

PHÂN TÍCH CÁC ĐẶC ĐIỂM CỦA HỌ PROTEIN VACUOLAR IRON TRANSPORTER (VIT) VÀ DỮ LIỆU BIỂU HIỆN HỌ GEN *OsVIT* Ở LÚA BẰNG CÔNG CỤ TIN SINH HỌC

Lê Quỳnh Mai¹, Phạm Minh Duy, Đỗ Minh Ân

Khoa Sinh học, Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

TÓM TẮT

Sắt là một trong các nguyên tố thiết yếu với sinh trưởng và phát triển của thực vật. Để hấp thu, vận chuyển và kiểm soát sự tích lũy sắt trong cơ thể, thực vật sử dụng nhiều protein khác nhau trong đó có protein vận chuyển ở không bào (Vacuolar Iron Transporter - VIT). Nhờ các protein họ VIT, sắt có thể được đưa vào tích trữ ở không bào, giúp giảm tránh các tác động bất lợi của hiện tượng dư thừa sắt. Nhóm protein này còn có các đồng hình là Vacuolar Iron Transporter-like (VTL) cũng tham gia quá trình vận chuyển sắt vào không bào. Các VIT và VTL được gọi chung là họ VIT. Ở lúa gạo, mới chỉ có hai protein VIT là *OsVIT1* và *OsVIT2* được phát hiện và phân tích. Trong nghiên cứu này, 9 protein họ VIT gồm *VIT1*, *VIT2* và 7 *VTL* được xác định ở lúa trên cơ sở so sánh với *EgVIT1*, đồng thời được phân tích cùng các protein họ VIT ở cây một lá mầm khác là ngô và ở cây mô hình *Arabidopsis thaliana*. Các dữ liệu cho thấy các protein họ VIT ở lúa dài từ 69 đến 252 aa, khối lượng phân tử từ 7,263 đến 26,551 kDa, điểm đẳng điện trong khoảng 4,69 đến 8,57. Hầu hết các protein họ VIT ở lúa đều có 5 vùng xuyên màng và đều được xác định biểu hiện ở màng không bào. Trình tự các protein được so sánh, xác định các motif tương đồng từ đó xây dựng cây phát sinh cho thấy mối quan hệ gần gũi giữa các protein VIT ở cây một lá mầm so với cây hai lá mầm. Dữ liệu biểu hiện của 4 trong số các gen họ *VIT* ở lúa cho thấy các gen *OsVIT2*, *OsVTL1* và *OsVTL2* có biểu hiện mạnh ở hạt trong giai đoạn sớm sau đó giảm dần khi hạt phát triển. Đặc biệt, *OsVIT1* biểu hiện mạnh ở rễ và lá mà không biểu hiện ở bất kỳ giai đoạn nào của hạt. *OsVIT1* có tiềm năng là gen đích cho các nghiên cứu cải tiến hàm lượng sắt trong hạt.

Từ khóa: Họ gen *OsVIT*, không bào, mức độ biểu hiện gen, vacuolar iron transporter, vận chuyển sắt.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở thực vật, nguyên tố sắt thiết yếu cho sinh trưởng và phát triển, liên quan đến các quá trình như quang hợp, tổng hợp diệp lục, chuỗi truyền điện tử và nhiều phản ứng oxi hóa khử (Aung and Masuda, 2020). Tuy nhiên, tích tụ quá nhiều sắt trong tế bào chất dẫn đến sự hình thành các gốc oxi hóa phản ứng (reactive oxygen species-ROS) qua phản ứng Fenton, làm phá hủy DNA và các bào quan (Winterbourn, 1995; Gayomba *et al.*, 2015). Sắt dư thừa được thực vật chuyển đến các cơ quan dự trữ nhằm tránh gây tổn thương các mô. Không bào cũng được thực vật sử dụng để dự trữ sắt. Họ protein VIT (Vacuolar Iron Transporter) gồm các thành viên được xác định tham gia vận chuyển ion sắt vào không bào ở thực vật. Họ protein này gồm hai nhóm chính: nhóm VIT và nhóm VIT-like (VTL). Các protein nhóm VTL khác với VIT ở điểm không có không có vùng chức năng là domain bám kim loại (metal binding domain-MBD) (Gollhofer *et al.*, 2014; Walton *et al.*, 2020). Trình tự các protein VIT trong cùng nhóm cây một lá mầm hoặc cây hai lá mầm được xác định có xu hướng tương đồng với nhau hơn so với các protein VIT trong nhóm cây còn lại. Các protein thuộc họ VIT ở các loài thực vật tham gia vào nhiều hoạt động khác nhau (Connorton *et al.*, 2017; Cao, 2019).

