

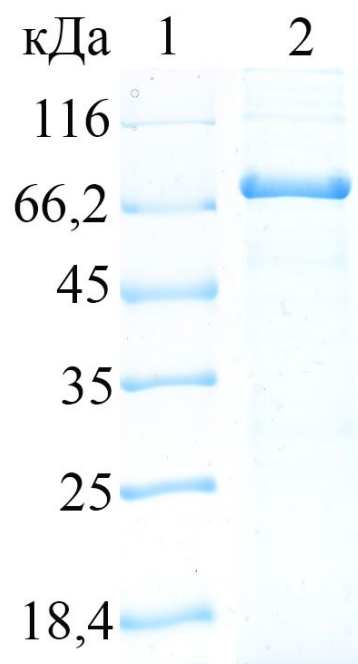


Рис. П1. Результат электрофоретического разделения фракции, содержащей фермент CYP74B34, после металлоаффинной хроматографии. 1 – Маркер молекулярной массы SDS-PAGE standards Low Range Protein Ladder («Bio-Rad», США); 2 – очищенный методом металлоаффинной хроматографии фермент CYP74B34

·M·S·A·S·D·K·T·P·R·L·P·G·Q·L·P·V·R·T·I·P·G·S·Y·G·W·P·V·W·G·P·F·V·D·R·L·D·Y·F·W·F·
 atgtcagctagcgataaaaacaccgagctgccaggtcagctgccgtccgtacaattcccgagctacgggtggcgggtgtgggggccatttgtggaccgtttagactatttctgggtc
 ·E·G·A·D·T·F·F·R·K·R·M·D·K·N·K·S·S·V·F·R·T·N·I·P·P·A·F·P·F·F·T·S·I·N·P·N·I·I·A·V·
 gaggagctgacacatttttaggaagaggtggacaagaacagagcagcgtgtttcgaaccaatattcctccgcattcccggttttccacctctattaatccgaatataattgctgtg
 F/L toggle
 ·L·D·V·K·S·F·S·H·L·F·D·M·E·L·V·E·K·K·D·V·L·A·G·D·Y·M·P·S·T·S·L·T·G·D·I·R·T·C·I·Y·
 cttgatgtgaaatcggttctcgactgtttgatatggagcttgtggagaagaagacgtactcggccggagattacatgccgagtagcagctgtgacgggagatatacgtagctgtatata
 ·L·D·T·T·E·P·R·H·A·Q·L·K·N·Y·I·L·D·I·L·K·R·S·R·R·T·W·I·P·S·L·T·A·N·L·D·T·M·W·N·S·
 cttgatactactgagcccgacatgctcagctgaagaactacattctagacatcctaaaaacggagcagaaggacatggatccccagctctcaccgcaaaccctagacacatgtggaactcc
 ·I·D·S·D·I·S·K·S·K·S·G·D·T·A·F·D·V·P·L·K·K·F·L·F·S·F·L·A·R·A·L·T·G·A·D·S·S·K·S·P·
 atcgactccgacatctcgaaatcaaaatccggcgacacggccttcgacgtgcccttaaaaaagtctccttcagcttcctagctcgagccctaaccggagccgactcatcaaatcacct
 ·E·I·S·E·K·G·Y·S·W·L·E·R·W·L·L·I·Q·L·V·P·T·I·K·L·G·L·C·Q·P·F·E·E·I·F·L·H·S·F·V·Y·
 gaaatatccgaaaaggatactcctggctcgaacgctggctcctcatccaactcgtccccaccatcaagctcggcctctgtcagcccttcgaagaaatcttctcactcgttcgtctac
 ·P·S·F·L·V·T·G·G·Y·D·K·V·A·E·F·V·K·K·E·G·S·E·V·L·N·R·G·T·T·E·F·G·L·S·A·Q·D·S·L·H·
 cctctcttctcgtcactggcggtctacgacaaagtcgctgagtttgttaaaaaagaaggctcggaagtgtgaaccggcgacgactgagttcggactcagtgacagaggactcgttcat
 1 2 3 4 5 6
 ·N·L·M·Y·V·L·G·F·N·A·F·G·G·L·L·A·F·L·P·T·I·L·K·I·L·G·N·D·K·T·G·L·Q·E·K·L·A·K·E·V·
 aacctcatgtatgtctagggtttaacgcattcggcgactcctagcttttctccccacgattttaaaattctcgaaacgacaaaacagggttcaggagaaacttcggaagaagta
 ·R·D·T·C·K·A·D·S·L·S·F·D·S·V·T·Q·L·D·L·V·N·S·F·V·F·E·A·L·R·L·N·P·P·V·P·L·Q·F·A·R·
 agagatacatgcaaggccgactcactgagtttcgactcggtgacgcaactcgacctgggtcaactcgttcgtcttcgaaagctctccgggtcaacccgccgttcctctcagtttcgctagg
 ·A·R·K·D·F·T·L·S·S·H·D·S·G·F·E·V·K·K·G·E·V·L·C·G·Y·Q·P·L·V·M·R·D·G·N·V·F·D·E·P·E·
 gcgagaaaggattttactactgagtttcgcatgactcgggatttgaagtgaagaaaggggaggtgctctgtgggtaccagcctctcgtaatgagagatgggaacgtgtttgatgaaccggag
 ·K·F·V·A·D·R·F·T·K·D·K·G·T·E·L·L·S·Y·V·F·W·S·N·G·S·Q·T·G·S·P·S·A·D·N·K·Q·C·P·A·K·
 aagtttgttcggatcgggttttacgaaagacaaggggaccgagttactgagttacgtgttctgtggtcgaacgggtcacagaccgggtcaccgagtgcggtataacaagcagtggtctgcgaaa
 ·D·Y·V·P·V·T·A·A·L·F·V·A·H·L·F·Q·R·Y·D·S·I·T·L·D·S·S·G·S·K·I·T·A·L·E·K·A·K·H·A·*·
 gattatgtgcctgtgacggcggtcttgttcgtggctcatttgtttcagaggtatgattcgatcacgcttgactcttctgggtcaaagatcacagcactcgaaaaggctaagcatgcataa

