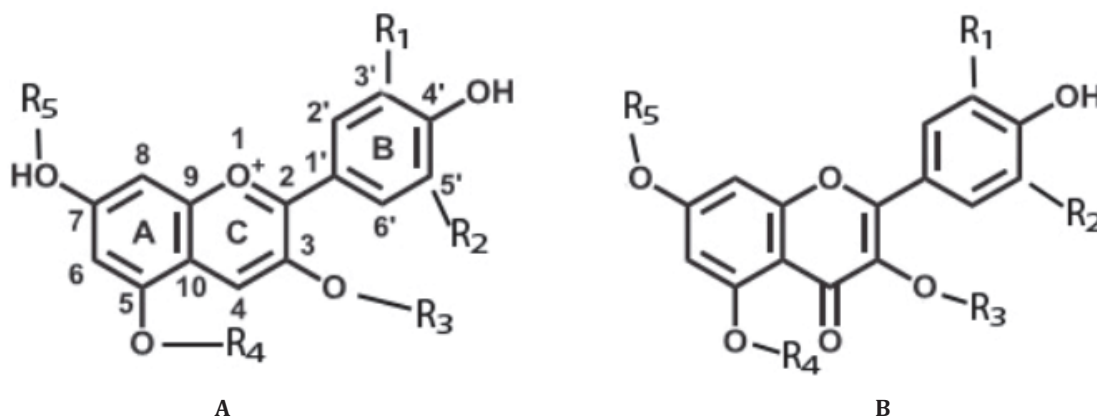


Рис. 1. Расположение заместителей в молекулах антоцианидинов (А) и флавонолов (В).

А: R1 = R2 = Н – пеларгонидин, R1 = ОН, R2 = Н – цианидин, R1 = R2 = ОН – дельфинидин.

В: R1 = R2 = Н – кемпферол, R1 = ОН, R2 = Н – кверцетин, R1 = R2 = ОН – мирицетин. R3, R4, R5 гликозидные остатки, чаще глюкозы, рамнозы и галактозы (по: Porokhovina, 2019)

Fig. 1. Location of substituents in the molecules of anthocyanidins (A) and flavonols (B).

A: R1 = R2 = H – pelargonidin, R1 = OH, R2 = H – cyanidin, R1 = R2 = OH – delphinidin.

B: R1 = R2 = H – kaempferol, R1 = OH, R2 = H – quercetin, R1 = R2 = OH – myricetin. R3, R4 and R5 are glycoside residues, more often glucose, rhamnose, and galactose (according to Porokhovina, 2019)

Биологические функции и механизмы действия флавоноидов разнообразны. В процессе эволюции они сначала играли роль сигнальных молекул, а затем стали участвовать в таких процессах, как защита от ультрафи-

много в коже яблока, во многих ягодах, в том числе в винограде. Доказано действие рутина на укрепление стенок капилляров, что препятствует кровоизлиянию. Поэтому рутин и другие флавоноиды с доказанной терапевтической активностью часто называют витамином Р. Несколько меньшей активностью обладает кемпферол, которого много в цикории, луке-порее, брокколи, чае. Хорошо известна антиоксидантная активность катехинов,

¹ Приложение 1 представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 1. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256>

которых очень много в чае. Флавононов (гесперидин, нарингин) очень много в цитрусовых, а флавонов (апигенин, лютеолин) – в петрушке. Лидерами по антоцианам являются черная смородина и черника. Изофлавоны генистеин, которого много у бобовых и в особенности у сои, является фитоэстрогеном. Флавоноиды также обладают противовоспалительным и антибактериальным действием, ускоряют липидный обмен (Sharova, 2016).

Биосинтез флавоноидов

Флавоноидный путь биосинтеза образует сложную сеть, которая приводит к образованию отдельных групп флавоноидов, включающих антоцианидин, проантоцианидин, флабафеновые пигменты, флавонолы, флавоны и изофлавоны (Winkel et al., 2008). Шаги биосинтеза флавоноидов (рис. 2) неплохо изучены (Holton, Cornish, 1995; Winkel, 2008). Халконсинтаза катализирует конденсацию малонил-CoA и р-кумароил-CoA до тетрагидроксихалкона. Халконизомеразы катализируют стереоспецифическую изомеризацию желто-окрашенного тетрагидроксихалкона в неокрашенный нарингенин, который флавоно-3-гидроксилазой превращается в дигидрокемферол. Дигидрокемферол гидроксилируется флавоноид-3'-гидроксилазой с образованием дигидрокверцетина или флавоноид-3',5'-гидроксилазой до дигидромирицетина; этот же фермент может превращать дигидрокверцетин в дигидромирицетин. Дигидрофлавонолы превращаются в флаван-3,4-цисдиолы (лейкоантоцианидины) дигидрофлавонол-4-редуктазой. Далее осуществляется окисление, дегидратация и гликозидация лейкоантоцианидинов с образованием антоцианидин-3-гликозидов. Затем они модифицируются гликозидацией, метилированием и ацетилированием (Holton, Cornish, 1995).

Синтезируясь в цитозоле, антоцианидины транспортируются в вакуоли клетки. На данный момент остается окончательно неизвестно, как антоцианидины попадают в вакуоль – используя везикулы или напрямую из цитозоля. Возможно, верны обе гипотезы (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 2)² (Kitamura, 2008).

Активация биосинтеза флавоноидов контролируется комплексом транскрипционных факторов MBW (MYB, bHLH и WD40), которые связываются с промоторами генов – ферментов биосинтеза флавоноидов (Strygina, Khlestkina, 2017). Флавоноидный путь находится под жестким контролем генов развития и многочисленных условий окружающей среды, из которых наиболее изученными являются свет и гормоны. Цвет растительных тканей зависит не только от структуры самих соединений и pH среды, но и от окружающих условий растения, так как при стрессе (биотическом и абиотическом) концентрация данных пигментов возрастает (Britton, 1986; Pourcel et al., 2007).

Часто окраска антоцианов модифицируется взаимодействием с ионами металлов и копигментацией с флавонами. В вакуолях формируется надмолекулярный самособирающийся комплекс – металлоантоцианин, состоящий из антоцианов, флавонов и ионов металлов в соотношении 6 : 6 : 2. Этот комплекс часто имеет собственное название: так, у *Commelina communis* L. это коммелин, придающий венчику голубой цвет (Yoshida et al., 2009).

Ферменты биосинтеза флавоноидов относятся к разным классам. Одним из наиболее изученных считается класс цитохромов CYP450. К нему относятся *F3'H* и *F3'5'H*. В данной работе мы остановимся на рассмотрении гена *F3'5'H*.

Ферменты класса цитохром P450 (CYP450) у растений

Продукт гена *F3'5'H* относится к классу белков цитохромов P450 (CYP450). Эти белки поглощают свет с длиной волны 450 нм (Xu et al., 2015).

Цитохромы P450 – гемотиолатные концевые монооксигеназы, переносящие один атом молекулярного кислорода по связям X–H, где X может означать –C, –N или –S субстрата с сопутствующим восстановлением оставшегося атома кислорода до воды. Активация O_2 , опосредованная CYP450 с участием NADPH, приводит к образованию кетонов, спиртов, альдегидов, эпоксидов и карбоновых кислот по схеме: $RH + O_2 + NAD(P)H + H^+ \rightarrow ROH + H_2O + NAD(P)^+$ (Minerdi et al., 2023).

Предполагается, что ферменты – цитохромы P450 – служат местами зарождения метаболонов, временных полибелковых комплексов, состоящих из различных ферментов, которые обеспечивают связывание с субстратом. Они отличаются от мультиферментных комплексов тем, что являются временными, а не постоянными и поэтому имеют значительно более низкие константы диссоциации. CYP75B1 может служить мембранным якорем для флавоноидного метаболона, но он не является критическим для их мембранной ассоциации (Bak et al., 2011).

CYP450 – это древние белки, распространенные во всех царствах организмов. Описано около 11 500 белков системы CYP у бактерий и архей, у которых эти белки находятся в цитоплазме; в эволюционном смысле это наиболее древняя форма цитохрома P450. У эукариотических организмов P450 являются мембранными белками. У человека система цитохрома P450 участвует в окислении многочисленных соединений, как эндогенных, так и экзогенных. Ферменты этой группы играют важную роль в обмене стероидов, желчных кислот, ненасыщенных жирных кислот, фенольных метаболитов, а также в нейтрализации ксенобиотиков (лекарств, ядов, наркотиков) (Minerdi et al., 2023).

CYP450 составляет около 1% от растительного протеома и является самым большим семейством ферментов, контролирующим первичный и вторичный метаболизм (Babu et al., 2013). У растений CYP450 участвуют в биосинтезе структурных полимеров, в том числе компонентов клеточной стенки, являются членами пути биосинтеза ксантофиллов, гидроксилируя бета- и гамма-кольца каротиноидов, контролируют метаболизм гормонов и гормональную передачу сигналов. CYP450 отвечают за развитие корней и цветков, рост плодов, контролируют клеточное деление, экспансию клеток, дифференцировку сосудов, участвуют во взаимодействии между растениями и микроорганизмами. Цитохромы P450 защищают растение от патогенов, обезвоживания, ультрафиолетового облучения и засухи. Более того, CYP450 играют важную роль в физиологических процессах, таких как детоксикация, адаптационные реакции к тяжелым металлам, солям и гербицидам (Minerdi et al., 2023).