AtVIT1 là thành viên đầu tiên của họ protein VIT được phát hiện từ cây mô hình *Arabidopsis thaliana* (Kim *et al.*, 2006). *OsVIT1* và *OsVIT2* ở lúa gạo (*Oryza sativa*) được xác định biểu hiện mạnh ở lá và tham gia vận chuyển sắt từ cơ quan hấp thu (rễ) đến cơ quan tích trữ (lá, hạt) (Zhang *et al.*, 2012). Tuy có nhiều nghiên cứu về chức năng nhưng cấu trúc bậc ba cũng như cơ chế vận chuyển sắt qua protein VIT lại ít được làm rõ. Nghiên cứu đầu tiên về cấu trúc của VIT đã xác định cấu trúc tinh thể của *EgVIT1*, protein VIT từ *Eucalyptus grandis* (Kato *et al.*, 2019). Cấu trúc tinh thể của *EgVIT1* đã khẳng định dự đoán cấu trúc bậc hai của các protein VIT, gồm 5 vùng xoắn xuyên màng và domain bám ion kim loại (MBD) nằm giữa hai vùng xuyên màng thứ 2 và thứ 3. Hoạt động của các protein VIT khác dựa trên sự tương đồng trình tự với *EgVIT1* cũng đã được dự đoán trong nghiên cứu này của Kato và cộng sự (Kato *et al.*, 2019). Một nghiên cứu khác cũng đã sử dụng mô hình tương đồng với *EgVIT1* để xây dựng cấu trúc ba chiều của *AtVIT1* và *OsVIT1* (Krishna *et al.*, 2023). Các cấu trúc dự đoán của *AtVIT1* và *OsVIT1* tương tự như của *EgVIT1*, các amino acid chức năng chỉ có khác biệt nhỏ về vị trí so với *EgVIT1* (Krishna *et al.*, 2023).

Ở lúa gạo, cho đến nay chỉ có *OsVIT1* và *OsVIT2* là hai gen *VIT* được xác định và phân tích, chưa có gen nào thuộc nhóm *VTL* ở lúa được nghiên cứu. Nghiên cứu của Zhang và đồng tác giả (2012) cho thấy *OsVIT1* và

OsVIT2 đều biểu hiện mạnh ở lá, các protein *OsVIT1* và *OsVIT2* đều nằm trên màng không bào. Tuy nhiên mức độ biểu hiện của hai gen này thay đổi khác nhau với điều kiện môi trường thừa hoặc thiếu sắt. Biểu hiện gen *OsVIT2* tăng mạnh trong môi trường thừa sắt và giảm mạnh khi cây bị thiếu sắt, còn mức độ biểu hiện *OsVIT1* không có sự biến động lớn trong vòng 7 ngày từ khi xử lý sắt dù là tăng hay giảm hàm lượng. Nghiên cứu cũng đã thực hiện chuyển gen nhằm loại bỏ các gen *OsVIT*, kết quả cho thấy các cây chuyển gen có hàm lượng sắt giảm đi ở lá nhưng lại tăng lên ở phôi, đồng thời khả năng sinh trưởng không bị ảnh hưởng. Zhang và đồng tác giả (2012) dự đoán rằng *OsVIT1* và *OsVIT2* giúp điều hoà phân bố sắt giữa các mô trong cây.

