

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ỨC CHẾ DỊCH MÃ CYCLOHEXIMIDE ĐẾN SỰ BIỂU HIỆN CỦA GEN *AtZAT12* VÀ GEN *AtFIT* TRÊN *ARABIDOPSIS*

Lê Thị Tuyết Châm*, Vũ Thị Thúy Hằng

Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: lttcham@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 18.10.2022

Ngày chấp nhận đăng: 27.01.2023

TÓM TẮT

Sắt là nguyên tố vi lượng đóng vai trò quan trọng vì tham gia vào các phản ứng oxy hóa khử diễn ra trong cây. Quá trình hấp thụ Fe được điều hòa chặt chẽ để đáp ứng nhu cầu của cây và được kiểm soát bởi yếu tố phiên mã FER-like iron deficiency-induced transcription factor (*FIT*). *FIT* sẽ tăng biểu hiện khi thiếu Fe nhưng sẽ giảm trong điều kiện đủ Fe. Tuy nhiên khi xử lý với Cycloheximide (CHX) thì sự biểu hiện này của *FIT* tăng cao trong điều kiện đủ Fe. Nghiên cứu này nhằm đánh giá liệu Zinc finger of *Arabidopsis thaliana* 12 (*ZAT12*), một yếu tố ức chế của *FIT* có liên quan đến sự tăng cao của *FIT* hay không trong điều kiện đủ Fe và có xử lý CHX. Thí nghiệm đã đánh giá sự biểu hiện của *FIT* và *ZAT12* sau khi xử lý với CHX ở hai thời điểm kết thúc xử lý và sau khi xử lý 4 giờ. Kết quả cho thấy sự biểu hiện của *AtFIT* và *AtZAT12* tăng cao trên *Arabidopsis* Col-0 và *zat12-3* trong điều kiện đủ Fe 10 ngày và có xử lý CHX. Như vậy, khi không có protein *ZAT12* do đột biến hay do CHX thì sự biểu hiện *AtFIT* đều tăng lên. Nghiên cứu này cung cấp cách thức gỡ bỏ quá trình ức chế *FIT* trong điều kiện cây sinh trưởng trong môi trường đủ Fe.

Từ khóa: Biểu hiện gen, Cycloheximide (CHX), gen *FIT*, thiếu Fe, gen *ZAT12*

The effect of the Translation Inhibitor Cycloheximide on the Expression of *AtZAT12* and *AtFIT* Genes in *Arabidopsis*

ABSTRACT

Iron (Fe) is a microelement that plays an important role because it participates in redox reactions in plants. Fe uptake is tightly regulated to meet plant needs and is controlled by the transcription factor Fer-like iron deficiency-induced transcription factor (*FIT*). *FIT* expression increases in Fe deficiency but decreases in Fe deficient condition. However, when treated with Cycloheximide (CHX), this expression of *FIT* increased under Fe-sufficient conditions. This study aimed to evaluate whether *ZAT12*, an inhibitor of *FIT*, is associated with an elevation of *FIT* expression under conditions of Fe sufficiency and CHX treatment. The experiment evaluated the expression of *FIT* and *ZAT12* after treatment with CHX at the end of treatment and 4 hours after treatment. The results showed that the expression of *AtFIT* and *AtZAT12* was elevated on *Arabidopsis* Col-0 and *zat12-3* grown under Fe sufficient conditions for 10 days and CHX treatment. Thus, in the absence of *ZAT12* protein, either by mutations or by CHX translation inhibitors, *AtFIT* expression was increased. This study provides a way to remove *FIT* inhibition when plants grown in sufficient Fe condition.