Выделяют четыре класса CYP450 (Rupasinghe et al., 2003):

² Приложение 2 представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 2. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256>

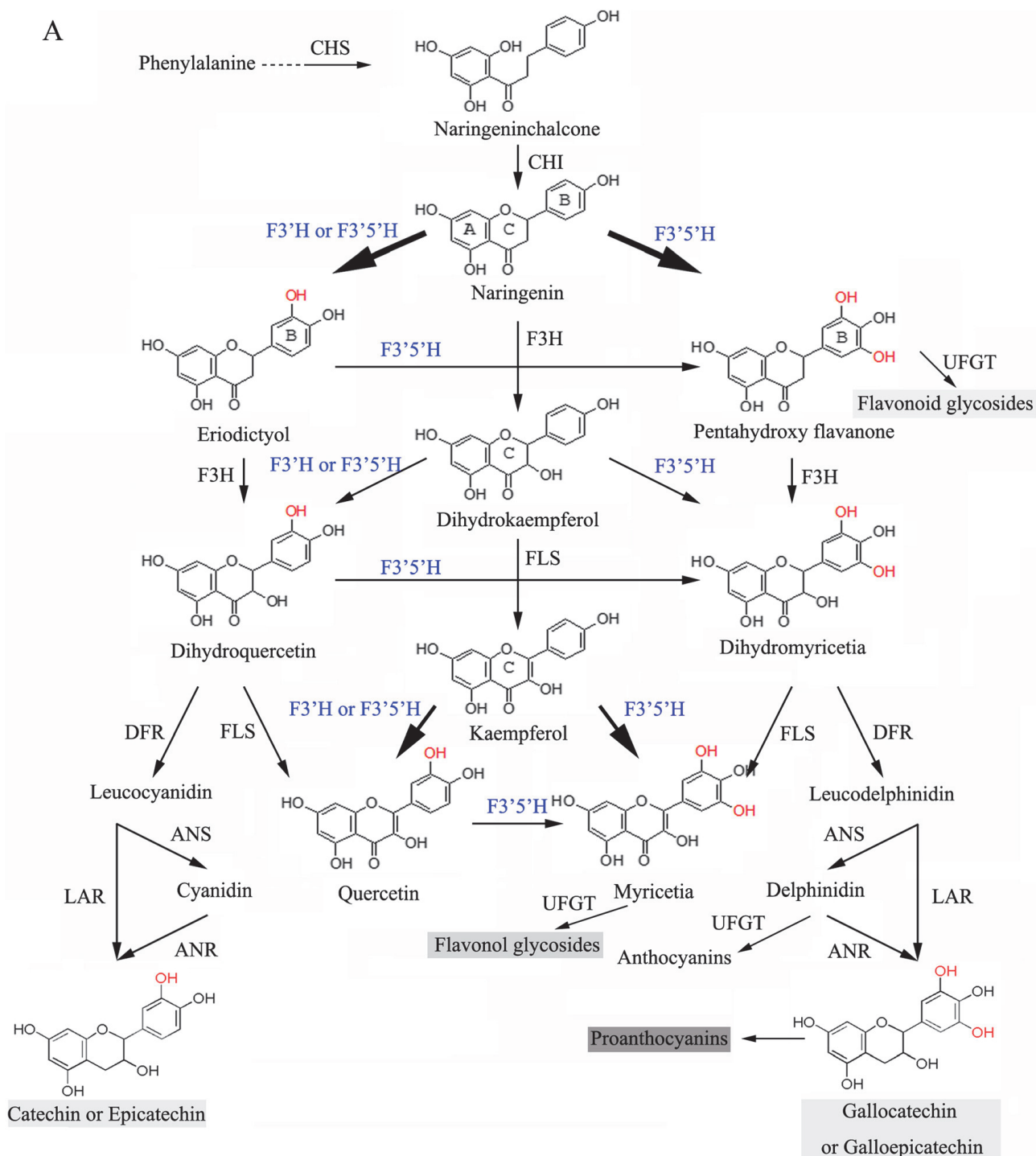


Рис. 2. Биосинтез флавоноидов у чая (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze): **CHS** – халконсинтаза; **CHI** – халкон-изомераз; **F3H** – флаванон-3-гидроксилаза; **F3'H** – флавоноид-3'-гидроксилаза; **F3'5'H** – флавоноид-3',5'-гидроксилаза; **DFR** – дигидрофлавонол-4-редуктаза; **FLS** – флавонол-синтаза; **LAR** – лейкоантоцианидин-редуктаза; **ANS** – антоцианидин-синтаза; **ANR** – антоцианидин-редуктаза; **UFGT** – UDP-гликозид-флавоноид-гликозилтрансфераза; **UGGT** – UDP-глюкоза-галлоил-1-O-β-D-глюкозилтрансфераза; **EGGT** – эпикатехин: 1-O-галлоил-β-D-глюкоза-O-галлоилтрансфераза (по: Wang et al., 2014)

Fig. 2. Biosynthesis pathway of flavonoids in tea (*Camellia sinensis*(L.) Kuntze): CHS – chalcone synthase; CHI – chalcone isomerase; F3H – flavanone 3-hydroxylase; F3'H – flavonoid 3'-hydroxylase; F3'5'H – flavonoid 3',5'-hydroxylase; DFR – dihydroflavonol 4-reductase; FLS – flavonol synthase; LAR – leucoanthocyanidin reductase; ANS – anthocyanidin synthase; ANR – anthocyanidin reductase; UFGT – UDP-glucose flavonoid glycosyltransferase; UGGT – UDP-glucose galloyl-1-O-β-D-glucosyltransferase; ECGT – epicatechins: 1-O-galloyl-β-D-glucose O-galloyltransferase (according to Wang et al., 2014)

• I класс. Цитоплазматические CYP450 найдены у бактерий, во внутренней мембране митохондрий позвоночных, насекомых и нематод, используют редуктазу, содержащую FAD и белок, включающий железо и серу.

• II класс найден у про- и эукариот. У бактерий это цитоплазматический белок, использующий редуктазу, содержащую FAD/FMN, присоединенную к каталитическому CYP450. У эукариот CYP450 II класса известны для многих типов клеток, где находятся в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), используют NADPH-зависимую P450-редуктазу и, иногда, NAD-зависимую редуктазу цитохрома *b5* в сочетании с цитохромом *b5*.

• Класс III описан для различных субклеточных локализаций у животных и растений, где CYP450 являются самодостаточными ферментами, способными принимать электроны непосредственно из NADPH (тот есть им не требуется партнер для переноса электронов), и/или они используют альтернативные доноры кислорода в своих реакциях.

• Класс IV найден у грибов, где CYP450 принимает электроны непосредственно из NADH.

У растений для CYP450 принято выделять 10 групп – кланов (clan) семейств CYP, названных по первому описанному семейству, например CYP71, где CYP – принадлежность к классу цитохрома CYP450, а 71 – номер семейства (Nelson, 2018). Эти кланы сгруппированы в две основные клады – тип А, к которому относится клан CYP71, ответственный за биосинтез вторичных метаболитов, и не тип А, куда входят остальные 9 кланов с другими функциями (Bak et al., 2011). Большинство растительных CYP ассоциировано с мембраной ЭР и нуждается в NADPH-зависимой P450-редуктазе (Seitz et al., 2015). Продукт гена *F3'5'H*, рассматриваемый в данной статье, относится к клану CYP71.

У льна найдено 334 гена, предположительно кодирующих CYP450, среди которых есть представители всех 10 кланов (таблица) (Babu et al., 2013).