Trong bài viết này các đặc điểm của họ protein VIT ở lúa gạo được xác định và trên cơ sở so sánh các motif của các protein này cùng với các protein cùng họ ở ngô (*Zea mays*) và *A. thaliana*, cây phát sinh phân nhóm các protein họ VIT đã được dựng cho thấy mối quan hệ gần gũi giữa chúng. Mức độ biểu hiện của một số gen trong họ VIT ở lúa cũng được khai thác để làm sáng tỏ phần nào vai trò của các VIT tương ứng với sự tích lũy sắt ở các mô, cơ quan. Các dẫn liệu này có thể được sử dụng để lựa chọn gen đích phù hợp cho các nghiên cứu cải tiến hàm lượng dinh dưỡng trong hạt gạo.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu nghiên cứu

Dữ liệu về protein và gen thuộc họ Vacuolar Iron Transporter (VIT) của lúa, ngô và *A. thaliana* trên cơ sở dữ liệu Phytozome (Goodstein *et al.*, 2012). Dữ liệu về biểu hiện gen được khai thác từ cơ sở dữ liệu GEO trên NCBI có mã số GSE6893.

Phương pháp nghiên cứu

Xác định và dự đoán một số thông số hóa lý các protein thuộc họ VIT ở lúa gạo

Trình tự giống hàng rút gọn (seed) của domain VIT1 (mã: PF01988) từ cơ sở dữ liệu Pfam (Mistry *et al.*, 2021) được sử dụng để tìm kiếm các trình tự protein thuộc họ VIT trên proteome: *Oryza sativa* v.70-rice trong cơ sở dữ liệu Phytozome bằng công cụ BLAST (Goodstein *et al.*, 2012) với ngưỡng giá trị E-1. Các trình tự thu được từ tìm kiếm trên được kiểm tra bằng công cụ MotifFinder để khẳng định có motif thuộc domain VIT1. Tên các protein, số vùng xuyên màng và dự đoán vị trí trong tế bào được tìm kiếm trên cơ sở dữ liệu UniProt (2022) qua các mã gen tương ứng. Các thông số hóa lý như: khối lượng phân tử (MW), điểm đẳng điện (pI), độ kỵ nước trung bình (GRAVY), chỉ số bất ổn định (II) được tính toán bằng công cụ ProtParam (Wilkins *et al.*, 1999).

Xây dựng cây phát sinh chủng loại và xác định các motif bảo thủ của họ protein VIT ở lúa, ngô và *A. thaliana*

Trình tự các thành viên họ protein VIT được tìm kiếm ở *O. sativa*, *A. thaliana* và *Z. mays* cùng với trình tự của EgVIT1 (mã UniProtKB: P0DO17) được giống hàng bằng công cụ MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021) theo phương pháp MUSCLE. Cây phát sinh chủng loại của họ protein VIT được xây dựng từ thông tin sắp giống cột nhiều trình tự bằng công cụ IQ-TREE (Nguyen *et al.*, 2015) theo phương pháp Maximum Likelihood, 1000 bootstrap UFBoot (Hoang *et al.*, 2018) và được biểu diễn bằng công cụ iTOL (Letunic and Bork, 2024). Các motif bảo thủ ở các protein VIT được xác định bằng công cụ MEME với các thông số: độ dài motif tối thiểu: 6; độ dài motif tối đa: 50; ngưỡng E-value tối đa: E-1. Vị trí các motif trên trình tự các protein VIT được biểu diễn bằng công cụ TBtool (Chen *et al.*, 2023).