Keywords: Gene expression, Cycloheximide (CHX), Fe deficiency, *AtFIT* gene, *AtZAT12* gene.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sắt (Fe) là một nguyên tố thiết yếu trong thực vật vì nó tham gia vào các phản ứng oxy hóa khử chính. Sự hấp thụ Fe ở cây *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) và các cây theo cơ chế I

khác đòi hỏi quá trình vận chuyển proton tích cực để hòa tan Fe trong đất, quá trình khử Fe^{3+} thành Fe^{2+} bởi FRO2 (ferric reductase - oxidase 2) và sau đó Fe^{2+} được chuyển vào trong biểu bì rễ tế bào bởi kênh vận chuyển kim loại IRT1 (Brumbarova & cs., 2015; Jeong & cs., 2017). Việc

thực hiện cơ chế này trong điều kiện thiếu Fe đòi hỏi yếu tố phiên mã cơ bản là FIT (Colangelo & Guerinet, 2004; Jakoby & cs., 2004).

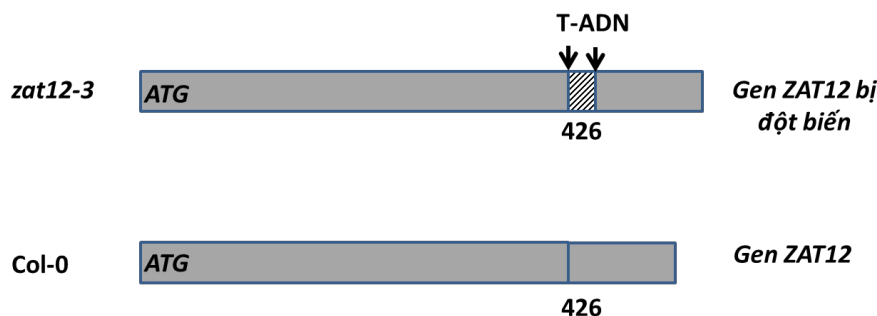
Yếu tố phiên mã FIT đóng vai trò trung tâm trong việc điều hòa biểu hiện các gen liên quan đến việc hấp thu Fe ở rễ (Bauer & cs., 2004; Colangelo & Guerinet, 2004; Jakoby & cs., 2004; Yuan & cs., 2005; Ivanov & cs., 2012). Trong số các gen mục tiêu của FIT có các gen FRO2 (mã hóa FERRIC REDUCTASE-OXIDASE2) và IRT1 (chất vận chuyển ion kim loại hóa trị hai IRONREGULATED TRANSPORTER1), có chức năng khử Fe^{3+} và hấp thụ Fe^{2+} từ đất (Robinson & cs., 1999; Vert & cs., 2002; Bauer & cs., 2004). Khi cây bị đột biến tại gen *AtFIT* không thể hấp thụ Fe, lá của cây đột biến sẽ chuyển vàng do không có diệp lục gây chết cây (Bauer & cs., 2004; Colangelo & Guerinet, 2004; Jakoby & cs., 2004; Yuan & cs., 2005). FIT cũng là trung tâm đầu vào của nhiều con đường tín hiệu. Hoạt động của FIT được điều hòa bởi sự thiếu hụt Fe (Colangelo & Guerinet, 2004; Jakoby & cs., 2004) hoặc phản ứng với ethylene (García & cs., 2011; Lingam & cs., 2011) và oxit nitric (NO) (Chen & cs., 2010; Meiser & cs., 2011) và hoạt động này giảm bởi cytokinin (Séguéla & cs., 2008) và axit jasmonic (Maurer & cs., 2011; Brumbarova & cs., 2015). Mối liên kết giữa FIT và các con đường tín hiệu đa dạng cho phép thực vật điều chỉnh hấp thụ Fe để thích ứng với các điều kiện môi trường thay đổi. Tuy nhiên, Meiser & cs. (2011) đã chỉ ra sự tăng lên của phiên mã gen *AtFIT* trong điều kiện đủ Fe khi xử lý với CHX mà bình thường chúng sẽ bị ức chế không biểu hiện.

