

## Nicotianamine (NA)在植物中的作用

程龙军<sup>1,\*</sup>, 葛红娟<sup>2</sup>

<sup>1</sup>浙江林学院, 浙江临安 311300; <sup>2</sup>浙江娃哈哈集团公司, 杭州 310018

### Roles of Nicotianamine in Plants

CHENG Long-Jun<sup>1,\*</sup>, GE Hong-Juan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zhejiang Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300, China; <sup>2</sup>Wahaha Group Company, Hangzhou 310018, China

**摘要:** Nicotianamine (NA)是植物中特有的一种次生代谢物质,它与植物体内多种金属离子整合,借助特异的运输载体(YSL),参与植物中金属离子的吸收、运输和平衡。本文就NA的生化性质,生物合成途径,其在植物金属离子吸收、运输、分布中的作用及其特异运输载体的研究进展作介绍。

**关键词:** Nicotianamine; 金属离子; 运输; 分配

金属元素中很多都是植物生长和发育的必需元素,如铁、锌、铜、锰等,这些金属元素以离子状态被植物吸收后,大部分参与植物生理代谢和发育相关蛋白的结构或活性中心而起作用。但同时,植物体内过量游离的金属离子对植物的正常生长发育又有不良作用,它们由于化学性质活跃往往会发生氧化还原反应,生成一些活性氧对细胞代谢产生毒害,或者在金属蛋白中发生离子取代导致蛋白活性的丧失。因此,植物必须有能够协调金属离子吸收、运输和分布的机制,以维持体内金属离子的平衡,既能保证金属离子对植物的生长和发育发挥其应有的作用,也要防止其对植物造成伤害(Clements 2001)。

实际上,在植物体内只有极少一部分金属离子是以游离状态存在的,大部分金属离子都与作为配体的有机小分子结合在一起,以螯合物的形式存在,这种螯合物可以消除游离离子可能造成的氧化伤害,因而,植物对金属离子含量的忍耐水平得以提高,且便于在植物中贮存和利用(Grotz 和 Guerinot 2006)。因此认为,这些作为螯合物配体的有机小分子与植物体内金属离子的运输和平衡有密切关系(Cobbett 和 Goldsbrough 2002)。NA (nicotianamine)就是这些有机小分子中的一员,它是植物自身产生的一种非分泌型次生代谢物质,在植物体内可以和铁、锌、铜、锰、镍等多种金属离子整合,参与这些金属离子的运输和分布,维持植物体内金属离子的平衡。而且植物体内NA含量的高低直接影响植物对环境中金属离子的吸收以及金属离子在

植物体内的积累水平(Curie 等 2009)。随着对其研究的深入,NA在植物金属离子吸收、运输和平衡中的作用受到越来越多的关注。本文分别从NA的生物合成,对金属离子的螯合特性,NA在植物金属离子吸收、运输以及分布中的作用进行介绍。

#### 1 NA的分子结构、生物合成途径和生化性质

**1.1 NA的分子结构** NA是植物中广泛存在的一种代谢物质,其分子量为303(Curie 等 2009)。尽管国内一些文献中将它也译成尼克酰胺,但它与生物代谢中的辅酶尼克酰胺(又称烟酰胺)有本质的区别,作为辅酶的尼克酰胺化学名称为3-吡啶甲酰胺,英文名为nicotianamide,分子量为122(图1-a)。而NA则是有3个硫腺苷甲硫氨酸分子经生物催化形成的一个含吡啶杂环的代谢物(图1-b, Shojima 等 1990)。由于在英文中后缀“-amine”有“-胺”之意,而“-amide”为“-酰胺”的含义,所以NA译作“尼克胺”更为确切,以示与作为辅酶的尼克酰胺的区别。

**1.2 NA的生物合成途径** NA在植物中的生物合成是以L-甲硫氨酸为底物的,经过硫腺苷甲硫氨酸合成酶(*S*-adenosylmethionine synthase, SAMS)的催化生成硫腺苷甲硫氨酸(*S*-adenosylmethionine, SAM),3个SAM分子再通过尼克胺合成酶(nicotianamine synthase, NAS)催化生成一个NA分子。在禾本科