Таблица. Классификация семейств генов CYP450 растений (по: Babu et al., 2013; Xu et al., 2015; Nelson, 2018)

Table. Classification of the CYP450 plant gene families (according to Babu et al., 2013; Xu et al., 2015; Nelson, 2018)

Клан / Clan	Число семейств / Number of families	Название семейств / Family name	Основные функции белков / Major functions of proteins
CYP51	1	CYP51	регуляция синтеза стеролов
CYP71	26	CYP71 CYP73* CYP75 CYP76 CYP77 CYP78 CYP79 CYP80 CYP81 CYP82 CYP83 CYP84 CYP89 CYP92 CYP93 CYP98 CYP99 CYP701 CYP703 CYP705 CYP706 CYP712 CYP719 CYP723 CYP726 CYP736	модификация продуктов шикиматного пути и их производных
CYP72	8	CYP72 CYP709 CYP714 CYP715 CYP721 CYP734 CYP735 CYP749	катаболизм изопреноидных гормонов
CYP74	1	CYP74	синтез производных оксипипина и оксида аллена октадеканойдным и жасмонатным путями
CYP85	15	CYP85 CYP87 CYP88 CYP90 CYP702 CYP707 CYP708 CYP716 CYP718 CYP720 CYP724 CYP725 CYP728 CYP729 CYP733	модификация циклических терпенов и стероидов в процессе синтеза brassinosteroidов, абсцизовой кислоты и гиббереллина
CYP86	7	CYP86 CYP94 CYP96 CYP704 CYP730 CYP731 CYP732	гидроксилирование жирных кислот
CYP97	1	CYP97	гидроксилирование каротиноидов
CYP710	1	CYP710	контроль синтеза стерол-C22-десатуразы
CYP711	1	CYP711	функция неизвестна
CYP727	1	CYP727	функция неизвестна

Примечание: * – курсивом отмечены семейства генов, не найденные у льна; жирным шрифтом – семейства генов, имеющие повышенный уровень амплификации по результатам транскриптомного анализа у льна (Babu et al., 2013)

Note: * – gene families not found in flax are italicized; gene families with increased amplification levels according to the transcriptome analysis results for flax are boldfaced (Babu et al., 2013)

Ферменты клана CYP71

Клан CYP71 самый крупный из 10 имеющихся у растений и составляет более 60% от всех известных у них цитохромов (см. таблицу) (Nelson, 2018).

Ферменты клана CYP71 участвуют в модификации продуктов шикиматного пути биосинтеза вторичных метаболитов и их производных, таких как терпеноиды (CYP82G1, CYP701A8, CYP706B1, CYP706M1), флавоноиды (CYP75, CYP82D, CYP93), фенилпропаноиды (CYP73A15, CYP98), глюкозинолаты (CYP79F1, CYP81F, CYP83A1, CYP83B1) и цианогенные глюкозиды (CYP71, CYP79), а также гормонов – ауксина (CYP79B2/B3 и CYP83) и гиббереллина (CYP701A8). CYP82D – флавонон-6-гидроксилаза и 7-деметилаза – участвуют в флавоноидном биосинтезе у базилика, CYP93 – флавонон-синтаза II – участвует в флавоноидном биосинтезе у риса. Гены семейства CYP75 кодируют флавоноид-3'-гидроксилазу и флавоноид-3',5'-гидроксилазу, которые участвуют в биосинтезе большинства антоцианов винограда и других культур (Xu et al., 2015).

Клан CYP71, по результатам филогенетического анализа, наиболее близок к кланам CYP727, 97, 86 и 72 (Nelson, 2018).

Большинство (190) из 334 генов CYP450 у льна относятся к 17 семействам, принадлежащим к клану CYP71. Только 6 из них относятся к семейству CYP75. У льна это семейство неоднородно, так как филогенетический анализ клана CYP71 показал, что продукты первых трех генов семейства CYP75 группируются с CYP76 и 706, а вторых – с CYP84, 71, 81, 2, 93 и 712. Для льна помимо CYP75 большой интерес представляют ферменты, участвующие в биосинтезе ауксинов и гиббереллинов – как регуляторов роста, а также контролирующие (CYP73A15) биосинтез лигнина – вещества, снижающего качество волокна у льна. Для льна пищевого использования представляют интерес цитохромы, участвующие в биосинтезе цианогенных глюкозидов (CYP71, CYP79) – антипитательных веществ в семенах (Babu et al., 2013).

Наличие большого числа генов, относящихся к клану CYP71, по сравнению с генами других кланов CYP450, указывает на быстрое эволюционное распространение генов CYP71 у льна. Более ранние исследования предполагали, что гены, не относящиеся к клану CYP71, являются более древними, чем CYP71, и их строение требует больше времени для дубликации и перегруппировки генов, что способствует их медленной эволюции (Babu et al., 2013).

Семейство CYP75 играет важную роль в биосинтезе флавоноидов и антоцианов. Количество гидроксильных групп в В-кольце антоцианидинов, хромофоров и предшественников антоцианов влияет на цвет антоцианов – чем их больше, тем цвет более синий. Характер гидроксирования определяется белками CYP75: флавоноид-3'-гидроксилазой (*F3'H*, EC 1.14.14.82) и флавоноид-3',5'-гидроксилазой (*F3'5'H*, EC 1.14.14.81), которые относятся к подсемействам CYP75B и CYP75A соответственно. Оба фермента обладают широкой субстратной специфичностью и катализируют гидроксирование флаванонов, дигидрофлавонолов, флавонолсодержащих соединений и флавоновых кислот. *F3'H* катализирует 3'-гидроксирование В-кольца флавоноида до 3',4'-гидроксированного состояния. Катализ *F3'H* приводит к образованию 3',4',5'-гидроксированных антоцианов на основе дельфинидина, которые, как правило, имеют фиолетовую/синюю окраску. Сходство последовательностей этих двух

подсемейств составляет около 50%, что указывает либо на то, что их расхождение восходит к ранней эволюции растений, либо на то, что в последнее время произошла быстрая эволюция генов (Koolman, Roehm, 2004; Seitz et al., 2015). В то время как *F3'H* присутствует практически у всех высших растений, *F3'5'H* распределен неравномерно. *F3'5'H* по меньшей мере шесть раз независимо эволюционировал из предшественников *F3'H* у двудольных растений, в дополнение к «обычному» *F3'5'H*, который сформировался на ранней стадии эволюции растений (Lam et al., 2015; Seitz et al., 2015; Sudarshan et al., 2017; Irmisch et al., 2019).

Флавоноид 3',5'-гидроксилаза (*F3'5'H*)

Фермент *F3'5'H* считается одним из главных участников биосинтеза пигментов окраски цветка. Его основная функция у большинства растений – превращение дигидрокемпферола в дигидромирицетин. Затем другие ферменты, например DFR, ANS, FGT, превращают его в дельфинидин.

Ген *F3'5'H* выполняет и другие функции в растениях. Так, с помощью гетерологичной экспрессии в трансгенных растениях и дрожжах было показано, что *F3'5'Hs* гидроксилируют широкий спектр флавоноидных субстратов, включая нарингенин, эриодиктиол, дигидрокемпферол, кемпферол, кверцетин и апигенин (Tanaka et al., 1996; Olsen et al., 2010; Wang et al., 2014).

У растений чая продемонстрирована ведущая роль *F3'5'H*, связанная не с биосинтезом антоцианов, а с 3',4',5'-тригидроксированными флаван-3-олами (катехинами), наиболее распространенными флавоноидами чайных листьев в отличие от имеющихся в более низких концентрациях 3',4'-дигидроксированных катехинов. Содержание большинства флавоноидов, таких как галлоилированные катехины, проантоцианидины (также называемые конденсированными танинами) и антоцианидинов, самое высокое в верхушечной почке и первом листе, постепенно уменьшается по мере развития листьев. Показано, что экспрессия *CsF3'5'H* тканеспецифична и тесно связана с накоплением конечных продуктов – флавоноидов в чайных листьях. Ген *CsF3'5'H* высоко экспрессируется в листьях и стебле, максимально – в верхушечной почке и на очень низком уровне – в корне (Wang et al., 2014).

В процессе развития плоды хурмы накапливают большое количество проантоцианидина (РА), или конденсированных танинов. Хурма способна образовывать партенокарпические плоды. Плоды сортов не вяжущего типа, у которых при опылении не меняется цвет мякоти плода (pollination-constant and non-astringent – PCNA), теряют способность продуцировать РА на ранней стадии развития плодов, в то время как плоды нормального (не PCNA) типа сохраняют высокое содержание РА до полного созревания. Выявлено, что за отсутствие вяжущих свойств отвечает ген *ast*, но продукт этого гена еще не известен (Fujiwara et al., 2022). PCNA-гены, кодирующие *F3'5'H* и антоцианидинредуктазу для биосинтеза эпигаллокатехина, показали заметную down-регуляцию. Таким образом, показано, что *F3'5'H* участвует в биосинтезе танинов чая и хурмы, но в отличие от чая у хурмы это нежелательный для селекции признак.

Окраска цветка горечавки трехцветной (*Gentiana triflora* Pall.) определяется антоцианом – гентиодельфином [дельфинидин 3-O-β-D-глюкозид-5-O-(6-O-кофеоил-β-D-глюкозид)-3'-(6-O-кофеоил-β-D-глюкозид)]. За нее

также отвечает ген *F3'5'H*. При изучении его экспрессии в дрожжевой гибридной системе показано, что он имеет широкую субстратную специфичность и в дополнение гидроксилирует флавоны, флаваноны и дигидрофлавонолы (Tanaka et al., 1996).

У риса (*Oryza sativa* L.) и других злаковых *F3'5'H* участвует в биосинтезе флавона трицина (tricin) из хризозериола (Lam et al., 2015).

У монтбреции гибридной (*Crococsmia* × *crococsmiiflora* (Lemoine) N.E. Br.) *F3'5'H* необходим для одного из этапов биосинтеза монтбретина А (MbA) [MbA; мирицетин 3-*O*-(6'-*O*-кофеил)-β-*D*-глюкозил 1,2-β-*D*-глюкозил 1,2-α-*D*-рамнозид 4'-*O*-α-*D*-рамнозил 1,4-β-*D*-ксилозид] и его предшественника мини-MbA, которые являются потенциальными новыми лекарственными средствами для лечения сахарного диабета 2-го типа (Irmisch et al., 2019).