Phân tích dữ liệu biểu hiện họ gen VIT ở lúa gạo

Biểu hiện họ gen VIT ở lúa gạo qua các giai đoạn phát triển khác nhau được phân tích thông qua dữ liệu microarray (mã GEO: GSE6893). Dữ liệu biểu hiện các gen có trong bộ dữ liệu này được lấy log2, chuẩn hóa và biểu diễn dưới dạng bản đồ nhiệt (heatmap) bằng công cụ TBtool (Chen *et al.*, 2023).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các protein VIT ở lúa vừa tương đồng vừa đa dạng so với ở ngô và *Arabidopsis*

Thông tin giống hàng rút gọn của domain VIT1 (mã Pfam: PF01988) được dùng làm truy vấn trên cơ sở dữ liệu Phytozome bằng công cụ BLAST đối với proteome của lúa *O. sativa*.

Kết quả đã xác định được 9 protein ở lúa với các đặc điểm dự đoán ở Bảng 1. Họ protein VIT ở lúa gồm 2 thành viên thuộc nhóm VIT là *OsVIT1* và *OsVIT2* và 7 thành viên thuộc nhóm VTL. Các protein nhóm VIT đã được xác định có độ dài và kích thước phân tử ít chênh lệch (*OsVIT1* dài 252 aa, khối lượng phân tử khoảng 26,5 kDa và *OsVIT2* dài 246 aa, khối lượng phân tử gần 26,2 kDa). Còn ở nhóm VTL, các thông số độ dài (69-249 amino acid) và kích thước phân tử (7,2-25,1 kDa) có phân bố rộng hơn. Hầu hết các protein thuộc họ VIT ở lúa trên đều có 5 vùng xuyên màng (trừ *OsVTL6* và *OsVTL7* không có thông tin). Các phân tử được xác định có điểm đẳng điện dao động từ 4,69 đến 8,57. Phần lớn các protein có giá trị GRAVY dương (8/9 phân tử) thể hiện là các phân tử kỵ nước. Có 5/9 phân tử có chỉ số bất ổn định thấp dưới 40. Các protein có thông tin về vị trí nội bào trên cơ sở dữ liệu UniProtKB đều ở màng không bào.

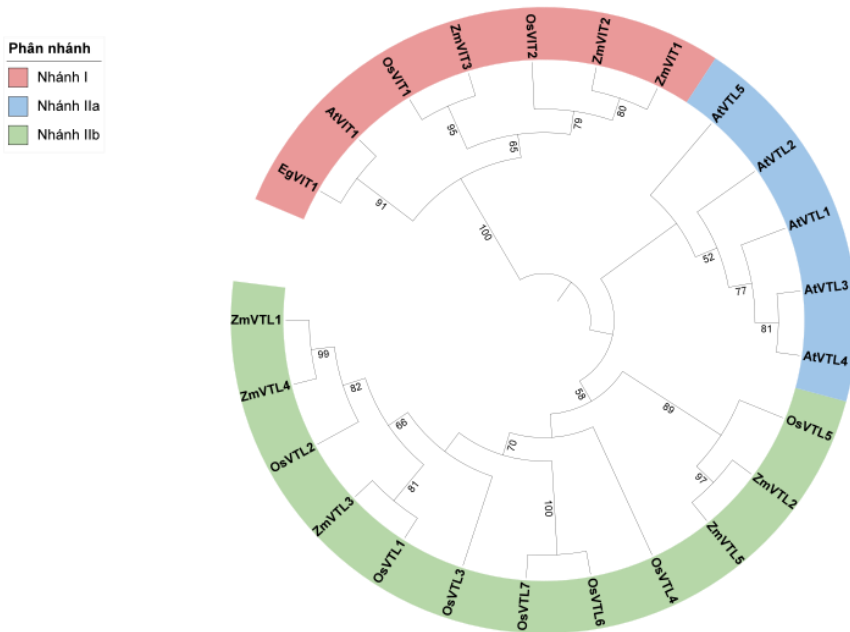
Bảng 1. Thông tin các protein thuộc họ VIT ở *Oryza sativa*

