

# 植物类黄酮生物合成代谢工程研究进展

刘秀明<sup>1,2,3</sup>, 褚宇航<sup>1,2</sup>, 于丽莉<sup>3</sup>, 赵虹<sup>3</sup>, 张健<sup>3</sup>, 姚娜<sup>1,2\*</sup>

(1 吉林农业大学生命科学学院, 吉林 长春 130118; 2 吉林农业大学生物反应器与药物开发教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118; 3 石河子大学红花产业研究院, 新疆 石河子 832099)

**摘要:**类黄酮是植物界最具代表性的多酚类次生代谢物之一,具有显著的结构多样性与多重生物学功能,在植物生长发育、环境适应以及人类健康中发挥关键作用,其合成是一个由多层级网络协同塑造的高度可塑性系统。本综述梳理了近年植物类黄酮生物合成的研究进展,重点聚焦核心酶学体系、多层级调控网络与代谢工程/合成生物学等应用,并评估代谢工程与合成生物学在前沿应用中的策略、瓶颈与未来突破口,为作物改良与天然产物开发提供参考。

**关键词:**类黄酮;生物合成;代谢工程;关键酶;转录因子

**中图分类号:**Q946

**文献标志码:**A

## Advances in the metabolic engineering of plant flavonoid biosynthesis

LIU Xiuming<sup>1,2,3</sup>, CHU Yuhang<sup>1,2</sup>, YU Lili<sup>3</sup>, ZHAO Hong<sup>3</sup>, ZHANG Jian<sup>3</sup>, YAO Na<sup>1,2\*</sup>

(1 College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China; 2 Engineering Research Center of the Chinese Ministry of Education for Bioreactor and Pharmaceutical Development, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China; 3 Institute for Safflower Industry Research of Shihezi University, Shehezi, Xinjiang 832099, China)

**Abstract:** Flavonoids are among the most representative polyphenolic secondary metabolites in plants, exhibiting remarkable structural diversity and pleiotropic biological functions. They play pivotal roles in plant growth and development, environmental adaptation, and human health. Their biosynthesis constitutes a highly plastic system orchestrated by multi-layered networks. This review synthesizes recent advances in plant flavonoid biosynthesis, with an emphasis on the core enzymatic machinery, multi-level regulatory networks, and applications in metabolic engineering and synthetic biology, and it evaluates strategies, bottlenecks, and future opportunities at the technological frontier. An in-depth elucidation of the flavonoid biosynthetic pathway provides a solid theoretical foundation and technological support for crop improvement and natural product development.

**Key words:** flavonoids; biosynthesis; metabolic engineering; key enzymes; transcription factors

类黄酮是一类数量庞大的多酚类次生代谢物。它们通常以“C6-C3-C6”骨架为基础,由两个苯环(A环和B环)与一个含氧杂环(C环)构成<sup>[1]</sup>。一般按C环的氧化程度和B环取代方式,把它们分为黄酮、黄酮醇、黄烷酮、异黄酮、花青素等亚类<sup>[2]</sup>。这些亚类在结构上差别显著,因此在显色、抗氧化与信号调节等方面也表现出不同特征<sup>[3]</sup>。类黄酮广泛分布于根、茎、叶、花、果实和种子等组织,是植物环境适应的重要化学防御与调控资源库。自1814年研究人员首次报道相关化合物以来,文献已记录

的类黄酮衍生物超过一万种<sup>[3]</sup>。

## 1 类黄酮在植物生长与环境适应中的作用

### 1.1 类黄酮的化学分类与结构特征

类黄酮以“C6-C3-C6”碳骨架为核心,由两个芳香环(A环与B环)及含氧杂环(C环)构成。围绕C环氧化程度、B环连接方式及取代基类型的差异,形成黄酮、黄酮醇、黄烷酮、黄烷醇、花青素、异黄酮、查尔酮等主要亚类;在此基础上进一步发生羟基

收稿日期:2025-10-03

基金项目:吉林省科技厅中青年科技创新人才(团队)培育项目(20250601029RC)

作者简介:刘秀明(1981—),女,教授,从事红花活性成分代谢调控及产品研发。

\*通信作者:姚娜(1980—),女,副教授,从事红花活性成分代谢调控及产品研发,e-mail: nayao@jlau.edu.cn。

化、糖基化、甲基化与酰基化等修饰,最终塑造出复杂的结构谱系与理化性质梯度<sup>[1-3]</sup>。在组织与细胞尺度上,花青素多富集于表皮细胞液泡并参与显色,黄酮醇与黄酮常在叶片表皮及叶肉细胞中积累以承担光防护与信号调节,部分黄烷醇与原花青素则与种皮着色、机械防御及储藏稳定性密切相关<sup>[4]</sup>(表 1)。

质谱技术为类黄酮的结构鉴定与定量提供了高通量、可追溯的手段。研究人员通常先用反相液相色谱把复杂样品分开,再用串联质谱读取母离子与

碎片离子信息。复杂基质中常见同分异构体,所以一般会把精确质量、保留时间与中性丢失规律一起比对,而不是只看分子量。O-糖苷常见的中性丢失包括 162 Da(六碳糖)、146 Da(脱氧六碳糖)与 132 Da(戊糖),并可进一步推断糖基数目与连接方式;C-糖苷更常出现 120 Da 与 90 Da 的交替丢失,可用于区分部分同分异构体。研究人员会把这些碎片规律当作“线索”,最后还需要用标准品或核磁共振等手段做确认,尤其是在复杂基质或多糖苷共存时<sup>[5-7]</sup>。

表 1 不同亚类黄酮的分布规律与主要功能差异

Table 1 Distribution patterns and main functional differences of different flavonoid subclasses

亚类(代表化合物)	典型富集部位/阶段	主要定位特征	功能差异要点(概括)
黄酮(如芹菜素、木犀草素)	叶片表皮、花器官; 受光照与胁迫诱导	以液泡贮存为主;部分以胞外空间/细胞壁结合形式存在	吸收紫外辐射、缓冲氧化胁迫;参与防御与信号调节
黄酮醇(如槲皮素、山柰酚)	叶片表皮与幼嫩组织; 与光强/紫外呈正相关	以液泡贮存为主;部分与细胞壁组分结合	紫外屏蔽与抗氧化的重要亚类;可调节生长素运输与细胞伸长
花青素(如矢车菊素、飞燕草素)	花瓣、果皮及幼叶; 低温/盐胁迫等诱导	液泡高积累;转运体参与决定积累强度与图案	赋色并吸引传粉者;清除活性氧,提高低温与强光耐受
原花青素(缩合单宁)	种皮与果实外层; 与成熟阶段相关	细胞内聚合并贮存(多与液泡结构相关)	增强机械与化学防御;影响种子休眠与耐贮藏性
黄烷醇(如儿茶素)	嫩叶与部分果实组织; 常与防御代谢协同	细胞内贮存,可作为原花青素前体	快速清除活性氧与自由基,参与机械损伤和胁迫应答
异黄酮(如染料木素、大豆苷元;豆科较典型)	根部及根际;共生/ 病原诱导显著	细胞内合成,可分泌至根际,介导微生物互作	作为信号分子调控根瘤共生;兼具抗菌与免疫诱导作用
查尔酮(如红花黄色素相关前体)	花器官与色素沉积组织; 部分物种花丝/花瓣富集	细胞内合成,经修饰后多进入液泡贮存	兼具着色与抗氧化特征;是多亚类分支的关键前体
黄烷酮(如柚皮素)	幼嫩组织中普遍存在; 通路关键中间体	细胞内合成后进一步修饰与转运	连接苯丙烷途径与下游分支,影响应答幅度与产物谱差异