Thêm vào đó, trong các nghiên cứu trước của Le & cs. (2016) đã cho thấy cả ROS và ZAT12 cùng tham gia ức chế sự biểu hiện của *AtFIT*. Đặc biệt trong điều kiện thiếu Fe kéo dài 10 ngày đã làm sự phiên mã của *ZAT12* tăng cao, trong khi đó sự phiên mã của *FIT* lại giảm đi rõ rệt (Le & cs., 2015). Thêm vào đó, FIT tương tác với ZAT12 thông qua motif *EAR*, đây là motif có chức năng ức chế biểu hiện gen. Để nghiên cứu thêm về cơ chế phản ứng sớm ngay lập tức của FIT và ZAT12 và để kiểm tra xem liệu nó có xảy ra mà không cần tổng hợp protein de novo hay không, nghiên cứu này nhằm đánh giá sự biểu hiện của cả hai gen khi có sự hiện diện của chất ức chế tổng hợp protein CHX. Từ đó có thể kiểm tra liệu *AtZAT12* có ức chế sự biểu hiện của gen *AtFIT* như công bố trước đây. CHX là một chất ức chế dịch mã đã được Meiser & cs. (2011) áp dụng để xem mức độ biểu hiện của *AtFIT* trong cả hai điều kiện thiếu và đủ Fe. Thật ngạc nhiên là dưới tác dụng của CHX sau 4 giờ, sự biểu hiện của *AtFIT* tăng lên trong điều kiện đủ Fe. Trong nghiên cứu này đã đánh giá sự tác động của chất ức chế dịch mã CHX đến sự biểu hiện của *AtZAT12* và *AtFIT* trong hai thời điểm ngay sau khi kết thúc xử lý và sau xử lý 4 giờ.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Arabidopsis thaliana ecotype Columbia (Col-0) được sử dụng làm đối chứng và dòng đột biến mất chức năng *zat12-3* (GABI-kat348H06) được tạo ra do chèn đoạn T-ADN vào vị trí cách điểm khởi đầu dịch mã ATG là 426bp.



Hình 1. Minh họa của dòng đối chứng Col-0 (hình dưới) và dòng *Arabidopsis* đột biến mất chức năng *zat12-3* (hình trên)

2.2. Phương pháp xử lý với CHX

Thí nghiệm được thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên lặp lại ba lần. Mỗi lần lặp gồm 30 cây. Thí nghiệm gồm hai yếu tố thí nghiệm là: (1) xử lý CHX (bao gồm xử lý và không xử lý CHX trong 1 giờ - đối chứng) và (2) sinh trưởng trong điều kiện Fe khác nhau (thiếu Fe và điều kiện đủ Fe - 50µM FeEDTA - đối chứng).

Hạt của dòng đối chứng Col-0 và đột biến *zat12-3* được khử trùng trong dung dịch 50% hypoclorit trong 7 phút, được rửa sạch ba lần bằng nước cất khử trùng và được nảy mầm trên môi trường Hoagland tiêu chuẩn. Sau đó hạt được đặt trên đĩa nuôi cấy trong 10 ngày trong buồng sinh trưởng (22°C, 16 giờ chiếu sáng). Hạt được đặt trên đĩa môi trường Hoagland có bổ sung Fe (+Fe) làm đối chứng và không bổ sung Fe (-Fe) trong 10 ngày. Sau đó cây con 10 ngày tuổi sẽ được chuyển sang đĩa chứa môi trường Hoagland lỏng chứa 50mM CHX (Sigma-Aldrich; sử dụng dung dịch gốc 50mM hòa tan trong dimethyl sulfoxit) và ủ trong 1 giờ. Cây con sẽ được thu hoạch trực tiếp lần 1 ngay sau khi kết thúc xử lý (thời điểm 0 giờ) hoặc rễ được rửa sạch và chuyển sang môi trường Hoagland trong 4 giờ sau khi xử lý để thu mẫu lần 2 (thời điểm 4 giờ). Cây con được thu hoạch và giữ trong N₂ lỏng để cho thí nghiệm phân tích biểu hiện gen tiếp theo.