Tên protein	UniProtKB ID	Độ dài (a. a.)	MW (Da)	Số vùng xuyên màng	pI	GRAVY	II	Vị trí nội bào
OsVIT1	Q6MWE5	252	26551	5	5,73	0,221	35,97	ton
OsVIT2	Q6ERE5	246	26161	5	4,9	0,268	39,04	ton
OsVTL1	Q6H658	232	22876	5	5,02	0,499	44,76	ton
OsVTL2	B7F138	189	19107	5	6,55	0,685	32,16	ton
OsVTL3	Q84ZM7	249	25100	5	7,70	0,336	61,42	ton
OsVTL4	Q53PN2	216	21236	5	7,97	0,560	37,43	ton
OsVTL5	Q7XTL7	208	20981	5	8,57	0,623	28,91	ton
OsVTL6	Q10M16	87	9330	-	5,45	-0,387	68,51	-
OsVTL7	Q2QWM2	69	7263	-	4,69	0,130	41,17	-

Chú thích: MW: Khối lượng phân tử, pI: Điểm đẳng điện, GRAVY: Độ kỵ nước trung bình, II: Chỉ số bất ổn định, ton: Màng không bào; "-": Không có thông tin trên cơ sở dữ liệu.

Cây phát sinh chủng loại và các motif bảo thủ ở họ protein VIT

Cây phát sinh chủng loại của họ protein VIT được xây dựng từ 23 trình tự protein được tìm kiếm ở 3 loài gồm 9 protein ở lúa (*O. sativa*), 8 protein ở ngô (*Z. mays*) và 6 protein ở *A. thaliana* cùng với trình tự của EgVIT1 từ *E. grandis* (Hình 1). Cây không gốc thu được gồm 2 nhánh tách biệt với độ tin cậy tuyệt đối (chỉ số bootstrap 100): nhánh I gồm các protein thuộc nhóm VIT và nhánh II gồm các protein nhóm VTL. Trong nhánh I, 2 protein VIT từ 2 loài cây hai lá mầm là AtVIT1 và EgVIT1 tạo thành một nhánh con với độ tin cậy cao (chỉ số bootstrap 91). Những protein VIT còn lại trong nhánh I thuộc về 2 loài một lá mầm (*O. sativa* và *Z. mays*) cũng tạo thành một nhánh con với độ tin cậy trung bình (chỉ số bootstrap 65). Điều này cho thấy nhóm protein VIT của cùng nhóm cây một lá mầm hoặc hai lá mầm gần gũi với nhau hơn so với nhóm còn lại. Xu hướng khác biệt giữa cây một lá mầm và hai lá mầm ở họ protein VIT cũng có thể thấy ở nhánh II - nhóm VTL. 5 AtVTL tạo thành phân nhánh IIa còn các VTL từ *O. sativa* và *Z. mays* tạo thành phân nhánh IIb, tuy nhiên độ tin cậy của 2 phân nhánh này đều không cao. Xu hướng khác biệt này cũng đã được nhận thấy trong các nghiên cứu trước đây (Connorton *et al.*, 2017; Cao, 2019).



Hình 1. Cây phát sinh chủng loại họ protein VIT ở lúa, ngô và *A. thaliana*

Các chỉ số bootstrap được hiển thị cạnh mỗi nhánh của cây phát sinh chủng loại, những chỉ số bootstrap dưới 50 không được hiển thị.