Рис. П2. Нуклеотидные и выведенная аминокислотная последовательности *Daucus carota* CYP74B34. Серым цветом обозначен сайт «F/L toggle»; черным цветом выделен участок перегиба I-спирали с цифровым обозначением 1–6; ERR-триада и цистеин в гем-связывающем домене обозначены треугольником и кругом соответственно

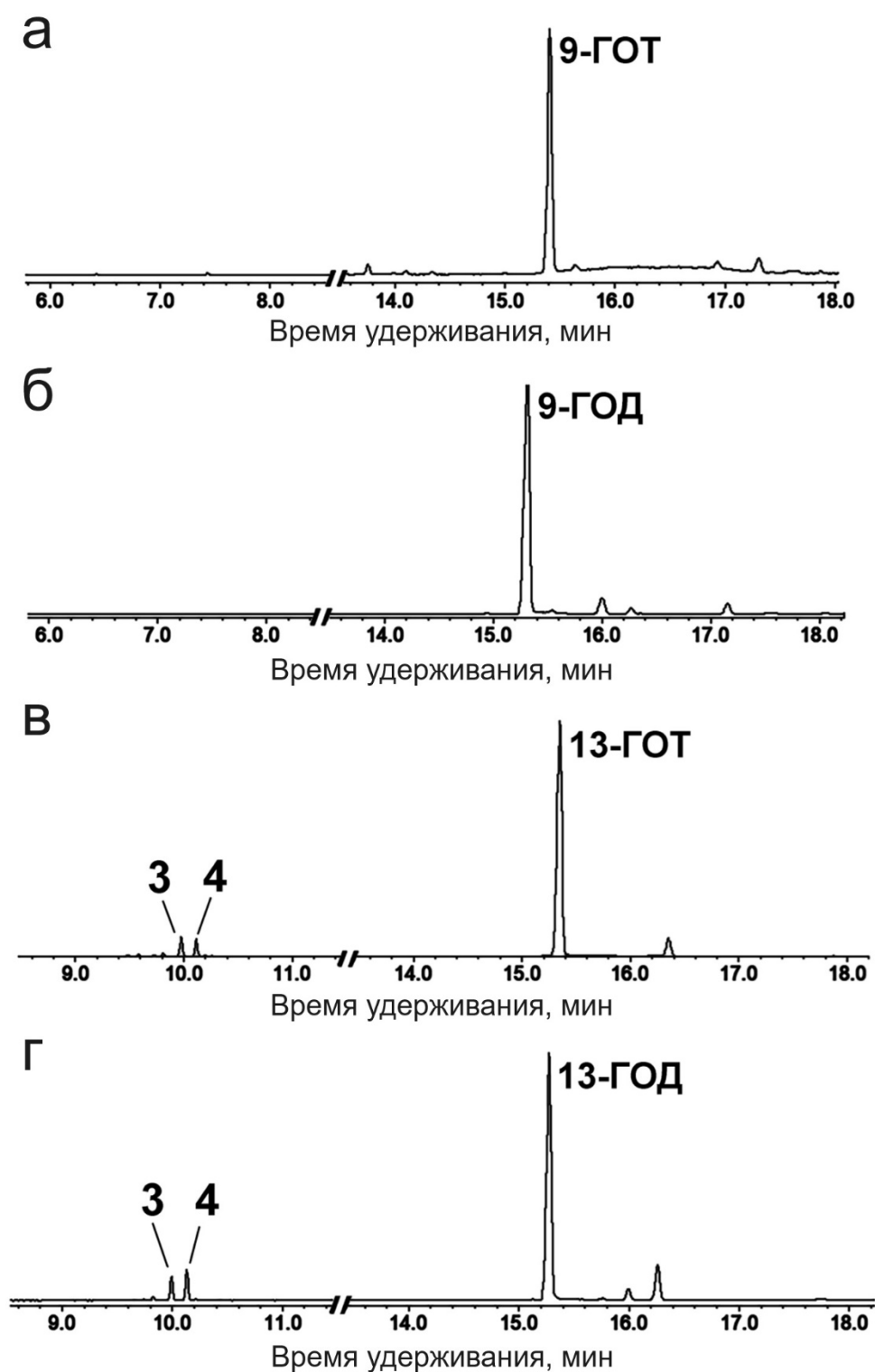


Рис. ПЗ. Хроматограммы полного ионного тока продуктов (Me/TMS после восстановления с помощью NaBH_4) превращения 9-ГППОТ (а), 9-ГПОД (б), 13-ГПОД (в) и 13-ГППОТ (г) при участии мутантной формы CYP74B33_A367P. 9-ГОД – (9*S*,10*E*,12*Z*)-9-гидрокси-10,12-октадекадиеновая кислота; 9-ГОТ – (9*S*,10*E*,12*Z*,15*Z*)-9-гидрокси-10,12,15-октадекатриеновая кислота; 13-ГОД – (9*Z*,11*E*,13*S*)-13-гидрокси-9,11-октадекадиеновая кислота; 13-ГОТ – (9*Z*,11*E*,13*S*,15*Z*)-13-гидрокси-9,11,15-октадекатриеновая кислота;

соединения **3** и **4** – (9*Z*)-12-гидрокси-9-додеценовая и (10*E*)-12-гидрокси-10-додеценовая
кислоты соответственно