收稿 2009-05-26 修定 2009-06-30

资助 国家自然科学基金(30770191)。

\* 通讯作者(E-mail: ljcheng@zju.edu.cn; Tel: 0571-63742885)。

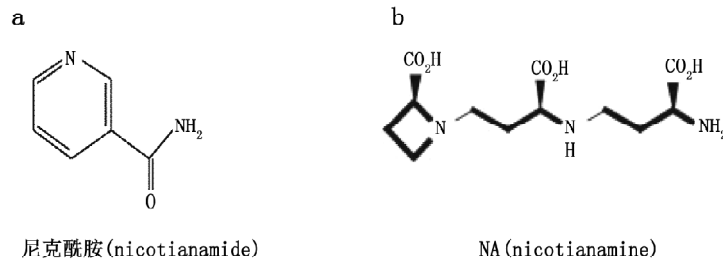


图1 尼克酰胺和NA的分子结构比较

植物中,生成的NA继续通过尼克胺氨基转移酶(nicotianamine aminotransferase, NAAT)以及脱氧麦根酸合成酶(deoxymugineic acid synthase, DMAS)的催化作用,合成具有螯合作用的麦根酸类物质(mugineic acid, MAs),从根中分泌到体外结合环境中的 $\text{Fe}^{3+}$ ,形成复合物的形式,再通过特殊载体转运至植物体内,到达吸收利用 $\text{Fe}^{3+}$ 的目的(Mori和Nishizawa 1987; Shojima等1990)。而在非禾本科植物中,NA即为植物利用的物质形式,不会分泌到体外,在植物体内发挥作用。

**1.3 NA的生化性质** 三分子SAM经催化形成的NA分子中形成了一个由3个氨基和3个羧基集团共同构成1个六齿配位体,这个配位体的结构使它能很稳定地在其中螯合一个金属离子。在体外条件下,按亲和能力依次增强的次序,NA分别可以和锰(Mn)、二价铁[Fe(II)]、钴(Co)、锌(Zn)、镍(Ni)和铜(Cu)形成稳定的复合物。最近发现,NA在体外还可以螯合三价铁[Fe(III)],而且二者之间的亲和力还相当高(Benes等1983; Anderegg和Ripperger 1989)。用电脑模拟以及体外实验的手段来分析NA和金属离子螯合特性与pH值之间关系的结果发现,pH在6.5左右时,NA与除铜外的上述各金属离子螯合最稳定,而这正好是植物共质体环境的pH值,NA与铜却在比较温和的酸性环境中螯合最稳定,而这种温和的酸性环境和质外体的pH值很接近;在生物体环境中,pH值为5.5左右时,如柠檬酸这样的有机酸是各种金属离子的主要螯合体;而中性环境中,NA作为金属离子螯合体则占据主导地位。另外,尽管NA与Fe(III)有很高的亲和力,但其动态稳定性却不如NA-Fe(II);同时,如果将NA和麦根酸类物质中的脱氧麦根酸(deoxymugineic acid, DMA)与Fe(III)混合,在pH 3.5~5.5

的范围内,主要为Fe(III)与DMA的螯合,而一旦高于这个pH范围,Fe(III)与NA的螯合则占上风(von Wiren等1999)。NA作为植物体中重要的金属离子螯合剂,如上面所提到种种特点在很大程度上暗示,NA极有可能是植物共质体层面上的一种金属离子配体;金属离子在从质外体向共质体转运的时候,离子在不同配体之间有可能会发生转移。

## 2 NA与金属离子的运输和分布

**2.1 NA与金属离子的长距离运输** 由于NA在植物体内参与多种金属离子的螯合作用,所以人们对它在植物矿物营养方面的作用产生了浓厚的兴趣。有研究表明,NA参与植物体对金属营养元素的长距离运输作用。其中最典型的一个例子就是对番茄中NA相关突变体*chloronerva (chlN)*的研究,该突变体由于番茄NAS基因的突变,导致突变体中NA的含量大幅度下降(Ling等1999)。*chlN*在幼叶中表现为严重的脉间失绿症状,很像缺铁的表现;同时,生长迟缓,不育。这种异常表现可为施加外源NA或通过嫁接至正常植株上所缓解。有人分析植株中基础金属元素的含量,结果出人意料,无论外部环境中铁的水平如何,突变体不同的器官中铁的含量都比野生型明显高。铁含量的积累源于根部铁吸收系统相关基因的组成型高表达,包括负责质子分泌的ATPase和FRO (ferric reductase oxidase)等。这说明突变体中铁的长距离运输没有被削弱,突变体表现并非因为植株缺铁而造成,而有可能是因为金属离子分布的失衡造成的(Pich等1994; Pich和Scholz 1991)。Pich和Scholz (1996)进一步的研究发现,在突变体中根部的铜大量积累,而叶片中却有严重的铜缺乏现象,含铜的超氧化物歧化酶(Cu-SOD)和质体兰素含量大幅度下降;*chlN*木质部汁液中的铜浓度与野生型相比下降4~5倍,外

源施加NA可以部分恢复地上部分的铜含量。这些结果表明,NA极有可能参加了铜在植物内通过木质部的长距离运输过程,这与木质部汁液的pH值介于5和6之间,适于NA与铜的螯合这一点很吻合。