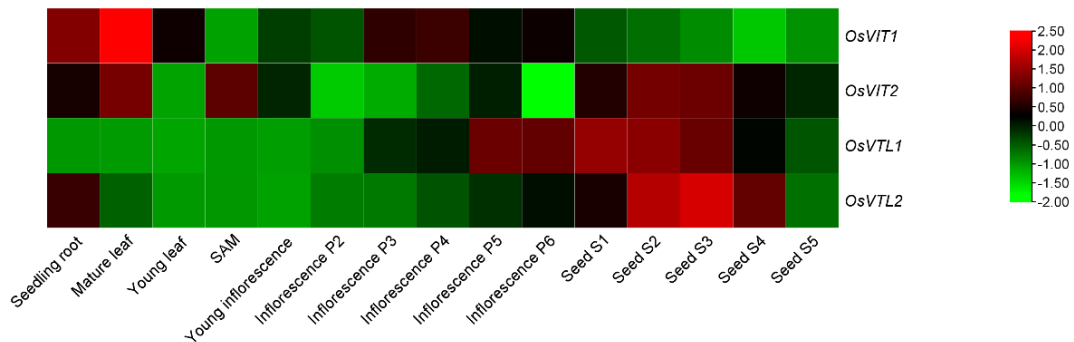


Hình 2. Phân bố các motif bảo thủ của họ protein VIT ở lúa, ngô và *A. thaliana*

Tìm kiếm bằng công cụ MEME đã xác định được 10 motif bảo thủ có ý nghĩa thống kê (E-value < 0.1) ở 24 protein kể trên. Sự phân bố của các motif này trên các trình tự protein được thể hiện trong Hình 2. Kết quả này phù hợp với cây phát sinh chủng loại khi các protein thuộc cùng nhánh trên cây phát sinh chủng loại thì sự phân bố motif của chúng tương đồng với nhau hơn. Cụ thể, phân bố các motif 2-1-10-5-7-3-6-4 gần như bảo thủ ở nhóm VIT, riêng ZmVIT1 không có các motif số 2, số 10 và số 5. Cụm các motif 2-1-3-5-4 bảo thủ ở nhóm các AtVTL, trong khi ở các VTL còn lại, chỉ có motif số 5 xuất hiện ở tất cả các thành viên. Điều này cũng cho thấy trình tự các VTL có sự đa dạng cao hơn so với nhóm VIT.

Kết quả phân tích dữ liệu biểu hiện họ gen VIT ở lúa gạo

Dữ liệu biểu hiện của họ gen VIT ở lúa gạo trong các giai đoạn phát triển khác nhau được trích xuất và phân tích từ bộ dữ liệu microarray (mã GEO: GSE6893), các mức độ biểu hiện được đánh giá là có ý nghĩa so với đối chứng trong các nghiên cứu gốc. Có 4 thành viên họ gen VIT ở lúa gạo có dữ liệu biểu hiện gen trong bộ dữ liệu, gồm OsVIT1, OsVIT2, OsVTL1 và OsVTL2, biểu hiện của các gen này được biểu diễn dưới dạng bản đồ nhiệt (Hình 3). Nhìn chung, các gen này có sự khác biệt với nhau về phân bố biểu hiện gen. OsVIT1 và OsVTL2 biểu hiện mạnh ở rễ, còn biểu hiện của OsVIT2 và OsVTL1 ở rễ chỉ ở mức trung bình và thấp. OsVIT1 và OsVIT2 đều biểu hiện mạnh ở lá, tương đồng với kết quả nghiên cứu của Zhang và đồng tác giả (2012). Các gen VIT hầu như đều biểu hiện thấp ở hoa giai đoạn sớm (Young inflorescence-Inflorescence P3), sau đó tăng lên khi hoa phát triển. OsVTL1, OsVTL2 và OsVIT2 biểu hiện mạnh ở hạt giai đoạn sớm (Seed S1-Seed S3), giảm dần khi hạt phát triển. Ngược lại, OsVIT1 biểu hiện thấp ở tất cả các giai đoạn của hạt.



Hình 3. Bản đồ nhiệt thể hiện mức độ biểu hiện các gen họ VIT ở lúa gạo

Mức độ biểu hiện được thể hiện theo thang màu bên phải. Chú thích: SAM (shoot apical meristem): mô phân sinh đỉnh ngọn, leaf: lá, root: rễ, inflorescence: hoa, seed: hạt, seedling: cây con, young: non, mature: trưởng thành, P2-P6: các giai đoạn hoa theo thứ tự thời gian, S1-S5: các giai đoạn hạt theo thứ tự thời gian.