Таким образом, на примере фермента *F3'5'H* показана различная субстратная специфичность фермента, которая в первую очередь определяется его консервативными доменами и субстрат-узнающими сайтами, которые часто находятся в самих консервативных доменах.

Консервативные домены CYP450

Только несколько доменов в первичной аминокислотной последовательности CYP450 являются высококонсервативными (рис. 3):

- аргинин консенсусной последовательности “PERF”.

Считается, что триада E-R-R участвует в фиксации гемовых карманов в нужном положении и обеспечении стабилизации сохраненной коровой структуры. Из этих консервативных доменов только E-R-R-триада и цистеин в гем-связывающем домене являются консервативными во всех последовательностях P450 растений (Bak et al., 2011).

Субстрат узнающие сайты F3'5'H

Специфика работы фермента определяется его способностью узнавать субстрат и менять его строение в нужной позиции. Показано, что у *F3'5'H* существует 6 субстрат-узнающих сайтов (substrate recognition site – SRC) около гемовой группы. Считается, что мутация в них может влиять на функцию фермента. При изучении фермента PhF3'5'H пурпурно-окрашенного *Phalenopsis*, неспособного синтезировать дельфинидин и DgF3'5'H, синне-окрашенного *Delphinium grandiflorum* L., способного образовывать данный пигмент, подтверждено наличие трех консервативных участков, включая AGTDTS-участок CYP450, EXXR-мотив, связывающий кислород, и FGAGR ICAG, гем-связывающий домен. Были показаны аминокислотные последовательности доменов SRS1 (100–122 ак от начала белка), SRS2 (210–218 ак), SRS4 (296–311 ак), SRS5 (365–374 ак) и SRS6 (479–497 ак) в PhF3'5'H

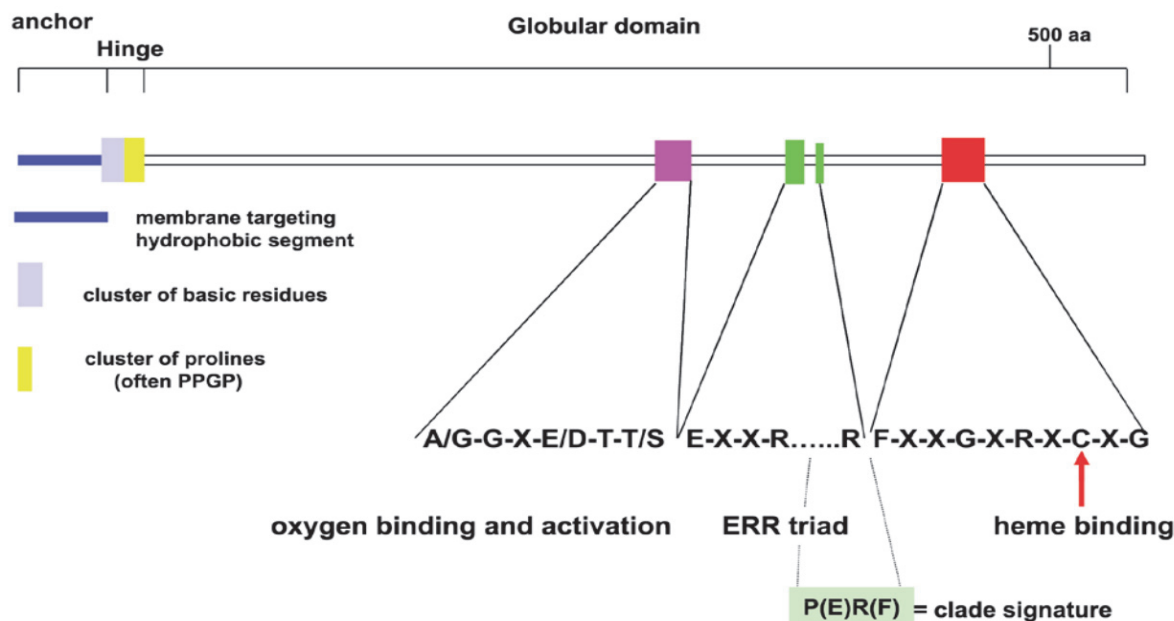


Рис. 3. Сигнатурные мотивы белков CYP450. Glu- и Arg-согласованная последовательность К-спирали (KETLR) и Arg-согласованная последовательность “PERF” из триады E-R-R (Bak et al., 2011)

Fig. 3. Signature motifs of CYP450 proteins. Glu and Arg consensus sequence of the K-helix (KETLR), and Arg consensus sequence “PERF” of the E-R-R triad (Bak et al., 2011)

- мембранная петля (membrane hinge), богатая пролином последовательность, окружающая цистеин, который является аксиальным лигандом гемовой группы;

- I-спираль (AGxD/ET), участвующая в связывании кислорода;

- E-R-R-триада, состоящая из глутаминовой кислоты и аргинина;

- консенсусная последовательность К-спирали (KETLR);

и DgF3'5'H (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 3)³ (Liang et al., 2020).

Для SRS6 показана консервативная область M [D/E] E x [F/Y] G x [T/S/A] x Q (где x – это любая аминокислота), а позиция 8 SRS6 – это ключевая аминокислота, которая определяет функциональное расхождение меж-

³ Приложение 3 представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 3. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256>

ду F3'H и F3'5'H. Оба проанализированных PeF3'Hs-фермента имеют остаток треонина (T) в положении 8 в SRS6, а все F3'5'H из 6 видов фаленопсиса и 5 из других родов орхидных – валина (V). Одна аллель F3'5'H у *Vanilla planifolia* содержит аланин (A) в этой позиции 8 SRS6. Кроме того, F3'5'Hs имеют два пролина (P) в позициях 5 и 10 SRS6 у орхидных и, напротив, фенилаланин (F) и глютамин (Q) находятся в позициях 5 и 10 SRS6 у *Delphinium grandiflorum*. Результаты прогнозирования сайтов связывания субстрата для нарингенина, дигидрокверцетина и эриодиктиола на PhF3'5'H и DgF3'5'H показали, что ароматические кольца (B-кольцо) субстратов были ориентированы в направлении к N-концам SRS4 и SRS1 PhF3'5'H, и, напротив, к C-концам SRS4, SRS5 и SRS6 DgF3'5'H (см. Electronic Supplementary Materials, Suppl. 3) (Liang et al., 2020).

У астровых SRS4, SRS5 и SRS6 демонстрируют высокую степень сохранения последовательности: 15, 8 и 7 высококонсервативных аминокислот из 16, 10 и 10 соответственно, а SRC1, SRC2 и SRC3 имеют около 50% и меньше консервативных аминокислот (Seitz et al., 2007).

При изучении гетерологичной экспрессии химерных генов, полученных от слияния *F3'5'H* чая и винограда в дрожжевой системе, показано, что N-конец фермента, содержащий сигнальный и лидерный район белка, отвечает за перенос его в ЭР и количество его в клетке, тогда как за образование конечного продукта – оставшаяся часть белка. C-конец фермента отвечает за его энзиматическую активность и субстратную специфику, что подтверждается работами К. Сейтс с соавторами (Seitz et al., 2006, цит. по Wang et al., 2014), где показано, что функциональные различия между F3'H и F3'5'H определяются C-концом. Пока точно не ясно, как именно F3'5'H распознает и предпочитает один из возможных субстратов: так, у *Catharanthus rosea* L. и петунии это нарингенин и апигенин, у *Osteospermum hybrid* L. – нарингенин и дигидрокемпферол, тогда как у томата – нарингенин (Wang et al., 2014).

Гомологическое моделирование и сайт-направленный мутагенез подтвердили, что позиция 8 SRS6 является ключевой в определении функциональных различий между F3'H и F3'5'H. Все известные до сих пор F3'H имеют в этом положении остаток треонина, в то время как F3'5'H имеют либо остаток серина, либо остаток аланина. Эксперименты по мутагенезу показали, что замена треонина на серин или аланин в положении 8 SRS6 позволяет F3'H осуществлять 3',5'-гидроксилирование *in vitro* без снижения активности фермента. Эти замены, по-видимому, не являются вредными *in vivo*, так же как дополнительные мутации, усиливающие активность F3'5'H и синтез 3',4',5'-гидроксилированных флавоноидов, поэтому будут накапливаться. То есть эволюцию F3'5'H обуславливает небольшое число мутаций, необходимых для инициации и усиления активности 3',5'-гидроксилирования в исходном ферменте F3'H (Seitz et al., 2015).

Особую ценность представляют последовательности F3'5'H, у которых аннотированы домены и SRS. Они наглядно показывают позицию этих сайтов относительно друг друга. Наиболее информативными, на наш взгляд, являются последовательности фасоли PvF3'5'H (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 4)⁴ (McClean et al., 2022).