## 1.2 类黄酮的生物学功能

类黄酮常被视为植物“光防护—氧化缓冲”体系的重要组成部分:它们能够吸收紫外波段辐射,参与活性氧清除,并在多种逆境下与免疫响应发生耦合,从而影响感染风险与组织损伤程度。类黄酮种类繁多,分布广泛。它们对植物的作用体现在两个方面:一是提供物理保护,二是作为信号分子<sup>[8]</sup>。类黄酮可以促进植物的生长发育,帮助植物适应环境,并对有益微生物做出反应。

黄酮类化合物对植物具有物理和化学双重保护作用。在物理层面,通过吸收紫外波段辐射并调节光能分配,降低紫外诱导的核酸损伤与光系统压力;花青素亦可参与可见光范围的光吸收与共色效应相关过程。在化学层面,黄酮类化合物利用其酚羟基中和活性氧(ROS),保护蛋白质和膜脂免受氧化。黄酮类化合物的功能在光照不足、强光照射、紫外线辐射增强以及低温、干旱和盐胁迫引起的氧化胁迫下尤为重要。

黄酮类化合物长期被视为植物的重要防护性代谢物,并在生长发育过程中发挥多层次调控作用。这类小分子可由植物自身合成,并在特定组织或细胞区室中富集。黄酮醇已被证实能够影响生长素外排转运蛋白(如 PIN 蛋白)的分布与稳定性<sup>[9]</sup>,进而改变生长素极性运输及局部浓度梯度,对下胚轴伸长、侧根发生以及叶片形态建成等发育过程产生影响。与此同时,黄酮及其代谢衍生物还能调节与细胞分裂和细胞伸长相关基因的表达,参与花器官分化与果实着色等过程。不同组织与生长阶段的积累差异提示其作用具有明显的时空特异性,为器官形成与形态塑造提供调控。

根据信号分子与调控网络研究的进展,类黄酮不仅是防护性代谢物,也可作为信号分子或信号调节因子参与应答调控。类黄酮可通过影响细胞氧化还原稳态、钙离子信号传导、蛋白激酶级联反应(包括 MAPK)以及下游转录网络,调节胁迫信号的幅度与持续时间<sup>[10]</sup>。在干旱、盐胁迫和强光条件下,类

黄酮与脱落酸(ABA)信号通路存在作用,参与调控气孔开闭与水分保持等过程,从而改善水分利用效率并减轻光抑制<sup>[11-12]</sup>。类黄酮还能抑制或刺激膜转运蛋白、受体样蛋白激酶和转录因子的功能,从而调节激素反应和防御反应,使植物能够灵活地调节生长和防御之间的平衡,以应对不同的环境条件。

类黄酮参与植物对环境刺激的短期生理可塑性响应,并与后续的长期表型可塑性密切相关。其通过协调生物合成、化学修饰与细胞运输等过程响应光照、温度、盐胁迫及病原体侵染,从而调控 ROS 稳态、维持光系统功能并促进受损细胞结构的修复。不同物种/品种在长期适应过程中可通过调整类黄酮代谢途径来优化光能利用、抗逆性与微生物互作,而这些变化通常与基因表达谱及酶谱的重塑相关,进而影响其生态位适应能力。类黄酮在植物-微生物互作的信号传导中同样发挥作用:在根际,它们可作为重要的分泌信号分子;豆科植物分泌的异黄酮/类黄酮能够诱导根瘤菌结瘤相关基因表达,从而促进共生建立。植物根系释放的类黄酮不仅影响根际微生物行为,还可调节群落结构与代谢活动,并参与氮、磷等营养元素转化过程;同时,胁迫条件下类黄酮合成与分泌的动态调整也可能增强对病原入侵的

防御能力。综合现有研究,可将其作用过程概括为“生物合成—化学修饰—细胞运输—转录响应”的耦合链条,该链条将类黄酮的产生、化学修饰、细胞运输和基因表达联系起来,且各环节均受外界刺激调控。类黄酮及其中间产物既可作为最终代谢产物发挥效应,也可作为表征细胞内环境信息的化学信号,其生物活性取决于化学形式及细胞定位。

小结:类黄酮的生物学功能由传统的结构性防护扩展到复杂的信号分子网络,贯穿光保护、抗氧化、发育调控、逆境适应与微生物互作等多个生物学过程。未来研究应进一步结合分子遗传、代谢组学与细胞生物学方法,解析不同类黄酮分子在时空尺度上的精确作用机制及其在植物环境适应中的协同网络。

## 2 类黄酮生物合成途径核心代谢网络

类黄酮生物合成网络由苯丙烷途径提供通用前体,通过骨架构建与多步修饰形成结构多样的产物谱。该网络的分析基于对途径主节点和分支节点的识别,以及对酶家族功能演化和不同模块在通量行为上的耦合方式的理解。典型合成路线已较为清晰(图1)<sup>[13]</sup>,为后续调控解析与工程改造奠定了基础。

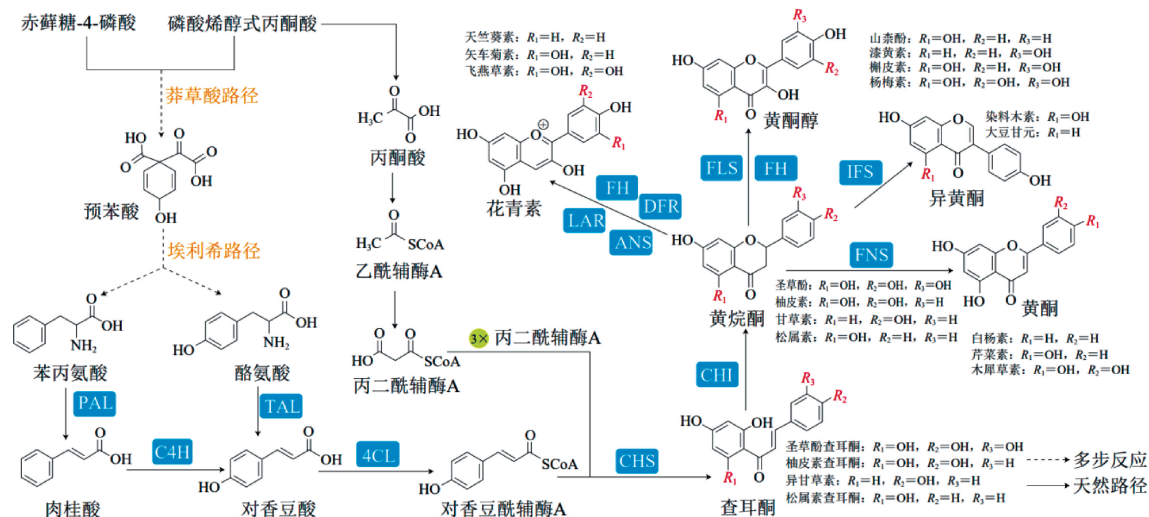


图1 典型植物类黄酮的生物合成途径

Figure 1 Biosynthetic pathway of typical plant flavonoids

### 2.1 上游通用途径

苯丙烷途径是多类酚丙烷衍生物的共同前体来源:L-苯丙氨酸依次经苯丙氨酸解氨酶、肉桂酸-4-羟化酶和4-香豆酸:辅酶A连接酶转化为反式肉桂酸、对香豆酸与4-香豆酰辅酶A,为类黄酮、木质素和香豆素等合成提供起始底物<sup>[14]</sup>。其中,苯丙氨酸解氨酶常为首个限速点,其表达的时空差异与果实/