KẾT LUẬN

Họ protein VIT ở lúa gạo đã được phân tích *in silico* một cách toàn diện. Các thông số hóa lý, vị trí trong tế bào, cây phát sinh chủng loại và các motif bảo thủ ở 9 thành viên họ protein VIT ở lúa gạo cùng với họ protein VIT ở ngô và *A. thaliana* đã được phân tích, cho thấy nhóm protein VIT có sự bảo thủ cao và các protein VIT của cây một lá mầm có xu hướng gần gũi với nhau hơn so với ở cây hai lá mầm. Dữ liệu biểu hiện của một số gen VIT ở lúa đã được thu thập và phân tích cho thấy vai trò tiềm năng trong việc làm gen đích cho các nghiên cứu cải tiến hàm lượng sắt trong hạt. Cụ thể, dữ liệu biểu hiện cho thấy các gen *OsVIT2*, *OsVTL1* và *OsVTL2* có biểu hiện mạnh ở hạt trong giai đoạn sớm sau đó giảm dần khi hạt phát triển. Biểu hiện của gen *OsVIT1* mạnh ở rễ từ giai đoạn sớm, tăng dần theo sự phát triển của lá nhưng đặc biệt giai đoạn nào của hạt cũng có mức biểu hiện rất thấp. *OsVIT1* có tiềm năng là gen đích cho các nghiên cứu cải tiến hàm lượng sắt trong hạt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aung M S and H Masuda (2020) How Does Rice Defend Against Excess Iron?: Physiological and Molecular Mechanisms. *Front Plant Sci.* 11: 1102.
- Cao J (2019) Molecular Evolution of the Vacuolar Iron Transporter (VIT) Family Genes in 14 Plant Species. *Genes* (Basel) 10 (2): 144.
- Chen C, Wu Y, Li J, Wang X, Zeng Z, Xu J, Liu Y, Feng J, Chen H, He Y and Xia R (2023) TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining. *Mol Plant* 16 (11): 1733-1742.
- Connorton JM, Jones ER, Rodríguez-Ramiro I, Fairweather-Tait S, Uauy C and Balk J (2017) Wheat Vacuolar Iron Transporter TaVIT2 Transports Fe and Mn and Is Effective for Biofortification. *Plant Physiol.* 174 (4): 2434-2444.
- Gayomba SR, Zhai Z, Jung HI and Vatamaniuk OK (2015) Local and systemic signaling of iron status and its interactions with homeostasis of other essential elements. *Front Plant Sci.* 6: 716.
- Gollhofer J, Timofeev R, Lan P, Schmidt W and Buckhout TJ (2014) Vacuolar-Iron-Transporter1-Like proteins mediate iron homeostasis in Arabidopsis. *PLoS One* 9 (10): e110468.
- Goodstein DM, Shu S, Howson R, Neupane R, Hayes RD, Fazo J, Mitros T, Dirks W, Hellsten U, Putnam N and Rokhsar DS (2012) Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic Acids Res.* 40 (Database issue): D1178-86.
- Hoang DT, Chernomor O, von Haeseler A, Minh BQ and Vinh LS (2018) UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Mol Biol Evol.* 35 (2): 518-522.
- Kato T, Kumazaki K, Wada M, Taniguchi R, Nakane T, Yamashita K, Hirata K, Ishitani R, Ito K, Nishizawa T and Nureki O (2019) Crystal structure of plant vacuolar iron transporter VIT1. *Nat Plants* 5 (3): 308-315.
- Kim SA, Punshon T, Lanzirrotti A, Li L, Alonso JM, Ecker JR, Kaplan J and Guerinot ML (2006) Localization of iron in Arabidopsis seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1. *Science* 314 (5803): 1295-8.
- Krishna TPA, Ceasar SA and Maharajan T (2023) Biofortification of Crops to Fight Anemia: Role of Vacuolar Iron Transporters. *J Agric Food Chem.* 71 (8): 3583-3598.
- Letunic I and Bork P (2024) Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic Acids Res.* 52 (W1): W78-W82.
- Mistry J, Chuguransky S, Williams L, Qureshi M, Salazar GA, Sonnhammer ELL, Tosatto SCE, Paladin L, Raj S, Richardson LJ, Finn RD and Bateman A (2021) Pfam: The protein families database in 2021. *Nucleic Acids Res.* 49 (D1): D412-D419.
- Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A and Minh BQ (2015) IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol.* 32 (1): 268-74.
- Walton JH, Kontra-Kováts G, Green RT, Domonkos Á, Horváth B, Brear EM, Franceschetti M, Kaló P and Balk J (2020) The *Medicago truncatula* Vacuolar iron Transporter-Like proteins VTL4 and VTL8 deliver iron to symbiotic bacteria at different stages of the infection process. *New Phytol.* 228 (2): 651-666.
- Wilkins MR, Gasteiger E, Bairoch A, Sanchez JC, Williams KL, Appel RD and Hochstrasser DF (1999) Protein identification and analysis tools in the ExPASy server. *Methods Mol Biol.* 112: 531-52.
- Winterbourn CC (1995) Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicol Lett.* 82-83: 969-74.
- Tamura K, Stecher G and Kumar S (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol.* 38 (7): 3022-3027.
- The UniProt Consortium (2022) UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Research* 51 (D1): D523-D531.
- Zhang Y, Xu YH, Yi HY and Gong JM (2012) Vacuolar membrane transporters OsVIT1 and OsVIT2 modulate iron translocation between flag leaves and seeds in rice. *Plant J.* 72 (3): 400-10.