2.3. Phân tích biểu hiện gen *AtZAT12* và *AtFIT*

Phân tích biểu hiện gen được thực hiện bằng kỹ thuật Real-time PCR như đã mô tả trước đây (Klatte & Bauer, 2009). ARN tổng số được xử lý DNase sẽ dùng để tổng hợp cADN. Hệ thống

Real-time PCR dựa trên SYBR Green I được thực hiện bằng cách sử dụng ExTaq R-PCR (TaKaRa) trong hệ thống phát hiện My IQ (Bio-Rad). Mỗi phản ứng PCR được lặp lại ba lần (Klatte & Bauer, 2009). Đối với mỗi gen, hàm lượng tuyệt đối của bản phiên mã ban đầu được xác định bằng cách phân tích đường cong chuẩn dựa trên gen đối chứng. Dữ liệu biểu hiện tuyệt đối được chuẩn hóa dựa trên các giá trị biểu hiện trung bình của gen đối chứng *EF1BALPHA2*. Trình tự mỗi như trong bảng 1 và đã được công bố (Wang & cs. 2007; Le & cs. 2015).

2.4. Phân tích kết quả

Số liệu được xử lý T-test bằng phần mềm Excel và phân tích sự biểu hiện gen từ số liệu thu được từ phần mềm Bio-Rad iQ5.

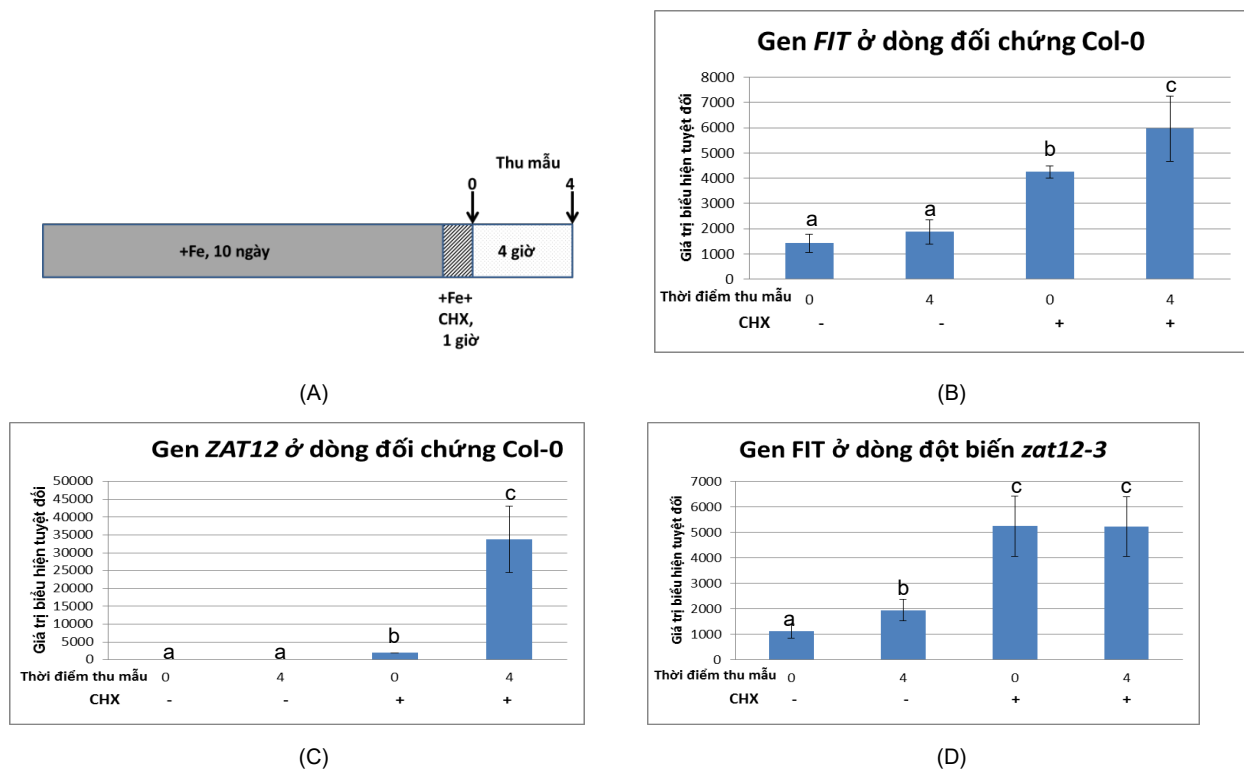
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự biểu hiện của gen *AtZAT12* và *AtFIT* sau khi xử lý CHX trong điều kiện đối chứng (+Fe)