器官中类黄酮累积动态密切相关,是调节前体供给与通量的优先靶位<sup>[15]</sup>。

肉桂酸-4-羟化酶属于细胞色素P450单加氧酶(P450)家族,定位于内质网膜。其氨基端信号锚不仅决定内质网定位,还可作为多酶复合体组装的支点,将查尔酮合成酶等可溶性酶招募至内质网膜邻近区域,缩短中间体扩散距离并提高传递效

率<sup>[16-17]</sup>。不同组织或发育阶段的复合体组成可变,可能改变底物偏好与分支通量分配。据此,苯丙氨酸解氨酶—肉桂酸-4-羟化酶—4-香豆酸:辅酶 A 连接酶构成上游“限速—分配”模块,是代谢工程与品质/抗性改良中最常被优先干预的节点<sup>[18]</sup>。

## 2.2 核心骨架构建

类黄酮专属分支以 4-香豆酰辅酶 A 与丙二酰辅酶 A 为起点,通常由查尔酮合成酶催化生成查尔酮将碳流导入该通路<sup>[19]</sup>。随后,查尔酮异构酶将查尔酮转化为黄烷酮,为进一步的羟基化和还原反应提供原料。查尔酮合成酶/查尔酮异构酶多为多拷贝家族,不同成员在组织表达、底物偏好与激素响应上存在分化,可参与塑造物种特异的化学多样性<sup>[20]</sup>。研究发现,查尔酮异构酶家族在不同物种中可分为两个亚家族:催化亚家族和辅助亚家族,二者共同维持着骨架形成过程中的高效性和精确性<sup>[21]</sup>。

二氢黄酮醇是该途径中的重要节点/交叉点,影响着最终产物的生成。黄酮醇合成酶与二氢黄酮醇-4-还原酶竞争底物,分别导向黄酮醇与(经花色苷合成酶)花青素/原花青素分支<sup>[22]</sup>。该分流受酶活、表达量及底物可及性共同控制,进而影响颜色性状与抗逆相关表型差异。近期研究还提示,部分分

支点酶具有底物选择与催化模式的可塑性,反映出酶家族的进化分化,为定向改造提供了可利用空间<sup>[23]</sup>(表 2)。

## 2.3 骨架修饰

骨架形成后,类黄酮常经历糖基化、甲基化和酰基化等末端修饰,生成大量衍生物并获得新的理化性质与生物活性<sup>[24]</sup>。糖基化通常提高水溶性与贮藏稳定性;甲基化与酰基化可增强疏水性、膜亲和性及色素稳定性,并影响细胞内转运与区室化。不同修饰酶的底物范围与位点特异性在很大程度上决定最终产物谱,为改善稳定性、生物利用度与颜色性状提供了可调控的酶学元件库<sup>[24]</sup>。

上述修饰反应往往呈级联或并行:上游羟化等步骤先提供可修饰位点,随后糖基转移、甲基转移与酰基转移反应共同塑造取代基类型与组合,最终塑造产物谱。以羟基红花黄色素 A(红花中特征性的喹诺查尔酮类二 C-糖苷为例),近年来的体内外重构研究逐步理清了关键 C-糖基化与后续修饰步骤,为按需优化稳定性与活性提供了路径依据<sup>[25]</sup>。总体而言,围绕位点定向糖基化、提高甲基化/酰基化程度及“高酰化花青苷”等策略,有望实现稳定性与色泽的协同提升,并拓展可定制的产品谱。

表 2 类黄酮生物合成核心酶基因家族

Table 2 Core enzyme gene families in flavonoid biosynthesis

酶名称(中文)	英文名称(缩写)	基因家族	催化反应	代表物种	功能特性
苯丙氨酸解氨酶	Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL)	PAL	L-苯丙氨酸→反式肉桂酸	枸杞、烟草	上游限速酶
肉桂酸-4-羟化酶	Cinnamate-4-Hydroxylase (C4H)	P450 (CYP73)	反式肉桂酸→对香豆酸	丹参、拟南芥	上游限速酶,内质网锚点
4-香豆酸:辅酶 A 连接酶	4-Coumarate-CoA Ligase (4CL)	ANL	对香豆酸→4-香豆酰-CoA	拟南芥、荞麦	上游分支点酶
查尔酮合成酶	Chalcone Synthase (CHS)	PKS Type III	4-香豆酰-CoA + 3 丙二酰-CoA →查尔酮	柑橘、红花	核心通路“门控”酶
查尔酮异构酶	Chalcone Isomerase (CHI)	CHI	查尔酮→黄烷酮	红车轴草、金花茶	核心骨架异构化
黄烷酮 3-羟化酶	Flavanone 3-Hydroxylase (F3H)	2-氧代戊二酸依赖型双加氧酶 (2-ODD)	黄烷酮→二氢黄酮醇	拟南芥、烟草	黄酮醇与花青素分支点
二氢黄酮醇 4-还原酶	Dihydroflavonol 4-Reductase (DFR)	DFR	二氢黄酮醇→花青素原	蓝莓、棉花	花青素分支限速酶
黄酮醇合成酶	Flavonol Synthase (FLS)	2-氧代戊二酸依赖型双加氧酶 (2-ODD)	二氢黄酮醇→黄酮醇	大麻、烟草	黄酮醇分支限速酶
UDP-糖基转移酶	UDP-Glycosyltransferase (UGT)	UGT	糖基化	柑橘、夏枯草	增加水溶性与稳定性
O-甲基转移酶	O-Methyltransferase (OMT)	OMT	甲基化	梅花、甘草	改变疏水性与活性
酰基转移酶	Acytransferase (AT)	BAHD	酰基化	红花、菊花	进一步调控稳定性

表2(续)