⁴ Приложение 4 представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 4. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256>

В семействе Астровые показана многоэтапная эволюция F3'5'H, которая, вероятно, способствовала успешной диверсификации видов, поскольку наличие активности F3'5'H позволяет синтезировать антоцианы на основе дельфинидина, что обеспечивает более широкий спектр окраски цветков. Показано, что цветы, опыляемые насекомыми, часто содержат производные дельфинидина, в то время как опыляемые птицами преимущественно накапливают производные пеларгонидина, поэтому в умеренном климате, где основными опылителями являются насекомые, появление дельфинидина в цветках особенно важно (Seitz et al. 2015).

Получение синих оттенков на основе производных дельфинидина, а не цианидина, вероятно, более эффективно из-за меньшего количества необходимого пигмента. Эволюционное расширение 3',4'- до 3',4',5'- гидроксилирования представляет собой мутации, связанные с приобретением новой функции в структурном гене, и создает ветвь синтеза антоцианов на основе дельфинидина. Сопутствующие изменения в других ферментах, обслуживающих биосинтез антоцианов, могут не потребоваться, поскольку они обычно способны производить антоцианы на основе дельфинидина даже у видов, которые в природе производят только антоцианы на основе цианидина (Seitz et al., 2015).

Насколько нам известно, не существует вида с уникальной F3'5'H- и отсутствующей F3'H-активностью. Даже цветы, синтезирующие в основном антоцианы на основе Dp, редко накапливают 3',4',5'-гидроксилированные флавоны или флавонолы. Вероятно, это связано с тем, что флавоноиды выполняют множество функций и синтезируются не только в цветках, но и в большинстве других органов. В то время как ген *F3'H* сохраняется у большинства видов растений, *F3'5'H* многократно эволюционировал и неоднократно терялся, что привело к его неравномерному распространению. Примером потери активности фермента F3'5'H является род *Antirrhinum* (Seitz et al., 2015).

Ф. МакКлейн с соавторами (McClean et al., 2022) оценили распределение, структурную изменчивость и филогению F3'5'H наземных растений с секвенированными геномами. Белковые последовательности были выбраны на основе функциональных особенностей, которые необходимы для ферментативной реакции F3'5'H. Этот подход основан на анализе доменов, имеющих решающее значение для функционирования фермента, и предпочтительнее простого поиска гомологии последовательностей ДНК.

Было идентифицировано 177 последовательностей, кодирующих белок F3'5'H 129 видов наземных растений. У этих белков после выравнивания были визуализированы четыре высококонсервативных мотива CYP450 и шесть SRSs (рис. 4). SRS1 – наиболее вариативная область с 86 уникальными последовательностями. Аминокислоты 245H в SRS3 и 302N в SRS4, которые, как было показано ранее, подвергаются положительному отбору, были почти неизменны среди всех видов. SRS4, который включает в себя I-спираль, является важным компонентом функционального кармана CYP450, участвует в связывании кислорода и высококонсервативен. Среди всех видов мотив I-спирали SRS4 был инвариантным. Обнаружили только 10 последовательностей SRS5 и 21 вариант мотива K-спирали, так как варианты аминокислот в этих двух смежных элементах могут изменять гидроксилирование P450 и стереоселективность у человека, а также ориентацию связывания субстрата у растений. Одна за-

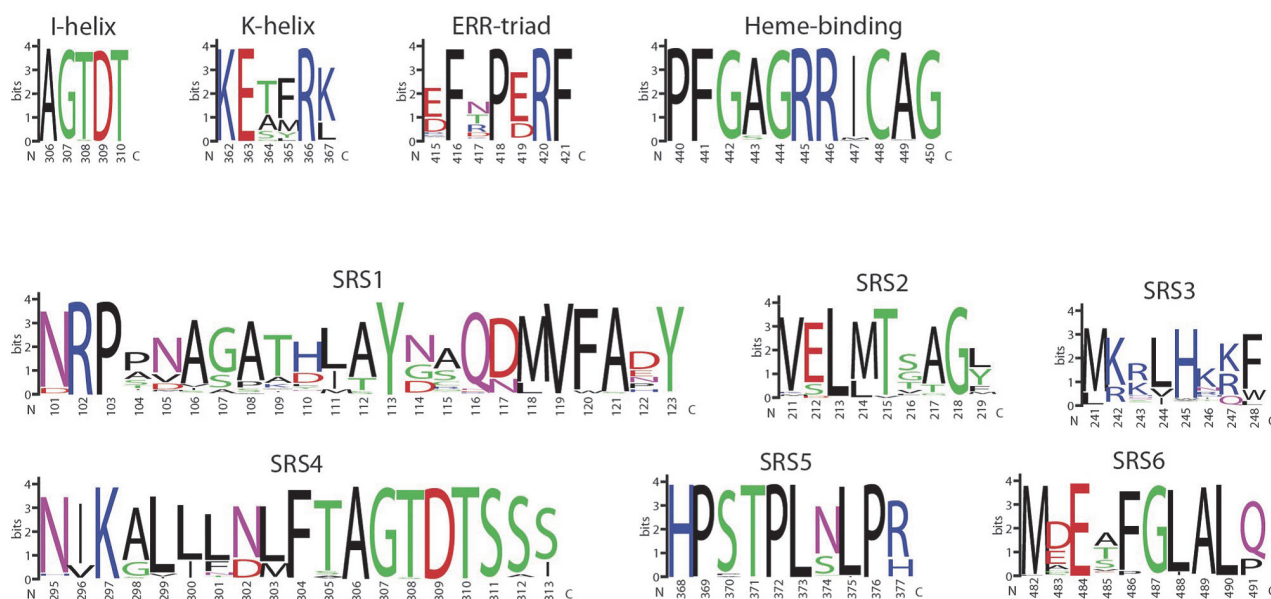


Рис. 4. WebLogo-отображение (А) четырех основных мотивов CYP450 и (В) шести последовательностей распознавания (SRS) F3'5'H белков наземных растений. Логотипы основаны на множественном выравнивании последовательностей с использованием выравнивания последовательностей белка MUSCLE 177 наземных растений из баз данных по Phytozome и NCBI (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov>; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Аминокислотные позиции основаны на последовательности образца 5-593 из *Phaseolus vulgaris* (no: McClean et al., 2022)

Fig. 4. WebLogo display of the (A) four core CYP450 motifs and (B) six sequence-recognition sequences (SRS) of land plant flavonoid 3',5'-hydroxylase proteins. The logos are based on the multiple sequence alignment using MUSCLE of F3'5'H protein sequences from 177 land plants, identified from an exhaustive search in the Phytozome and NCBI protein databases (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov>; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). The amino acid positions are based on the sequence of 5-593 of *Phaseolus vulgaris* (according to McClean et al., 2022)

мена, Ala/Ser на Thr, находящаяся в положении 8 у SRS6, определяет 3'5'- и 3'-гидроксилирование дигидрокемферола соответственно (McClean et al., 2022). Таким образом, биоинформатические данные подтвердили большую часть экспериментально полученной информации и собрали статистику по изменчивости консервативных участков F3'5'H.

Вероятно, внутри клана CYP71 идет уже тонкая настройка активного центра ферментов. При изучении моделей 4 белков арабидопсиса, относящихся к клану CYP71 (CYP73A5, CYP84A1, CYP75B1, CYP98A3), участвующих в биохимических реакциях фенилпропаноидного пути, таких как синтез лигнинов, флавоноидов и антоцианов, было показано, что несмотря на то, что идентичность первичной последовательности составляет всего 13%, структурные ядра и несколько участков петель этих цитохромов отличаются высокой степенью идентичности. Доккинг субстратов показал, что все четыре фермента используют общую стратегию идентификации своих субстратов, заключающуюся в том, что их субстраты, производные коричной кислоты, выстраиваются вдоль спирали I, причем ароматическое кольцо расположено по направлению к С-концу этой спирали, а алифатические хвосты – по направлению к N-концу. В дальнейшем было обнаружено сходство в том, как субстраты контактируют с консенсусными сайтами распознавания субстратов цитохрома P450 (SRS). Остатки, которые, как предполагается, контактируют с ароматическим кольцом, находятся в SRS5, SRS6 и С-концевой части SRS4, а остатки, контактирующие с дистальным концом каждого субстрата, находятся в SRS1, SRS2 и N-концевой части SRS4. Расположе-

ние областей, контактирующих с ароматическим кольцом, указывает на то, что SRS4, SRS5 и SRS6 обладают большей уникальностью, чем SRS1, SRS2 или полноразмерный белок (Rupasinghe et al., 2003).

Таким образом, при анализе мутаций необходимо особое внимание обращать на участки генов, участвующих во взаимодействии с субстратом, так как от них зависит принципиальная возможность взаимодействия с целевым веществом.