Sự biểu hiện của hai gen *AtZAT12* và *AtFIT* được đánh giá trên cây *Arabidopsis* Col-0 và đột biến *zat12-3* được thể hiện trong hình 2. Trong điều kiện đủ Fe (+Fe) ở dòng *Arabidopsis* Col-0, gen *AtFIT* đã tăng sự biểu hiện sau khi xử lý CHX ở cả hai thời điểm là ngay khi dừng xử lý (0) và 4 giờ sau xử lý (Hình 2B). Trong đó tại thời điểm 4 giờ sau khi xử lý đã cho sự biểu hiện tăng lên so với khi kết thúc xử lý CHX. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả trước đó của Meiser & cs. (2011) cho thấy gen *FIT* tăng sự biểu hiện trong điều kiện đủ Fe đồng thời có xử lý CHX.

Bảng 1. Trình tự mỗi sử dụng trong phân tích biểu hiện gen *AtZAT12* và *AtFIT* bằng kỹ thuật Real-time PCR

Tên gen	Tên mỗi	Trình tự 5'-3'
<i>EF1B-alpha-g</i> (Q, gDNA)	AtEF-gen-3'(2726) AtEF-gen-5'(2522)	5' CCGGGACATATGGAGGTAAG 3' 5' TCCGAACAATACCAGAACTACG 3'
<i>EF1B-alpha</i> (Q, cDNA)	AtEF-c-5'(2125) AtEF-c-3'(2251)	5' ACTTGTTACAGTTGGTTATGGG 3' 5' CTGGATGTACTCGTTGTTAGGC 3'
<i>ZAT12</i> (Q)	ZAT12 Real-Time 5' ZAT12 Real-Time 3'	5' GAGTCACAAGAAGCCTAACACGA 3' 5' AAGCCACTCTCTCCCACTGCTA 3'
<i>FIT</i> (Q)	AtFRU-c-5'(1392) AtFRU-c-3'(1483)	5' GGAGAAGGTGTTGCTCCATC3' 5' TCCGGAGAAGGAGAGCTTAG3'



Ghi chú: Các chữ cái khác nhau biểu hiện sự sai khác của các giá trị ở mức ý nghĩa 0,05; (A) sơ đồ quá trình xử lý CHX và thu mẫu trong điều kiện đối chứng, sự biểu hiện gen *FIT* ở dòng đối chứng Col-0 (B), ở dòng đột biến *zat12-3* (D), sự biểu hiện gen *AtZAT12* ở dòng đối chứng Col-0 (C).

Hình 2. Ảnh hưởng của CHX đến sự biểu hiện của hai gen *AtFIT* và *AtZAT12* trên dòng Col-0 và dòng đột biến *zat12-3* sinh trưởng trong điều kiện đối chứng (+Fe)

Trong điều kiện đủ Fe (+Fe), ở dòng Arabisopsis đối chứng gen *AtZAT12* cũng tăng sự biểu hiện sau khi xử lý CHX ở cả hai thời điểm là ngay khi dừng xử lý (0) và 4 giờ sau xử lý (4) (Hình 2C). Trong đó tại thời điểm 4 giờ sau khi xử lý đã cho thấy sự biểu hiện tăng lên so với khi kết thúc xử lý CHX tương tự với sự biểu hiện của gen *AtFIT*.