酶名称(中文)	英文名称(缩写)	基因家族	催化反应	代表物种	功能特性
酪氨酸解氨酶	Tyrosine Ammonia-Lyase (TAL/PTAL)	芳香族氨基酸解氨酶家族(苯丙氨酸解氨酶样)	L-酪氨酸→对香豆酸(或同时催化苯丙氨酸→肉桂酸)	红景天、禾本科等	为苯丙烷/类黄酮通路提供旁路入口,提高对香豆酸供给
查尔酮还原酶	Chalcone Reductase (CHR)	SDR	查尔酮中间体还原→6'-脱氧查尔酮(多见于豆科)	甘草、紫花苜蓿	异黄酮/豆科特征黄酮支路前体形成关键酶
黄烷酮 3'-羟化酶	Flavanone 3'-Hydroxylase (F3'H)	细胞色素 P450 单加氧酶家族 (CYP75B)	黄烷酮/二氢黄酮醇 B 环 3'位羟化	拟南芥、葡萄、茶树	决定儿茶酚型 B 环比例,影响抗氧化与花青素色系
黄烷酮 3', 5'-羟化酶	Flavanone 3', 5'-Hydroxylase (F3'5'H)	细胞色素 P450 单加氧酶家族 (CYP75A)	B 环 3'与 5'双羟化	牵牛花、葡萄等	生成三羟基 B 环前体,推动飞燕草素类花青素形成(蓝紫色系)
黄酮合成酶 I	Flavone Synthase I (FNSI)	2-ODD	黄烷酮→黄酮(去饱和)	欧芹等	黄酮分支关键酶;与黄酮合成酶II在物种分布上互补
黄酮合成酶II	Flavone Synthase II (FNSII)	CYP93B	黄烷酮→黄酮(氧化/去饱和)	甘草、薄荷、菊科等	黄酮分支主导型酶;常与特定羟化/甲基化组合形成特色黄酮
黄烷酮 2-羟化酶	Flavanone 2-Hydroxylase (F2H)	CYP93G	黄烷酮/黄酮 2 位羟化→促进 C-糖苷化/后续重排	水稻等禾本科	与 C-糖基化黄酮形成相关(如东方苷等)
花色素合成酶	Leucoanthocyanidin Synthase/Leucoanthocyanidin Dioxygenase (ANS/LDOX)	2-OGD	无色花色素(花色素原)→花色素苷母核(花色素)	拟南芥、葡萄、苹果等	花青素分支关键氧化步骤;与二氢黄酮醇 4-还原酶共同决定通量
花色素 3-O-糖基转移酶	Uridine Diphosphate Glucose: Anthocyanidin 3-O-Glycosyltransferase (UGFT)	UGT	花色素→花色素 3-O-糖苷(稳定花青素)	葡萄、草莓、苹果等	决定花青素稳定积累的关键“锁定”步骤;常受转录因子模块调控
花色素 5-O-糖基转移酶	UDP-Glucose: Anthocyanidin 5-O-Glycosyltransferase (A5GT)	UGT	花色素 3-O-糖苷→进一步 5-O-糖基化	牵牛花等	提高溶解性与稳定性,改变色泽与 pH 敏感性
花色素芳香酰基转移酶	Anthocyanin Aromatic Acyltransferase (AAT/AMT)	BAHD	花色素苷糖基侧链酰基化(对香豆酰、咖啡酰、丙二酰等)	紫苏、矢车菊等	显著提升光/热/酸碱稳定性,并影响显色(共色效应)
白花青素还原酶	Leucoanthocyanidin Reductase (LAR)	还原酶家族	无色花色素→儿茶素((+)-catechin)	茶树、可可等	原花青素(缩合单宁)合成关键入口之一
花色素还原酶	Anthocyanidin Reductase (ANR/BAN)	SDR	花色素→表儿茶素((-)-epicatechin)	拟南芥、葡萄、茶树	原花青素合成关键酶;与白花青素还原酶共同决定单体组成
异黄酮合成酶	Isoflavone Synthase (IFS)	细胞色素 P450 单加氧酶家族 (CYP93C)	黄烷酮→2-羟基异黄酮(经迁移反应形成异黄酮骨架)	大豆、紫花苜蓿	豆科异黄酮支路的标志性关键酶
2-羟基异黄酮脱水酶	2-Hydroxyisoflavone Dehydratase (HID)	CES	2-羟基异黄酮→异黄酮(脱水成键)	大豆等	与异黄酮合酶协同,促进异黄酮母核快速形成

表2(续)

酶名称(中文)	英文名称(缩写)	基因家族	催化反应	代表物种	功能特性
异黄酮还原酶	Isoflavone Reductase (IFR)	NAD(P)H-Red	异黄酮衍生物→还原型异黄酮(如异黄酮/异黄酮等)	豆科	参与豆科抗性相关的异黄酮类植物抗毒素合成
维斯汀酮还原酶	Vestitone Reductase (VR)	RF	维斯汀酮等中间体→后续豆科抗毒素骨架	紫花苜蓿等	豆科特异支路酶,决定特定植物抗毒素谱
异黄酮 2'-羟化酶	Isoflavone 2'-Hydroxylase (I2'H)	CYP81E	异黄酮 2'位羟化→促进豆科抗毒素/异黄酮衍生物形成	豆科	为萜烯化/甲基化等后修饰提供位点基础
C-糖基转移酶	C-Glycosyltransferase (CGT)	UGT	在 C 位形成 C-C 糖苷键(黄酮/黄酮醇等)	水稻、荞麦等	生成更耐水解的 C-糖苷化黄酮,提高稳定性与特殊活性
鼠李糖基/葡萄糖醛酸转移酶	Rhamnosyltransferase (RhaT/UGAT)	UGT	O-糖基化的进一步延伸与修饰(加鼠李糖/葡萄糖醛酸)	柑橘、槐米等	决定糖链类型与溶解性;影响体内水解速率与生物利用度
异戊烯基转移酶	Aromatic Prenyltransferase (PT)	UbiA-MPT	黄酮/异黄酮等的异戊烯基化(C5 基因引入)	桑科、豆科等	显著提升疏水性与膜亲和性;常增强抗菌/抗氧化活性
硫酸基转移酶	Sulfotransferase (SOT)	SULTs	类黄酮羟基硫酸化	拟南芥等	改变极性与储存/运输形式,参与特定应答或解毒过程
$\beta$ -葡萄糖苷酶	$\beta$ -Glucosidase (BGLU)	GH	类黄酮 O-糖苷水解→释放苷元	多种植物	影响组织特异激活与防御释放;与糖基化共同调控动态平衡
谷胱甘肽 S-转移酶	Glutathione S-Transferase (GST)	GSTs	与花青素/原花青素结合并递送至液泡转运体系	玉米、拟南芥等	虽非骨架催化酶,但对花青素稳定积累具有重要作用
MATE 转运体/ ATP 结合盒转运体	Multidrug and toxic compound extrusion transporter (MATE)/ATP-binding cassette transporter (ABC)	MATE 转运体家族/ATP 结合盒转运体家族	将花青素/黄酮糖苷转运入液泡或胞外	拟南芥、葡萄等	影响积累部位与含量;与装配酶共同构成“代谢—转运”模块

### 3 多层次调控网络

类黄酮合成受多层次调控网络统筹:转录因子主要调控结构基因的表达强度与时空模式,非编码核糖核酸与表观遗传调控进一步影响转录后命运与染色质可及性,同时还与光信号、激素及逆境通路发生互作,从而实现代谢通量的动态分配<sup>[26]</sup>。

#### 3.1 转录调控

在转录层面,MYB 转录因子—bHLH 转录因子—WD40 转录调控复合体(MBW 复合体)是调控花青素与原花青素结构基因表达的核心模块,具有跨物种保守性<sup>[27-28]</sup>。例如,在桃花中,PpMYB10 与相应 bHLH 蛋白和 WD40 蛋白形成复合体,激活结构基因表达并促进花青素积累<sup>[29]</sup>。除该复合体外,

WRKY、AP2/ERF、bZIP 等转录因子也可通过结合顺式元件参与调控,构成与激素/胁迫信号相衔接的扩展网络<sup>[30]</sup>。在蒙古沙冬青中,AmWRKY20 在干旱胁迫下上调,并通过 W-box 元件促进肉桂酸-4-羟化酶基因表达,从而增强抗旱性<sup>[31]</sup>。

转录因子的调控效应通常具有条件依赖性,受细胞类型、发育阶段与环境信号等因素共同影响,并非简单的单向激活或抑制。部分 MYB 成员既可直接激活木质素合成关键酶基因的表达,又能诱导转录抑制子抑制类黄酮分支,从而在共享前体的通路之间进行分配<sup>[32]</sup>。同时,某些 WRKY 或 AP2/ERF 因子可与 MBW 复合体互作,改变其靶基因选择或调控强度,形成交叉调控回路<sup>[33]</sup>。这些互作和复合体重组机制解释了一个常见现象:同一调控因子在

不同组织或不同胁迫背景下,可能对应不同的表达模式与表型(表 3)。

表 3 类黄酮代谢调控关键转录因子与作用模式

Table 3 Key transcription factors and modes of action in flavonoid metabolic regulation