ANALYSIS OF CHARACTERISTICS OF VACUOLAR IRON TRANSPORTER (VIT) PROTEIN FAMILY AND EXPRESSION OF *OsVIT* GENE FAMILY IN RICE USING BIOINFORMATICS TOOLS

Le Quynh Mai*, Pham Minh Duy, Do Minh An

Faculty of Biology, University of Science, Vietnam National University in Hanoi

SUMMARY

Iron is one of the essential elements for plant growth and development. To absorb, transport and control iron accumulation, plants use many different proteins, including vacuolar iron transporters (VIT). By VIT proteins, iron can be stored in vacuoles, helping to reduce the negative effects of iron excess. This group of proteins also has isoforms, Vacuolar Iron Transporter-like (VTL) proteins, which also participates in the process of transporting iron into the vacuole. VITs and VTLs are collectively known as the VIT family. In rice, only two VIT proteins, *OsVIT1* and *OsVIT2*, have been discovered and analyzed. In this study, 9 VIT family proteins in rice including *VIT1*, *VIT2* and 7 VTLs were identified based on comparison with *EgVIT1*, and continuously compared with VIT family proteins in an other monocotyledonous plant, maize and model plant of *Arabidopsis thaliana*. Data show that the VIT family proteins in rice were from 69 to 252 aa long, molecular weight from 7.263 to 26.551 kDa, and isoelectric point from 4.69 to 8.57. Most of the VIT family proteins in rice have five transmembrane domains and were determined expression in the tonoplast. The protein sequence comparison and homologous motif identification showed a close relationship between VIT proteins in monocot plants compared to dicot plants. A phylogenetic tree was built. The expression levels of four of the VIT family genes in rice showed that the *OsVIT2*, *OsVTL1* and *OsVTL2* genes over-expressed in seeds during the early stages and then gradually decreased the expression during the developing of seeds. In particular, *OsVIT1* was strongly expressed in roots and leaves but did not express in seeds at any stage. *OsVIT1* has potential as a target gene for studies to improve iron content in rice grains.

Keywords: *OsVIT* gene family, vacuole, gene expression level, vacuolar iron transporter (VIT), iron transport.

* Author for correspondence: Tel: 0947485588; Email: lequynhmai80@vnu.edu.vn / lequynhmai80@gmail.com