Trong khi đó ở dòng dòng đột biến *zat12-3*, điều kiện +Fe có bổ sung CHX đều làm tăng sự biểu hiện của gen *AtFIT* (Hình 2D). Tuy nhiên sự tăng biểu hiện của *AtFIT* ở cả hai thời điểm ngay khi kết thúc xử lý và 4 giờ sau khi xử lý gần như không khác biệt. Như vậy khi không có sự biểu hiện của *AtZAT12* hay khi không có protein ZAT12 gen *AtFIT* tăng lên trong trường hợp không xử lý và thu mẫu lúc 4 giờ. Trong trường hợp xử lý với CHX ở thời điểm 0 và 4 giờ, việc ức chế dịch mã protein FIT và không có sản

phẩm protein ZAT12. Điều này dẫn đến không hình thành tương tác protein - protein giữa ZAT12 và FIT nên không ức chế biểu hiện gen *FIT* tăng lên.

Như vậy kết quả này có sự tương đồng với Meiser & cs. (2011) cho rằng sự biểu hiện của *AtFIT* bị giảm trong điều kiện +Fe là do chất ức chế và khi xử lý CHX thì chất ức chế như ZAT12 dường như bị tác động và khiến cho biểu hiện của *AtFIT* tăng lên ngay cả khi +Fe.

3.2. Sự biểu hiện của gen *AtZAT12* và *AtFIT* sau khi xử lý CHX trong điều kiện thiếu sắt (-Fe)

Ở dòng đối chứng Col-0 và trong điều kiện thiếu Fe 10 ngày, gen *AtFIT* đã tăng sự biểu hiện hơn so với điều kiện +Fe đối chứng và khi xử lý CHX ở thời điểm thu mẫu 0 (Hình 3B). Trong khi đó, CHX cũng làm tăng sự biểu hiện

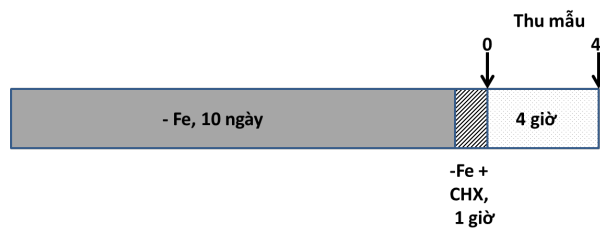
gen *AtFIT* rõ rệt hơn các điều kiện khác khi thu mẫu ở thời điểm 4 giờ sau xử lý. Ngược lại, sự biểu hiện của gen *AtZAT12* giảm xuống trong điều kiện thiếu sắt 10 ngày như đã thấy trong nghiên cứu trước của Le & cs. (2015). Sự biểu hiện của gen *AtZAT12* chỉ tăng khi xử lý CHX và tăng cao nhất sau khi xử lý 4 giờ theo cùng sự phiên mã tăng của gen *AtFIT* (Hình 3C). Như vậy biểu hiện của cả gen *AtFIT* và *AtZAT12* đều tăng cao tại thời điểm 4 giờ sau xử lý CHX. Đường như chất ức chế bị gỡ bỏ nên sự biểu hiện *AtFIT* tăng cao sau 4 giờ xử lý CHX.

Trong khi đó ở dòng đột biến *zat12-3*, sự biểu hiện của *AtFIT* tăng cao ở thời điểm 0, sau đó giảm xuống ở các điều kiện thí nghiệm khác (Hình 3D). Sự suy giảm này cũng xuất hiện ngay khi xử lý với CHX và thấp hơn cả biểu hiện gen *AtFIT* ở dòng *Arabidopsis Col-0* đối chứng.