转录因子家族	代表成员	作用模式	靶向结构基因	调控的代谢物	代表物种
MYB	MYB111, PAP1, MYB14	激活/抑制	C4H2, PAL, CHS, FLS	黄酮、黄酮醇、花青素	黄芩、拟南芥、番茄
bHLH	SfbHLH042, TT8	激活	CHS, F3H, DFR, ANS	黄酮、花青素	槐、拟南芥
WRKY	AmWRKY20	激活	PAL, C4H	总黄酮	蒙古沙冬青
AP2/ERF	CsERF003	激活	C4H, UGT	总黄酮	柑橘
bZIP	AREB	协同激活	CHS, DFR	花青素	拟南芥
WD40	TTG1, AN11	协同激活	CHS, DFR, ANS, UFGT	花青素、原花青素	拟南芥、矮牵牛
R3-MYB	MYBL2, CPC, TRY	抑制	DFR, ANS, UFGT	花青素	拟南芥
NAC	ANAC078, MdNAC52, VvNAC17	激活/抑制	DFR, ANS, UFGT, FLS	花青素、黄酮醇	拟南芥、苹果、葡萄
SPL	SPL9, SPL15	抑制	DFR, ANS	花青素	拟南芥
TCP	TCP3, TCP15	协同激活	CHS, CHI, FLS	黄酮醇	拟南芥
MADS-box	TT16, SEP3	发育相关调控	BAN, DFR, ANS	原花青素、花青素	拟南芥
BBX	BBX21, BBX24	协同激活/抑制	CHS, DFR	花青素	拟南芥
PIF(bHLH)	PIF3, PIF4	抑制	CHS, DFR	花青素	拟南芥
ARF	ARF6, ARF8	激活/抑制	CHS, F3H, DFR	黄酮、花青素	拟南芥
BZR/BES	BZR1, BES1	抑制/重定向	CHS, DFR	总黄酮、花青素	拟南芥
EIN3/EIL	EIN3, EIL1	激活/抑制	DFR, UFGT	花青素	拟南芥
ICE1(bHLH)	ICE1	激活	DFR, UFGT	花青素	拟南芥
Histone Deacetylase	HDA19, HDA6	抑制	DFR, ANS	花青素	拟南芥
Histone Acetyltransferase	GCN5	激活	CHS, FLS	黄酮醇	拟南芥
Histone Methyltransferase	CLF, SWN	抑制	结构基因/上游调控基因	花青素、黄酮醇	拟南芥
Histone Demethylase	JMJ25	激活/抑制	结构基因/上游调控基因	花青素、黄酮醇	拟南芥
Chromatin Remodeler	BRM(SWI/SNF)	协同调控	CHS, DFR	花青素、黄酮	拟南芥
DNA Methylation/DNA Demethylation	MET1, ROS1	抑制/激活	结构基因/上游调控基因	花青素、黄酮	拟南芥
合成转录因子	dCas9-VP64	定向激活	CHS, DFR, UFGT (可多基因)	目标类黄酮提升	多物种(通用)
合成转录因子	dCas9-SRDX	定向抑制	分支竞争基因/负调控因子	代谢流重定向	多物种(通用)

### 3.2 非编码核糖核酸与表观遗传调控

除转录水平的经典调控外,越来越多研究表明非编码核糖核酸(ncRNA)与表观遗传修饰在植物类黄酮生物合成的时空调控与胁迫响应中发挥关键作用。二者在不改变核苷酸序列的前提下,通过调节染色质可及性、信使RNA(mRNA)稳定性与翻译效率,精细化通量分配、决定组织特异表达并参与环境诱导的代谢重编程,同时与MBW等转录网络相互耦合<sup>[34-35]</sup>,共同构建类黄酮代谢的多层次调控模块。

在转录后调控层面,微小RNA(miRNA)、小干扰RNA(siRNA)及长链非编码RNA(lncRNA)通过不同机制作用于类黄酮途径相关基因或其上游转录因子,从而间接或直接重塑结构基因表达与代谢流向。典型例子包括miR156-SPL轴:miR156通过靶向SPL家族转录因子mRNA,实现对花青素合成抑制<sup>[34]</sup>并调控发育时期相关代谢程序<sup>[36]</sup>。在桃和苹果等果树中,miR858/miR828被报道分别通过调控R2R3-MYB家族成员影响花青素与原花青素的合成,改变果皮和果肉色泽<sup>[37]</sup>。在多种植物中,长链

非编码核糖核酸可通过与转录因子或染色质相关蛋白形成核糖核蛋白复合物,调节局部染色质状态并影响下游基因转录;在类黄酮/花青素途径中,也已报道长链非编码核糖核酸可正向或负向调控 CHS、DFR 等结构基因的表达,从而改变代谢积累<sup>[35]</sup>。在水稻中,小干扰 RNA 介导的 RNA 干扰等沉默手段已被用于验证色素形成关键基因并产生明确颜色表型<sup>[38]</sup>。

在表观遗传层面,脱氧核糖核酸甲基化(尤其是启动子与基因体区域的 CG/CHG/CHH 位点)及组蛋白修饰(如 H3K4me3、H3K27me3、H3K9ac 等)会改变染色质状态,从而影响相关基因的转录活性<sup>[37,39-41]</sup>。已有研究表明,可以用靶向表观调控的工具去改变甲基化水平或相关修饰,从而在不改动序列的情况下调节通路基因表达<sup>[37,39-41]</sup>。在解读这类结果时,需要把“标记变化—转录变化—代谢物变化”放在同一套时间序列里核对,并结合组织或发育阶段的信息,避免把相关性误当因果<sup>[42-43]</sup>。

### 3.3 交叉对话:与环境信号和激素通路的整合

类黄酮合成与环境/激素信号紧密耦合。光照与紫外 B 波段信号可通过紫外 B 受体 UVR8 等通路激活 MYB 类因子,上调查尔酮合成酶、黄酮醇合成酶等结构基因;干旱与盐胁迫亦可通过多条级联通路引发类似响应。茉莉酸、水杨酸与脱落酸等激素在其中起到整合作用:茉莉酸/水杨酸通常推动防御型通量分配(如诱导 4-香豆酸:辅酶 A 连接酶相关表达),脱落酸则在部分情境下增强逆境适应<sup>[44]</sup>。

生长—防御权衡贯穿上游前体分配。类黄酮与木质素共享 4-香豆酰辅酶 A 等关键中间体,逆境下碳流往往从结构性沉积转向可溶性防御代谢物,以提高化学防御能力。综述指出,分支点酶的功能分化与上游转录网络共同决定碳流走向,并影响生长成本与抗逆收益之间的平衡<sup>[45]</sup>。因此,提高目标产物通常需要在前期供给、竞争支路与时空表达三方面协同调节,而非简单放大单一节点<sup>[46]</sup>。

## 4 代谢工程与合成生物学:从瓶颈到突破

在通路与调控机制认识不断加深的基础上,类黄酮工程化生产的关键在于识别瓶颈并选择匹配的工程路径。本文将相关策略归纳为 3 类:植物体内代谢工程(就地调控内源网络)、微生物细胞工厂(异源放大生产)以及新兴平台技术(数据驱动设计与自动化迭代),三者共同支撑类黄酮及其衍生物的定向制造<sup>[19]</sup>。

### 4.1 植物体内代谢工程策略

植物作为产物修饰能力强的生物底盘,具备细胞器区室化、天然糖基化/酰基化体系与多酶复合体组织等优势,适于合成末端修饰复杂、构型接近天然的类黄酮衍生物。当前更可行的工程路线,往往不是单点“放大某个酶”,而是围绕通量分配、组织特异性与生长—防御权衡,组合采用“精准编辑—转录层级重编程—模块化堆叠”的策略,在提高产量的同时尽量维持代谢稳态。