Множественный аллелизм генов F3'5'H

У сои есть серия аллелей гена *W1* (*W1* > *w1-lp* > *w1*), контролирующего синтез F3'5'H. Дикий тип сои имеет фиолетовые цветки, тогда как гомозигота по *w1* – белые, а по *w1-lp* – светло-фиолетовые (Takahashi et al., 2010). Доминантная аллель *W1* имеет длину 4657 пн, содержит два интрона – 754 и 2102 пн соответственно. Этот ген кодирует F3'5'H длиной 509 ак. Мутантная аллель *w1* 'Williams' обуславливает белую окраску венчика и представляет собой вставку длиной 65 пн (53 – вставка и 12 – замена) в третьем экзоне, которая привела к прямым повторам длиной 37 пн, разделенных последовательностью в 10 пн, что выразилось в увеличении размера аллели *w1* на 53 пн. Эта вставка обеспечила сдвиг рамки считывания (10 ак замен и стоп-кодон) и, как следствие, укорочение продукта на 42 ак. Примечательно, что начало первого повтора находится в районе мотива, определяющего отличие цитохромов от других гем-содержащих ферментов (Zabala, Vodkin, 2007).

Мутантная аллель *w1-lp* 'B09121' определяет светло-фиолетовую окраску цветка. По отношению к дико-

му типу эта аллель имеет однонуклеотидную замену в положении 653, что приводит к замене валина 210 на метионин у его продукта. Мутация *w1* снижает общее содержание антоцианов за счет уменьшения количества 3'5'-гидроксил-замещенных продуктов и не приводит к появлению новых 3'-продуктов. Аллель *w1-lp* помимо снижения количества 3'5'-гидроксил-замещенных продуктов приводит к появлению производных цианидина (имеющих гидроксильное замещение в 3'-положении). У гомозиготы по аллели *w1* снижено содержание флавонолов (кемпферола и кверцетина) и дигидрофлаванолов (дигидрокемпферола), тогда как у гомозиготы по *w1-lp* их столько же, сколько у дикого типа. Мутация *w1-lp*, возможно, привела к снижению F3'5'H- и увеличению F3'H-активности фермента (Takahashi et al., 2010). Таким образом, на одной аллельной серии показаны различия фенотипов при мутации в разных областях гена.

Ген *V* (*violet, purple*) фасоли кодирует F3'5'H. Доминантная аллель *V* дикого типа обуславливает фиолетовую окраску венчика. Рецессивная гомозигота по *v* имеет белый цветок, а по *v^{lae}* – розовый. У рецессивных гомозигот отсутствуют производные дельфинидина и дигидромирицетина в цветках и семенах. Выявлена серия из 9 аллелей, имеющих центрально-американское или южноамериканское происхождение и отличающихся SNPs и инделями. Найдена аллель, являющаяся результатом внутривидового кроссинговера двух аллелей – центрально- и южноамериканского происхождения (McClean et al., 2022).

Регуляторные области генов *CYP*

У сенполии (*Saintpaulia* H. Wendl), имеющей розовые лепестки с голубыми краплениями, при размножении в культуре ткани был выявлен высокий процент стабильных мутантов с ярко-синими, ярко-розовыми, фиолетовыми и темно-фиолетовыми лепестками, которые не возникали при вегетативном размножении. Анализ последовательности гена *F3'5'H* не выявил различий в кодирующей области между мутантами и пестрыми особями. В промоторной области ~50 пн выше по течению у пестроцветных растений была обнаружена вставка транспозона, принадлежащего к суперсемейству hAT (ДНК LTR-транспозоны класса II). Наличие связанных с транспозоном вставок или делеций коррелировало с наблюдаемыми фенотипами окраски цветка. Мутанты с цветками сплошного синего цвета содержали вставки 8 пн (следы вырезания транспозона), в то время как мутанты с ярко-розовым цветом имели вставки длиной от 58 до 70 пн, а мутанты с фиолетовым и темно-фиолетовым венчиком имели делеции длиной от 21 до 24 пн соответственно. Выявлено, что уровни экспрессии гена *F3'5'H* коррелируют со вставками и делециями, вызванными удалением транспозона, что приводит к различиям в окраске цветка (Sato et al., 2011). Таким образом, показано, что на цвет может влиять промоторная область гена, а на «пестроту» – вырезание транспозона, находящегося в ней.

У чая уровни экспрессии *CsF3'5'H* в проростках, подвергнутых воздействию света, были в 22,7 раза выше по отношению к контролю. Выявлено, что промотор гена *CsF3'5'H* содержит несколько светочувствительных элементов; это указывает на то, что свет может быть ключевым фактором в контроле транскрипции *CsF3'5'H* (Wang et al., 2014).

Гены *F3'5'H* – представители подсемейства *CYP75B*

Ген *F3'5'H* возникал в эволюции неоднократно. В первый раз, вероятнее всего, он эволюционировал от общего предка генов *F3'5'H* и *F3'H*, а в остальных случаях – от *F3'H*. Большинство генов *F3'5'H* относятся к подсемейству *CYP75A*, то есть эволюционно более древние. Генов, произошедших в результате мутации гена *F3'H* и, соответственно, относящихся к подсемейству *CYP75B*, значительно меньше. Они найдены у *Linaceae* – льна (*L. usitatissimum*), у *Asteraceae* – мордовника банатского (*Echinops bin-naticus* Rochel ex Schrad.), остеоспермума (*Osteospermum hybrida*), цинерарии (*Pericallis cuneate* Webb & Berthel), у *Pittosporaceae* – биллардиеры длинноцветковой (*Billardiera heterophylla* (Lindl.) L.W. Cayzer & Crisp), у *Poaceae* – риса (*Oryza sativa*) и у *Iridaceae* – монбреции гибридной (*Crococsmia × crocosmiiflora*). Принадлежность первых 5 генов к подсемейству *CYP75B* подтверждается и филогенетическим анализом их продуктов (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 5)⁵, (Lam et al., 2015; Seitz et al., 2015; Sudarshan et al., 2017; Irmisch et al., 2019).

У льна гидроксильное флавонолов в кольце В контролируется геном *D*, в лепестках и семенах гомозигот по рецессивной аллели *d* нет дельфинидина, но есть пеларгонидин (Dubois et al., 1979). Этот ген длиной 1969 пн, имеющий 3 экзона и 2 интрона, был идентифицирован как *F3'5'H*, относящийся к подсемейству *CYP75B*, но без F3'H-активности. То есть, в отличие от других видов растений, у льна практически не встречается цианидин (с гидроксильной группой в 3'- и 4'-позициях). Других *F3'H* или *F3'H*-подобных генов в геноме льна нет. Эта новая функция фермента F3'H связана с заменой Thr498 → Ser498 в положении 8 SRC6. На других объектах показано, что не только замена Thr на Ser, но и на Ala приводит к изменению функции с F3'H на F3'5'H (Sudarshan et al., 2017).

Биохимический дефект, наблюдаемый *in vivo* и заключающийся в потере активности F3'5'H, а не F3'H, был установлен на основе анализа последовательности F3'5'H льна (521 ак), которая на 61,7% совпадает по всей длине с белком F3'H, кодируемом геном *Transparent Testa 7 (TT7)* у арабидопсиса (Sudarshan et al., 2017).

Мутантная аллель *d* имеет однонуклеотидную делецию во втором экзоне, что приводит к образованию стоп-кодона и белка в 278 ак вместо 528 ак у дикого типа. Растение дикого типа по гену *F3'5'H* имеет синий венчик и коричневые семена, а мутантное – розовый венчик и желтые семена (Sudarshan et al., 2017).

Таким образом, лен оказался в малочисленной группе растений с «новоприобретенными» генами, продукты которых к тому же не имеют отдельную F3'H-активность, поэтому нас в первую очередь будут интересовать 6 видов, у которых *F3'5'H*, как и у льна, относится к подсемейству *CYP75B*. У всех них, в отличие от льна, имеются оба гена – *F3'H* и *F3'5'H*.

У Астровых из трех видов с геном *F3'5'H* подсемейства *CYP75B* (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 6)⁶ два вида относятся к подсемейству *Asteroideae* – последовательности *F3'5'H* у *Osteospermum hybrida*, *Pericallis cruenta*

⁵ Приложение 5 представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 5. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256>

⁶ Приложение 6 представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 6. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-1-242-256>

и китайской астры (*Callistephus chinensis* (L.) Nees) образуют кластер, а последовательности *F3'H* у этих видов филогенетически отделены от «гелиантоидных» *F3'H* георгина изменчивого (*Dahlia variabilis* (Willd.) Desf.), бархатцев прямостоячих (*Tagetes erecta* L.), топинамбура (*Helianthus tuberosum* L.) и рудбекии волосистой (*Rudbeckia hirta* L.), что указывает на то, что ген *F3'5'H* является специфичным для *Asteroidae* и его эволюция произошла после расхождения с «гелиантоидами» (Seitz et al., 2015). Остается неясным, почему ген *F3'5'H* китайской астры, относящийся к их кластеру по результатам группировки, не был отнесен к *CYP75B*. Третий вид – *Echinops bannaticus* – относится к подсемейству *Carduoideae*. Поскольку последовательности *F3'H* василька синего (*Centaurea cyanus* L.) и артишока испанского (*Cynara cardunculus* L.) являются базальными для кластера последовательностей генов *F3'H* и *F3'5'H* *Echinops bannaticus*, то *F3'5'H*, по-видимому, специфичен для рода *Echinops* (Seitz et al., 2015).