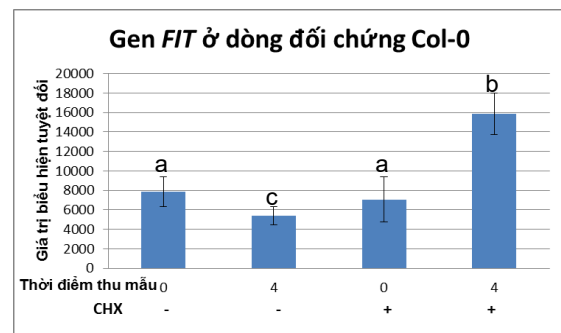
Chúng tôi có yếu tố ức chế khác bên cạnh sự ức chế của tương tác protein ZAT12 và FIT đã làm ức chế phiên mã *AtFIT* trong đột biến *zat12-3*. Như nghiên cứu trước của Le & cs. (2015) cho thấy ROS cũng là yếu tố ức chế sự biểu hiện của *AtFIT* và hàm lượng ROS tăng cao trong điều kiện thiếu Fe kéo dài (Le & cs., 2015)

4. KẾT LUẬN

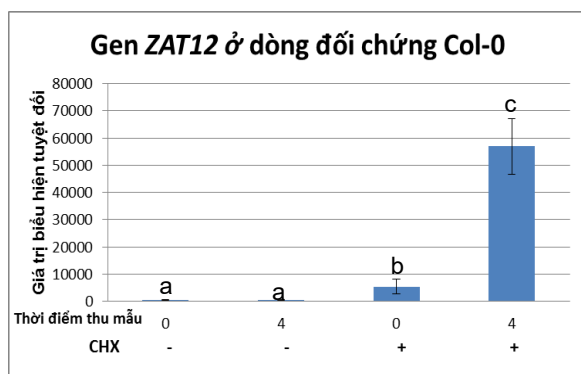
CHX đã làm tăng sự biểu hiện của gen *AtFIT* ngay cả trong điều kiện đủ Fe trên cây *Arabidopsis Col-0* và đột biến *zat12-3* mà bình thường nó vốn bị ức chế. Tuy nhiên, trong điều kiện thiếu Fe sự biểu hiện của gen *AtFIT* là bị ức chế khi xử lý CHX ở kiểu gen *zat12-3*. Như vậy trong điều kiện này ZAT12 không ức chế sự biểu hiện của FIT.



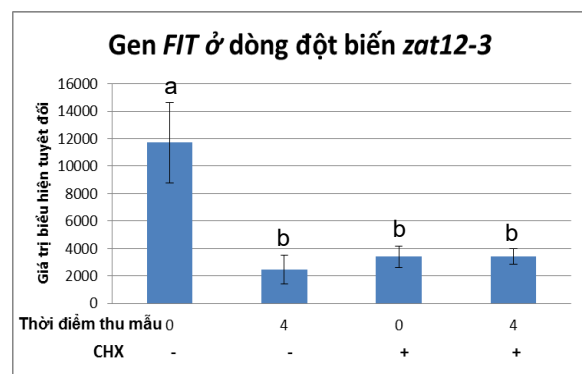
(A)



(B)



(C)



(D)

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau biểu hiện sự sai khác của các giá trị ở mức ý nghĩa 0,05; (A) sơ đồ quá trình xử lý CHX và thu mẫu, sự biểu hiện gen *AtFIT* ở dòng đối chứng *Col-0* (B), ở dòng đột biến *zat12-3* (D), sự biểu hiện gen *AtZAT12* ở dòng *Arabidopsis* đối chứng *Col-0* (C).

Hình 3. Ảnh hưởng của CHX đến sự biểu hiện của hai gen *AtFIT* và *AtZAT12* trên dòng *Col-0* và dòng đột biến *zat12-3* sinh trưởng trong điều kiện thiếu Fe (-Fe)