1) 以 MYB 为核心的转录层级重编程:早期结构基因与晚期结构基因的协同放大。

类黄酮通路可粗分为“早期结构基因”(如查尔酮合成酶、查尔酮异构酶、黄酮 3-羟化酶、黄酮醇合成酶等)与“晚期结构基因”(如二氢黄酮醇 4-还原酶、花色素合成酶/花色素双加氧酶、白花青素还原酶、花色素还原酶等),两类模块分别决定黄酮醇/黄酮等支路与花青素/原花青素支路的通量上限。MYB 转录因子家族在该网络中处于“配方设计器”的位置,既可单独调控特定结构基因,也可通过形成 MBW 复合体,实现对多个晚期结构基因的协同激活或抑制<sup>[47]</sup>。

以拟南芥为例,参与类黄酮调控的 MYB 多为 R2R3 型成员;同一亚群内部常存在明显组织分工。例如,AtMYB11/AtMYB12/AtMYB111 可结合启动子中的 AC 富集元件,激活黄酮醇合成相关早期结构基因,决定幼苗不同组织中黄酮醇的累积格局;AtMYB21/AtMYB24/AtMYB57 偏向调控雄蕊中黄酮醇合成,并与花粉发育相关;AtMYB75/AtMYB90 等则与花青素积累更紧密,通过上调上游与分支节点基因推动色素通量。另有成员具有通过转录因子层级调控实现代谢分配优化特征,如 AtMYB112 可促进花青素合成,同时抑制黄酮醇分支,为工程上实现产物谱定向重分配提供了调控抓手<sup>[48]</sup>。

晚期结构基因的强激活通常依赖三元复合体的形成与稳定性:MYB 蛋白识别 MYB 结合位点(如 ACC(A/T)A(A/C) 等 AC 富集元件、(C/T)AAC-NG 等 AAC 元件,以及部分激素响应元件 TTGT-TA),而 bHLH 转录因子倾向结合启动子中的 G-box 元件(CACGTG),二者协同招募转录机器并放大表达输出<sup>[49]</sup>。这一层级也解释了为何很多材料在“过表达单一结构基因”时产量提升有限:如果晚期结构基因缺少复合体驱动,底物会被早期支路消耗或进入竞争通路,难以形成稳定的花青素/原花青素终产物积累。

负调控同样是高性价比的工程切入点。拟南芥中 R2R3-MYB 第 4 亚群(如 AtMYB3/AtMYB4/AtMYB7/AtMYB32)以及与其序列相近的 AtMYB6,可下调多类结构基因转录;R3 型小 MYB(如 AtMYBL2)则可通过竞争性结合 bHLH 转录因子,抑制三元复合体组装,从而压低晚期结构基因表达并限制花青素合成。工程上可通过敲除抑制因子、削弱其启动子活性或在特定发育阶段进行可逆抑制,实现解除负调控以提高代谢通量;但也需同步评估生长、抗逆与资源分配的代价,避免出现矮化、结实下降等副效应。

2) 基因组精准编辑以解除负调控节点:果实黄酮与花青素增产的两个代表性范例。

解除抑制性调控以提升果实黄酮含量:在番茄中,SISPL-CNR 作为潜在的抑制因子,可通过抑制转录因子 SIMYB12 的活性,间接限制黄酮合成相关基因表达。基因敲除 SISPL-CNR 后,可显著提高果皮中总黄酮含量及若干黄酮单体的积累<sup>[43]</sup>,提示“解除转录层级抑制”往往能在不大幅改动结构基因集合的前提下,快速抬升通量上限。

释放色素分支通量以促进花青素积累:以“紫色番茄”为例,R3 型 MYB 抑制因子 SIMYBATV 参与花青素途径的精细负调控。敲除 SIMYBATV 能显著提升果实花青素积累,并在部分遗传背景上获得更稳定的表型<sup>[42]</sup>。与拟南芥中 AtMYBL2 的“竞争抑制”机制相呼应,这类小 MYB 抑制子为色素性状改良与抗逆强化提供了更可控的靶点窗口。

3) 合成启动子(SynP)与可编程转录调控:基于 dCas9 的可编程转录激活(CRISPRa)。

复杂代谢通路重构常采用强启动子对多个结构基因进行堆叠表达,但容易引发表达失衡、代谢负担增加与副产物堆积。基于 dCas9 的转录激活体系(CRISPRa),允许在不改变基因编码序列的情况下,利用向导核糖核酸实现位点特异的上调,并可叠加组织/细胞类型特异性,从而更贴近通量需求与细胞稳态。

例如,GB\_SynP 系统<sup>[48]</sup>通过模块化启动子元件组合实现不同表达强度,并结合 dCas9 介导的转录激活模块,获得低背景且较可预测的表达输出,为植物中可编程转录调控元件的设计提供了工具基础。

在稳定转基因材料中,多重向导核糖核酸介导的 CRISPRa 可在特定细胞类型同步激活多种代谢酶基因,从而实现黄酮醇在目标细胞中的定向生成与积累<sup>[49]</sup>。总体来看,该策略无须额外引入大量外

源结构基因,即可对内源网络实施分级、可组合的多基因调控,便于并行优化;其局限性包括构建复杂度较高、不同遗传背景下激活效率与组织特异性存在波动,因此需要配套的表型评估、代谢组验证与遗传稳定性测试。

4) 植物底盘的模块化堆叠:以烟草重构地奥司明(Diosmin)合成途径为例。

异源植物底盘常用于快速验证路径、筛选酶源并进行组合优化。在本氏烟草(Nicotiana benthamiana)瞬时表达体系中,可按“骨架构建—羟化/甲基化—糖基化/鼠李糖基化”的模块化顺序逐步接入关键酶,筛选最优组合并实现目标产物累积;相关研究通过多载体堆叠最终实现地奥司明的合成<sup>[50]</sup>。

小结:植物体内代谢工程的核心优势在于区室化与天然修饰环境,使产物更接近天然构型。通过少量关键调控基因实现代谢通量显著提升,尤其适合与基因组编辑、可编程转录激活及模块化堆叠联用。面向应用,仍需把产量提升与生长适配放入同一评价框架,通过代谢通量分析、多组学证据与环境稳定性验证,形成可迁移、可复现的工程范式。

## 4.2 异源高效合成:酵母与微生物细胞工厂

微生物细胞工厂的基本思路,是把植物类黄酮途径按“前体供给—骨架生成—骨架修饰—产物转运/储存”拆成若干功能模块,再在同一底盘细胞内进行模块化重构与通量分配。大肠杆菌与酿酒酵母是最常用的两类底盘:前者生长快、遗传操作简便,适合表达多数可溶性酶并快速迭代通路组合;后者具有内质网等膜结构,能够更稳定地表达 P450 等膜结合酶,因此在羟化、甲基化等后修饰步骤上往往更具优势。不同底盘对辅因子供给、亚细胞定位与产物外排能力的差异,会直接拉开同一路径在产率与稳定性上的表现<sup>[51]</sup>。

微生物通路工程常采用模块化重构策略,通常先实现“骨架合成”模块的稳定产出,再逐步接入羟化、甲基化和糖基化等末端修饰步骤。常见限制因素包括前体不足、辅因子再生受限、中间体毒性以及副产物流分流等。辅因子供给不足会降低反应速率,而中间体堆积可能引发细胞毒性并促使碳流向副产物。因此,通路优化往往需要在前体供给、辅因子平衡与竞争支路控制等方面协同改造,而非仅提高单一酶的表达<sup>[51-53]</sup>。