Характеристика *F3'5'H* из *Billardiera heterophylla* (Pittosporaceae) показала, что независимая эволюция *F3'5'H* по крайней мере однажды имела место и в другом семействе двудольных (Seitz et al., 2015).

Однодольные также имеют примеры такой эволюции. У риса показано, что для синтеза флавона трицина из хризозериола необходима *F3'5'H*-гидроксилаза, относящаяся к классу *CYP75B4*. Показано, что *CYP75B4*-гомологичные последовательности высококонсервативны в *Roaceae* и филогенетически отличаются от канонического флавоноида *CYP75B* последовательности 3'-гидроксилазы (Lam et al., 2015).

У монтбреции гибридной (*Crocasmia × crocosmiiflora*) для биосинтеза монтбретина А, производного мирицетина и его предшественника мини-МбА, необходимо две флавононгидроксилазы – *F3'H* и *F3'5'H*. Показано, что обе они относятся к подсемейству *CYP75B* (Irmisch et al., 2019).

Таким образом, выявлена неоднократная эволюция *F3'5'H* из *F3'H*, и можно предположить, что она была регулярным событием в эволюции растений (Seitz et al., 2015), но, кроме льна, не найдено видов, у которых появление *F3'5'H*-активности шло в ущерб *F3'H*-активности. Возможно, это связано с тем, что лен стоит особняком от других древнейших культурных растений и его эволюция напрямую связана с отбором на желтосемянность, проведенным человеком.

Заключение

У *Linum usitatissimum* фермент *F3'5'H* превращает ди-гидрокемпферол в дигидромирицетин, затем другие ферменты превращают последний в дельфинидин. Этот, казалось бы, типичный пример работы флавоноид-3',5'-гидроксилазы ставит больше вопросов, чем дает ответов. Почему этот белок эволюционировал от *F3'H* и относится к подсемейству *CYP75B*, а не *CYP75A*? Почему у льна дикого типа в лепестках практически нет цианидина, но при мутации в гене *F3'5'H* с нарушением рамки считывания его становится столько же, сколько пеларгонидина? Почему мутации по гену *F3'5'H* не найдены у средиземноморских льнов? Как это может быть связано с отбором на желтосемянность человеком? Почему у диких видов льна (*L. angustifolium*, *L. bienne*, *L. crepitans*) цветок светло-сиреневый, а не голубой и не связано ли это с наличием цианидина и гена *F3'H*? Что сближает лен с рисом и другими злаками, у которых также *F3'5'H* относится к подсемейству *CYP75B*, кроме того что они – первые

окультуренные растения? Показана возможность множественного аллелизма *F3'5'H* только для генов подсемейства *CYP75A*, а не *CYP75B*. Эти аллели определяют разные фенотипы у относящихся также к первым культурным растениям сое и фасоли. Интересно, что у фасоли этот ген, как и у льна, имеет плеiotропное действие на цветок и семена. Все это подтверждает уже известный на формально-генетическом уровне множественный аллелизм гена *d* у льна. На эти и другие вопросы могут быть даны ответы в процессе изучения линий генетической коллекции ВИР с использованием обобщенных результатов изучения гена *F3'5'H* передовых лабораторий, представленных в данной публикации.

References / Литература

- Babu P.R., Rao K.V., Reddy V.D. Structural organization and classification of cytochrome P450 genes in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Gene*. 2013;513(1):156-162. DOI: 10.1016/j.gene.2012.10.040
- Bak S., Beisson F., Bishop G., Hamberger B., Höfer R., Paquette S. et al. Cytochromes P450. *The Arabidopsis Book*. 2011;9:e0144. DOI: 10.1199/tab.0144
- Berková V., Berka M., Griga M., Kopecká R., Prokopová M., Luklová M. et al. Molecular mechanisms underlying flax (*Linum usitatissimum* L.) tolerance to cadmium: a case study of proteome and metabolome of four different flax genotypes. *Plants*. 2022;11(21):2931. DOI: 10.3390/plants11212931
- Britton G. The biochemistry of natural pigments. Moscow: Mir; 1986. [in Russian] (Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. Москва: Мир; 1986).
- Dubois J., Harborne J., Bablom B., Plonka F. The inheritance of flower colors and anthocyanins in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Annales de l'amélioration de plantes*. 1979;29(3):267-276.
- Dubois J.A., Harborne J.B. Anthocyanin inheritance in petals of flax, *Linum usitatissimum*. *Phytochemistry*. 1975;14:2491-2494.
- Elladi E.V. *Linum usitatissimum* L. Vav. consp. nov. – Flax (Len). In: E.V. Vulf (ed.). *Flora of Cultivated Plants. Vol. 6. Fiber Crops (Pryadilnye)*. Moscow; Leningrad; 1940. p.109-208. [in Russian] (Эллади Е.В. *Linum usitatissimum* L. Vav. consp. nov. – Лен. В кн.: *Культурная Флора СССР. Т. 6. Прядильные* / под ред. Е.В. Вульфа. Москва; Ленинград; 1940. С.109-208).
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and Agriculture Data: [website]. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [accessed Oct. 23, 2024].
- Fujiwara Y., Nishiyama S., Onoue N., Matsuzaki R., Yonemori K., Tao R. Candidate gene analysis for *ASTRINGENCY* controlling fruit astringency in *Diospyros kaki* based on mRNA- and small RNA-sequencing analyses. *Acta Horticulturae*. 2022;1338:269-276. DOI: 10.17660/ActaHortic.2022.1338.39
- Holton T.A., Cornish E.C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*. 1995;7(7):1071-1083. DOI: 10.1105/tpc.7.7.1071
- Irmisch S., Ruebsam H., Jancsik S., Man Saint Yuen M., Madi-lao L.L., Bohlmann J. Flavonol biosynthesis genes and their use in engineering the plant antidiabetic metabolite montbretin A. *Plant Physiology*. 2019;180(3):1277-1290. DOI: 10.1104/pp.19.00254
- Kitamura S. Transport of flavonoids: from cytosolic synthesis to vacuolar accumulation. In: E. Grotewold (ed.). *The Science of Flavonoids*. New York, NY: Springer; 2008. p.123-146.