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn GS.TS. Petra Bauer và các thành viên của Phòng Thí nghiệm Thực vật, Trường Đại học Tổng hợp Saarland, Cộng hòa liên bang Đức, đã tạo điều kiện giúp chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bauer P., Thiel T., Klatte M., Berczky Z., Brumbarova T., Hell R. & Grosse I. (2004). Analysis of sequence, map position, and gene expression reveals conserved essential genes for iron uptake in *Arabidopsis* and tomato. *Plant Physiology*. 136: 4169-4183.
- Brumbarova T., Bauer P. & Ivanov R. (2015). Molecular mechanisms governing *Arabidopsis* iron uptake. *Trends in Plant Science*. 20: 124-133.
- Chen W.W., Yang J.L., Qin C., Jin C.W., Mo J.H., Ye T. & Zheng S.J. (2010). Nitric oxide acts downstream of auxin to trigger root ferric-chelate reductase activity in response to iron deficiency in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*. 154: 810-819.
- Colangelo E.P. & Guerinot M.L. (2004). The essential basic helix-loop-helix protein FIT1 is required for the iron deficiency response. *The Plant Cell*. 16: 3400-3412.
- García M.J., Sua'ez V., Romera F.J., Alca'ntara E. & Pe'rez-Vicente R. (2011). A new model involving ethylene, nitric oxide and Fe to explain the regulation of Fe-acquisition genes in strategy I plants. *Plant Physiol Biochem*. 49: 537-544.
- Ivanov R., Brumbarova T. & Bauer P. (2012). Fitting into the harsh reality: Regulation of iron deficiency responses in dicotyledonous plants. *Molecular Plant*. 5: 27-42. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr065>.
- Jakoby M., Wang H.Y., Reidt W., Weisshaar B. & Bauer P. (2004). FRU (BHLH029) is required for induction of iron mobilization genes in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*. 577(3): 528-534.
- Jeong J., Merkovich A., Clyne M. & Connolly E.L. (2017). Directing iron transport in dicots: Regulation of iron acquisition and translocation. *Current Opinion in Plant Biology*. 39: 106-113.
- Klatte M. & Bauer P. (2009). Accurate real-time reverse transcription quantitative PCR. *Methods Mol Biol*. 479: 61-77.
- Le C.T.T., Brumbarova T., Ivanov R., Stoof C., Weber E. & Mohrbacher J., Fink-Straube C. & Bauer P. (2016). Zinc Finger Of *Arabidopsis thaliana* 12 (Zat12) interacts with Fer-Like Iron Deficiency Induced Transcription Factor (FIT) linking iron deficiency and oxidative stress responses. *Plant Physiol*. 170: 540-557.
- Lingam S., Mohrbacher J., Brumbarova T., Potuschak T., Fink-Straube C., Blondet E., Genschik P. & Bauer P. (2011). Interaction between the bHLH transcription factor FIT and ETHYLENE INSENSITIVE3/ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 reveals molecular linkage between the regulation of iron acquisition and ethylene signaling in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 23: 1815-1829. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.084715>.
- Maurer F., Müller S. & Bauer P. (2011). Suppression of Fe deficiency gene expression by jasmonate. *Plant Physiol Biochem*. 49: 530-536.
- Meiser J., Lingam S. & Bauer P. (2011). Posttranslational regulation of the iron deficiency basic helix-loop-helix transcription factor FIT is affected by iron and nitric oxide. *Plant Physiology*, 157: 2154-2166.
- Robinson N.J., Procter C.M., Connolly E.L. & Guerinot M.L. (1999). A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature*. 397: 694-697.
- Séguéla M., Briat J.F., Vert G. & Curie C. (2008). Cytokinins negatively regulate the root iron uptake machinery in *Arabidopsis* through a growth dependent pathway. *Plant J*. 55: 289-300.
- Vert G., Grotz N., Dedaldechamp F., Gaymard F., Guerinot M.L., Briat J.F. & Curie C. (2002). IRT1, an *Arabidopsis* transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell*. 14: 1223-1233.
- Yuan Y., Wu H., Wang N., Li J., Zhao W., Du J., Wang D. & Ling H.Q. (2008). FIT interacts with AtbHLH38 and AtbHLH39 in regulating iron uptake gene expression for iron homeostasis in *Arabidopsis*. *Cell Research*. 18: 385-397.
- Wang H.Y., Klatte M., Jakoby M., Baumlein H., Weisshaar B. & Bauer P. (2007). Iron deficiency-mediated stress regulation of four subgroup Ib BHLH genes in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*. 226: 897-908.