动态调控策略常用于实现通路的自适应平衡。例如,已构建针对对香豆酰辅酶 A 的生物传感器,可将细胞内底物水平转化为转录输出,从而将通路

维持在可运行的代谢区间<sup>[54]</sup>。在此基础上, Moreno-Paz 等<sup>[55]</sup>将机器学习引入“设计—构建—测试—学习”的闭环优化流程,两轮迭代后将对香豆酸滴度提升至  $0.52 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,并将产率提高至  $0.03 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ (以葡萄糖计)。面向下游类黄酮产物, Koopman 等<sup>[52]</sup>在酿酒酵母中实现了由葡萄糖直接合成(2S)-柚皮素:摇瓶条件下约  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,反应器放大后可超过  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[52]</sup>。Rodriguez 等<sup>[53]</sup>构建了可从葡萄糖直接发酵合成黄酮醇的酿酒酵母细胞工厂,在不添加外源中间体条件下实现了山柰酚( $26.57 \pm 2.66 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、槲皮素( $20.38 \pm 2.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的产量,达到几十  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平。

### 4.3 面向应用的未来突破口

面向应用转化,单纯依赖“堆基因—看产量”的试错往往效率低且不可复用。更可行的路径,是把候选酶、通量瓶颈和发酵表型纳入同一套迭代闭环里。并且要补齐关键未知酶,尤其是糖基转移酶、酰基转移酶与 P450。上述酶会直接影响末端修饰与产物谱的差异<sup>[56]</sup>。需要把细胞器分隔和多酶通道化的设计落到可测的指标上,例如中间体积聚、能量消耗与副产物比例。在数据层面可以借助机器学习做候选筛选和参数优化,但仍要用实验去确认模型的边界<sup>[49]</sup>。在微生物体系里往往还要配合动态调控、转运工程与工艺优化,才能把“高产”变成“稳定高产”<sup>[51,54-55]</sup>。

## 5 小结与展望

本文系统梳理了植物类黄酮生物合成途径的关键酶、分支节点及多层级调控网络,结合微生物与植物底盘代谢工程的研究进展,提出了一个整体整合框架。在该框架下,限速酶和分支节点的作用被明确为代谢通量分配的核心,而不同底盘平台的异源表达策略提供了实现高效合成的工程途径。通过结合空间转录组和代谢组数据,以及可编程基因调控工具,可实现对关键基因及代谢通量的精确控制,为优化产物积累提供实验依据。整体而言,本综述不仅总结了已有研究成果,还提出了从代谢节点分析、跨平台整合到多组学辅助的研究思路,为未来类黄酮高产、可预测的代谢工程研究及作物品质改良提供了可操作的学术路线图。

### 参考文献(References)

[ 1 ] HU L, LUO Y, YANG J, et al. Botanical flavonoids: Efficacy, absorption, metabolism and advanced pharmaceutical technology for improving bioavailability [ J ].

*Molecules*, 2025, 30(5):1184–1192.

- [ 2 ] KU Y S, NG M S, CHENG S S, et al. Understanding the composition, biosynthesis, accumulation and transport of flavonoids in crops for the promotion of crops as healthy sources of flavonoids for human consumption [ J ]. *Nutrients*, 2020, 12(6):1717–1723.
- [ 3 ] CHEN S, WANG X, CHENG Y, et al. A Review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids [ J ]. *Molecules*, 2023, 28(13):4982–4991.
- [ 4 ] DARYANAVARD H, POSTIGLIONE A E, MUHLEMANN J K, et al. Flavonols modulate plant development, signaling, and stress responses [ J ]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2023(72):102350.
- [ 5 ] ABAD-GARCIA B, GARMON-LOBATO S, BERRUETA L A, et al. New features on the fragmentation and differentiation of C-glycosidic flavone isomers by positive electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry [ J ]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, 22(12):1834–1842.
- [ 6 ] CUYCKENS F, CLAEYS M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids [ J ]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2004, 39(1):1–15.
- [ 7 ] KACHLICKI P, PIASECKA A, STOBIECKI M, et al. Structural characterization of flavonoid glycoconjugates and their derivatives with mass spectrometric techniques [ J ]. *Molecules*, 2016, 21(11):1494–1498.
- [ 8 ] DIAS M C, PINTO D, SILVA A M S. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity [ J ]. *Molecules*, 2021, 26(17):5377–5383.
- [ 9 ] TEALE W D, PASTERNAK T, DAL BOSCO C, et al. Flavonol-mediated stabilization of PIN efflux complexes regulates polar auxin transport [ J ]. *The EMBO Journal*, 2021, 40(1):e104416–104420.
- [ 10 ] AKHTAR M T, NOOR M, LIN X, et al. Flavonoids in plant salt stress responses: Biosynthesis, regulation, functions, and signaling networks [ J ]. *Plants*, 2026, 15(1):171–180.
- [ 11 ] BHARATH P, GAHIR S, RAGHAVENDRA A S. Abscisic acid-induced stomatal closure: An important component of plant defense against abiotic and biotic stress [ J ]. *Frontiers in Plant Science*, 2021(12):615114.
- [ 12 ] YU W, GONG F, XU H, et al. Molecular mechanism of exogenous ABA to enhance UV-B resistance in rhododendron chrysanthum pall by modulating flavonoid accumulation [ J ]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(10):5248–5257.
- [ 13 ] 胡海涛,吕小妹.微生物细胞工厂合成植物类黄酮:

- 关键酶挖掘及异源生物合成[J]. 食品科学, 2025, 46(13):1-17.
- HU H T, LYU X M. Production of plant flavonoids in microbial cell factories: Key enzyme mining and heterologous biosynthesis[J]. Food Science, 2025, 46(13):1-17.
- [14] ARAVENA-CALVO J, BUSCK-MELLOR S, LAURSEN T. Global organization of phenylpropanoid and anthocyanin pathways revealed by proximity labeling of trans-cinnamic acid 4-hydroxylase in *Petunia inflata* petal protoplasts [J]. Frontiers in Plant Science, 2024 (15):1295750.
- [15] VAN BEIRS C, EL HOUARI I, VANHOLME B. Nature's laboratory: Plant metabolic engineering methods using phenylpropanoids as a case study[J]. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 2025, 18(1):81-90.
- [16] KARIMZADEGAN V, KOIRALA M, SOBHANVERDI S, et al. Characterization of cinnamate 4-hydroxylase (CYP73A) and p-coumaroyl 3'-hydroxylase (CYP98A) from *Leucojum aestivum*, a source of Amaryllidaceae alkaloids [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2024(210):108612.
- [17] ZHANG B, LEWIS K M, ABRIL A, et al. Structure and function of the cytochrome P450 monooxygenase cinnamate 4-hydroxylase from *Sorghum bicolor*[J]. Plant Physiology, 2020, 183(3):957-973.
- [18] LI Y, KIM J I, PYSH L, et al. Four isoforms of arabidopsis 4-Coumarate: CoA ligase have overlapping yet distinct roles in phenylpropanoid metabolism[J]. Plant Physiology, 2015, 169(4):2409-2421.
- [19] ZHANG C, ZANG Y, LIU P, et al. Characterization, functional analysis and application of 4-Coumarate: CoA ligase genes from *Populus trichocarpa*[J]. Journal of Biotechnology, 2019(302):92-100.
- [20] XIE Z, YANG L, FAN M, et al. Genome-wide identification, characterization and expression analysis of the chalcone synthase gene family in Chinese cabbage[J]. BMC Genomics, 2025, 26(1):168-173.
- [21] WAKI T, MAMEDA R, NAKANO T, et al. A conserved strategy of chalcone isomerase-like protein to rectify promiscuous chalcone synthase specificity [J]. Nature Communications, 2020, 11(1):870-877.
- [22] LEWIS J A, ZHANG B, HARZA R, et al. Structural similarities and overlapping activities among dihydroflavonol 4-Reductase, Flavanone 4-Reductase, and anthocyanidin reductase offer metabolic flexibility in the flavonoid pathway[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(18):13901-13907.
- [23] ZHU X, MI Y, MENG X, et al. Genome-wide identification of key enzyme-encoding genes and the catalytic roles of two 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase involved in flavonoid biosynthesis in *Cannabis sativa* L [J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1):215-232.
- [24] WANG J, LIAO N, LIU G, et al. Diversity and regioselectivity of O-methyltransferases catalyzing the formation of O-methylated flavonoids[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2024, 44(6):1203-1225.
- [25] WANG Z L, WANG H T, CHANG G, et al. Elucidation of the biosynthetic pathway of hydroxysafflor yellow A[J]. Nature Communications, 2025, 16(1):4489.
- [26] BULANOV A N, ANDREEVA E A, TSVETKOVA N V, et al. Regulation of flavonoid biosynthesis by the MYB-bHLH-WDR (MBW) complex in plants and its specific features in cereals[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(2):734-742.
- [27] DING L, CHEN X, WANG X, et al. ODR1, the key seed dormancy and germination regulator, promotes seed Proanthocyanidin biosynthesis via interaction with TTG1 and modulation of MBW complex activity[J]. The Plant Journal, 2025, 123(4):e70434.
- [28] XU P, WU L, CAO M, et al. Identification of MBW Complex Components Implicated in the Biosynthesis of Flavonoids in Woodland Strawberry [J]. Frontiers in Plant Science, 2021(12):774943.
- [29] KHAN I A, CAO K, GUO J, et al. Identification of key gene networks controlling anthocyanin biosynthesis in peach flower[J]. Plant Science, 2022(316):111151.
- [30] WANG Z, SONG G, ZHANG F, et al. Functional characterization of AP2/ERF transcription factors during flower development and anthocyanin biosynthesis related candidate genes in lycoris[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(19):14464.
- [31] FENG L, TENG F, LI N, et al. A reference-grade genome of the xerophyte *Ammopiptanthus mongolicus* sheds light on its evolution history in legumes and drought-tolerance mechanisms [J]. Plant Communications, 2024, 5(7):100891.
- [32] GENG P, ZHANG S, LIU J, et al. MYB20, MYB42, MYB43, and MYB85 regulate phenylalanine and lignin biosynthesis during secondary cell wall formation [J]. Plant Physiology, 2020, 182(3):1272-1283.
- [33] KIM M H, CHO J S, BAE E K, et al. PtrMYB120 functions as a positive regulator of both anthocyanin and lignin biosynthetic pathway in a hybrid poplar[J]. Tree Physiology, 2021, 41(12):2409-2423.
- [34] GOU J Y, FELIPPES F F, LIU C J, et al. Negative

- regulation of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis by a miR156-targeted SPL transcription factor[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(4):1512-1522.
- [35] MOISON M, PACHECO J M, LUCERO L, et al. The lncRNA APOLO interacts with the transcription factor WRKY42 to trigger root hair cell expansion in response to cold[J]. *Molecular Plant*, 2021, 14(6):937-948.
- [36] WU G, PARK M Y, CONWAY S R, et al. The sequential action of miR156 and miR172 regulates developmental timing in Arabidopsis[J]. *Cell*, 2009, 138(4):750-759.
- [37] GALLEGO-BARTOLOMÉ J, GARDINER J, LIU W, et al. Targeted DNA demethylation of the Arabidopsis genome using the human TET1 catalytic domain[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(9):E2125-E2134.
- [38] SUN X, ZHANG Z, CHEN C, et al. The C-S-A gene system regulates hull pigmentation and reveals evolution of anthocyanin biosynthesis pathway in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(7):1485-1498.
- [39] GHOSHAL B, PICARD C L, VONG B, et al. CRISPR-based targeting of DNA methylation in Arabidopsis thaliana by a bacterial CG-specific DNA methyltransferase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(23):e2125016118.
- [40] HILTON I B, D'IPPOLITO A M, VOCKLEY C M, et al. Epigenome editing by a CRISPR-Cas9-based acetyltransferase activates genes from promoters and enhancers[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(5):510-517.
- [41] LI X, BU F, ZHANG M, et al. Enhancing nature's palette through the epigenetic breeding of flower color in chrysanthemum[J]. *New Phytologist*, 2025, 245(5):2117-2132.
- [42] YAN S, CHEN N, HUANG Z, et al. Anthocyanin Fruit encodes an R2R3-MYB transcription factor, SIAN2-like, activating the transcription of SIMYBATV to fine-tune anthocyanin content in tomato fruit[J]. *New Phytologist*, 2020, 225(5):2048-2063.
- [43] ZHOU L, SUN Z, HU T, et al. Increasing flavonoid contents of tomato fruits through disruption of the SISPL-CNR, a suppressor of SIMYB12 transcription activity[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22(2):290-292.
- [44] QIAN C, CHEN Z, LIU Q, et al. Coordinated Transcriptional Regulation by the UV-B Photoreceptor and Multiple Transcription Factors for Plant UV-B Responses[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(5):777-792.
- [45] YANG J, ZHANG Y, JIA J, et al. Flavonoid-lignin crosstalk: Engineering metabolic flux for optimised plant growth and stress resilience[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2025, 48(11):8141-8160.
- [46] ZHU S, FU R, MARTIN C, et al. Recent advances in biosynthesis, regulation, and metabolic engineering of flavonoids[J]. *Plant Physiology*, 2025, 199(1):356.
- [47] MAO Y, LUO J, CAI Z. Biosynthesis and regulatory mechanisms of plant flavonoids: A review[J]. *Plants*, 2025, 14(12):1847.
- [48] MORENO-GIMENEZ E, SELMA S, CALVACHE C, et al. GB\_SynP: A modular dcas9-regulated synthetic promoter collection for fine-tuned recombinant gene expression in plants[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(9):3037-3048.
- [49] HOUBAERT A, DENERVAUD TENDON V, HOERMAYER L, et al. Efficient, cell-type-specific production of flavonols by multiplexed CRISPR activation of a suite of metabolic enzymes[J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1):6559.
- [50] LEE H, PARK S, LEE S B, et al. Tailored biosynthesis of diosmin through reconstitution of the flavonoid pathway in *Nicotiana benthamiana*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024(15):1464877.
- [51] LI H, LYV Y, ZHOU S, et al. Microbial cell factories for the production of flavonoids-barriers and opportunities[J]. *Bioresource Technology*, 2022(360):127538.
- [52] KOOPMAN F, BEEKWILDER J, CRIMI B, et al. De novo production of the flavonoid naringenin in engineered *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2012(11):155-162.
- [53] RODRIGUEZ A, STRUCKO T, STAHLHUT S G, et al. Metabolic engineering of yeast for fermentative production of flavonoids[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245(Pt B):1645-1654.
- [54] LIU D, SICA M S, MAO J, et al. A p-Coumaroyl-CoA biosensor for dynamic regulation of naringenin biosynthesis in *saccharomyces cerevisiae*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(10):3228-3238.
- [55] MORENO-PAZ S, VAN DER HOEK R, ELIANA E, et al. Machine learning-guided optimization of p-coumaric acid production in yeast[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2024, 13(4):1312-1322.
- [56] WANG Y, CHEN J, HE G, et al. Unlocking the potential of flavonoid biosynthesis through integrated metabolic engineering[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2025(16):1597007.