- Koolman J., Roehm K.H. Cytochrome P450 system. In: J. Koolman, K.H. Roehm. *Taschenatlas der Biochemie*. Moscow: Mir; 2004. p.310-311. [in Russian] (Кольман Я., Рём К.Г. Система цитохрома P450. В кн.: Я. Кольман, К.Г. Рём. *Наглядная биохимия*. Москва: Мир; 2004. С.310-311). URL: <https://www.chem.msu.ru/rus/teaching/kolman/310.htm> [дата обращения: 01.09.2024].
- Lam P.Y., Liu H., Lo C. Completion of tricin biosynthesis pathway in rice: cytochrome P450 75b4 is a unique chrysoeriol 5'-hydroxylase. *Plant Physiology*. 2015;168(4):1527-1536. DOI: 10.1104/pp.15.00566
- Liang C.Y., Rengasamy K.P., Huang L.M., Hsu C.C., Jeng M.F., Chen W.H. et al. Assessment of violet-blue color formation in *Phalaenopsis* orchids. *BMC Plant Biology*. 2020;20(1):212. DOI: 10.1186/s12870-020-02402-7
- McClellan P., Lee R., Howe K., Osborne C., Grimwood J., Levy S. et al. The common bean *V* gene encodes Flavonoid 3'-5' Hydroxylase: a major mutational target for flavonoid diversity in angiosperm. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:869582. DOI: 10.3389/fpls.2022.869582
- Minerdi D., Savoi S., Sabbatini P. Role of cytochrome P450 enzyme in plant microorganisms' communication: a focus on grapevine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(5):4695. DOI: 10.3390/ijms24054695
- Minevich I.E. Scientific substantiation and development of scientific and practical bases for flax seed deep processing technologies with obtaining ingredients for healthy food production (Nauchnoye obosnovaniye i razrabotka nauchno-prakticheskikh osnov tekhnologiy glubokoy pererabotki semyan lna s polucheniyem ingrediyehtov dlya sozdaniya produktov zdorovogo pitaniya) [dissertation]. Tver: FRC of Bast Crops; 2022. [in Russian] (Миневич И.Э. Научное обоснование и разработка научно-практических основ технологий глубокой переработки семян льна с получением ингредиентов для создания продуктов здорового питания: дис. ... докт. техн. наук. Тверь: ФНЦ лубяных культур; 2022).
- NCBI. National Center for Biotechnology Information: [website]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> [accessed June 20, 2024].
- Nelson D.R. Cytochrome P450 diversity in the tree of life. *Biochimica et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics*. 2018;1866(1):141-154. DOI: 10.1016/j.bbapap.2017.05.003
- Olsen K.M., Hehn A., Jugde H., Slimestad R., Larbat R., Bourgaud F. et al. Identification and characterisation of CYP75A31, a new flavonoid 3'-5'-hydroxylase, isolated from *Solanum lycopersicum*. *BMC Plant Biology*. 2010;10:21. DOI: 10.1186/1471-2229-10-21
- Phytozome 13. The Plant Genomics Resource: [website]. Available from: <https://phytozome-next.jgi.doe.gov> [accessed June 20, 2024].
- Porokhovinova E.A. Building up and studying the genetic collection of flax: *Linum usitatissimum* L. (Sozdaniye i izucheniye geneticheskoy kollektssii lna: *Linum usitatissimum* L.) [dissertation]. St. Petersburg: VIR; 2002. [in Russian] (Пороховинова Е.А. Создание и изучение генетической коллекции льна: *Linum usitatissimum* L.: дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург: ВИР; 2002).
- Porokhovinova E.A. Genetic collection of flax (*Linum usitatissimum* L.): establishment, analysis, and prospects of utilization (Geneticheskaya kollektssiya lna (*Linum usitatissimum* L.): sozdaniye, analiz i perspektivy ispolzovaniya) [dissertation]. St. Petersburg: VIR; 2019. [in Russian] (Пороховинова Е.А. Генетическая коллекция льна (*Linum usitatissimum* L.): создание, анализ и перспективы использования дис. ... докт. биол. наук. Санкт-Петербург: ВИР; 2019).
- Porokhovinova E.A., Kutuzova S.N., Pavlov A.V., Buzovkina I.S., Brutch N.B. Diversity of flax morphological characters in VIR genetic collection as a result of crop domestication. *Ecological Genetics*. 2018;16(4):33-50. [in Russian] (Пороховинова Е.А., Кутузова С.Н., Павлов А.В., Бузовкина И.С., Брauch Н.Б. Разнообразие морфологических признаков льна в генетической коллекции ВИР как результат его доместикации. *Экологическая генетика*. 2018;16(4):33-50). DOI: 10.17816/ecogen16433-50
- Porokhovinova E.A., Shelenga T.V., Matveeva T.V., Pavlov A.V., Grigorieva E.A., Brutch N.B. Polymorphism of genes controlling low level of linolenic acid in lines from VIR flax genetic collection. *Ecological Genetics*. 2019;17(2):5-19. [in Russian] (Пороховинова Е.А., Шеленга Т.В., Матвеева Т.В., Павлов А.В., Григорьева Е.А., Брauch Н.Б. Полиморфизм генов, контролирующих низкое содержание линоленовой кислоты, у линий генетической коллекции льна ВИР. *Экологическая генетика*. 2019;17(2):5-19). DOI: 10.17816/ecogen1725-19
- Pourcel L., Routaboul J.M., Cheynier V., Lepiniec L., Debeaujon I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*. 2007;12(1):29-36. DOI: 10.1016/j.tplants.2006.11.006
- Rakhmangulov R.S. Application of the CRISPR/Cas system for gene editing in ornamental crops. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(3):33-41. [in Russian]. (Рахмангулов Р.С. Применение системы CRISPR/Cas для редактирования генов декоративных культур. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(3):33-41). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-3-01
- Rakhmangulov R.S., Barabanov I.V., Erastenkova M.V., Ivanov A.A., Kovalenko T.V., Mezhdina K.M. et al. The new directions in genetics, breeding and biotechnology of ornamental and berry crops in the N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR). *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(4):65-78. [in Russian]. (Рахмангулов Р.С., Барабанов И.В., Ерастенкова М.В., Иванов А.А., Коваленко Т.В., Межина К.М. и др. Новые направления в генетике, селекции, биотехнологии декоративных и ягодных культур в ВИР им. Н.И. Вавилова. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(4):65-78). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-03
- Rakhmangulov R.S., Tikhonova N.G. Breeding of ornamental plants in Russia. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(4):40-54. [in Russian] (Рахмангулов Р.С., Тихонова Н.Г. Селекция декоративных растений в России. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(4):40-54). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-4-04
- Rupasinghe S., Baudry J., Schuler M.A. Common active site architecture and binding strategy of four phenylpropanoid P450s from *Arabidopsis thaliana* as revealed by molecular modeling. *Protein Engineering*. 2003;16(10):721-731. DOI: 10.1093/protein/gzg094
- Sato M., Kawabe T., Hosokawa M., Tatsuzawa F., Doi M. Tissue culture-induced flower-color changes in *saintpaulia* caused by excision of the transposon inserted in the *flavonoid 3', 5' hydroxylase (F3'5'H)* promoter. *Plant Cell Reports*. 2011;30(5):929-939. DOI: 10.1007/s00299-011-1016-z
- Seitz C., Ameres S., Forkmann G. Identification of the molecular basis for the functional difference between flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3'-5'-hydroxylase. *FEBS Letters*. 2007;581(18):3429-3434. DOI: 10.1016/j.febslet.2007.06.045

- Seitz C., Ameres S., Schlangen K., Forkmann G., Halbwirth H. Multiple evolution of flavonoid 3',5'-hydroxylase. *Planta*. 2015;242(3):561-573. DOI: 10.1007/s00425-015-2293-5
- Sharova E.I. Plant antioxidants. St. Petersburg: St. Petersburg State University; 2016. [in Russian] (Шарова Е.И. Антиоксиданты растений. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет; 2016).
- State Commission of the Russian Federation for Testing and Protecting Selection Achievements: [website]. [in Russian] (Государственная комиссия Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений: [сайт]). URL: <https://gossortrf.ru> [дата обращения: 07.08.2024].
- Strygina K.V., Khlestkina E.K. Anthocyanins synthesis in potato (*Solanum tuberosum* L.): genetic markers for smart breeding (review). *Agricultural Biology*. 2017;52(1):37-49. [in Russian] (Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К. Синтез антоцианов у картофеля (*Solanum tuberosum* L.): генетические маркеры для направленного отбора (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2017;52(1):37-49). DOI: 10.15389/agrobiology.2017.1.37rus
- Sudarshan G. P., Kulkarni M., Akhlov L., Ashe P., Shaterian H., Cloutier S. et al. QTL mapping and molecular characterization of the classical *D* locus controlling seed and flower color in *Linum usitatissimum* (flax). *Scientific Reports*. 2017;7(1):15751. DOI: 10.1038/s41598-017-11565-7
- Takahashi R., Dubouzet J.G., Matsumura H., Yasuda K., Iwashina T. A new allele of flower color gene *W1* encoding flavonoid 3',5'-hydroxylase is responsible for light purple flowers in wild soybean *Glycine soja*. *BMC Plant Biology*. 2010;10:155. DOI: 10.1186/1471-2229-10-155
- Tanaka Y., Yonekura K., Fukuchi-Mizutani M., Fukui Y., Fujiwara H., Ashikari T. et al. Molecular and biochemical characterization of three anthocyanin synthetic enzymes from *Gentiana triflora*. *Plant and Cell Physiology*. 1996;37(5):711-716. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a029004
- Wang Y.S., Xu Y.J., Gao L.P., Yu O., Wang X.Z., He X.J. et al. Functional analysis of flavonoid 3',5'-hydroxylase from tea plant (*Camellia sinensis*): critical role in the accumulation of catechins. *BMC Plant Biology*. 2014;14:347. DOI: 10.1186/s12870-014-0347-7
- Williams C.A., Grayer R.J. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Reports*. 2004;21(4):539-573. DOI: 10.1039/B311404J
- Winkel B.S.J. The biosynthesis of flavonoids. In: E. Grotewold (ed.). *The Science of Flavonoids*. New York, NY: Springer; 2008. p.71-95. DOI: 10.1007/978-0-387-28822-2_3
- Xu J., Wang X., Guo W. The cytochrome P450 superfamily: key players in plant development and defense. *Journal of Integrative Agriculture*. 2015;14(9):1673-1686. DOI: 10.1016/S2095-3119(14)60980-1
- Yoshida K., Mori M., Kondo T. Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Natural Product Reports*. 2009;26(7):884-915. DOI: 10.1039/B800165K
- Zabala G., Vodkin L.O. A rearrangement resulting in small tandem repeats in the *F3'5'H* gene of white flower genotypes is associated with the soybean *W1* locus. *Crop Science*. 2007;47(S2):113-124. DOI: 10.2135/cropsci2006.12.0838tpg

Информация об авторах

Анастасия Александровна Слободкина, младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, a.slobodkina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2333-1980>

Андрей Валерьевич Павлов, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, avpavlov77@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5098-4904>

Елизавета Александровна Пороховинова, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, e.porohovinova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8328-9684>

Information about the authors

Anastasia A. Slobodkina, Associate Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, a.slobodkina@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2333-1980>

Andrey V. Pavlov, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, avpavlov77@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5098-4904>

Elizaveta A. Porokhovinova, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, e.porohovinova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8328-9684>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 17.10.2024; одобрена после рецензирования 03.02.2025; принята к публикации 24.02.2025. The article was submitted on 17.10.2024; approved after reviewing on 03.02.2025; accepted for publication on 24.02.2025.