但是,在超富集植物中,大量的重金属元素可以从根部吸收运输到地上部,以一种非毒性的形式贮存。天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens*)就是其中的一种,它能富集镉/锌/镍等金属元素(Assuncao等2001)。以质谱分析木质部汁液中的镍,结果表明,其中约有25%的镍是以和NA螯合的形式存在的。将大麦中的NAS基因超表达转入拟南芥和烟草中,后两者体内的NA含量大幅度提高,它们对镍的耐受性大大提高。这些都说明NA还参与了镍的长距离运输过程(Mari等2006; Ouerdane等2006)。

由于NA与多种金属螯合的最佳pH值在6.5左右,这恰好是植物韧皮部汁液的pH环境。有试验证明,在各种植物的韧皮部汁液中同样也检测到了NA存在。在蓖麻(*Ricinus communis*)幼苗中,韧皮部汁液NA浓度约为木质部的10倍左右,高浓度的NA是否参与韧皮部中金属元素的运输过程需更多的实验加以证实(Schmidke等1999)。实际上,在韧皮部中铁主要以和铁运输蛋白(iron transportation protein, ITP)结合的形式存在(Krueger等2002),NA是否在ITP蛋白铁的装卸上起作用还需要做进一步的研究。通过T-DNA插入获得的拟南芥不同NAS突变体经双杂交后得到的突变体*nas4x-1*,其中4个NAS基因的功能均大部分丧失,以致繁殖阶段的莲座叶中检测不到NA,幼苗期莲座叶和种子中的NA含量很低。花和种子中的铁含量也很低,而莲座叶中的铁却有积累的现象。一方面,叶片、花和种子都有明显的缺铁症状;另一方面,分子和生理分析的结果却显示叶片中铁是充足的。说明在突变体中,铁不能通过正常的途径从叶片中运输至花和种子中,暗示在花和种子获得铁的韧皮部装载过程中必须有NA的参与(Klatte等2009)。水稻突变体*Osnaat1*由于*OsNAATI*突变导致DMA合成受阻,因而在地上部分和根部产生了NA的超积累现象。在提供其可利用的 $Fe^{2+}$ 的时候,种子中都有明显的铁

积累,根部、茎叶中除铁积累以外,锌、铜、锰、镉等也有积累(Cheng等2007)。在NA合成相关基因的表达方面,水稻的3个NAS中,*NAS1*和*NAS2*在环境中铁充足条件下,只在根中表达,且主要在伴胞和正对原生木质部的中柱鞘细胞中表达,叶中不表达;而当铁缺乏时,两者在根和叶中的表达都显著提高,且表达范围延伸至所有的根细胞,在叶中,则扩大到维管束以及严重黄化叶片的所有细胞。而*NAS3*在铁充足条件下,仅限于叶中表达,缺铁时在根中的表达受到促进(Inoue等2003)。这同样说明NA的合成与分布与金属离子的吸收利用状态有关。

**2.2 NA与金属离子的胞间运输和胞内分配** 已有研究表明,NA除参与金属离子在植物不同器官之间的运输,同时,还参与金属离子在细胞间的运输和细胞内的分配。将大麦的*NAAT-A*基因转入烟草中,获得一个能消耗烟草中NA的材料*naat-A*,由于NA被组成型表达的*NAAT-A*基因产物转化为麦根酸类物质,导致*naat-A*中的NA含量几乎检测不到,导致和*chln*类似的表型,叶片脉间失绿。但与*chln*不同的是,*naat-A*叶片中铁、铜、锰、锌的含量都有下降,铁和铜含量的下降尤其明显。用同步辐射X-射线荧光光谱分析野生型对照和*naat-A*叶片中金属元素的分布情况,发现铁在脉间区域的含量和对照相比非常低,说明脉间失绿现象是因为该区域铁的缺乏造成的。脉间失绿的现象可以而且只能被外施NA-Fe所缓解,用铁的同位素 $^{59}Fe$ 的不同形式喂给离体的*naat-A*叶片,结果显示,单独提供 $^{59}Fe$ 时,叶片中的放射性区域仅限于主要叶脉中,而提供NA- $^{59}Fe$ 时,吸收的 $^{59}Fe$ 可扩展到整个叶片的细胞。尽管这些证据还不能充分证明NA就是韧皮部金属离子装载中的配体,但已经可以说,NA是在细胞水平上参与铁的分配和向共质体转运方面起重要作用的(Takahashi等2003)。

采用组织免疫学的手段和NA的抗体标记检测不同供铁条件下番茄叶片和根细胞NA的分布,结果表明,正常供铁条件下,NA在胞质几乎是均匀分布的,而铁供应过量时,NA的标记主要出现在电子密度和蛋白密度都很高的液泡中(Pich等2001)。在叶片中铁超积累的两个豌豆突变体*brz*和*dgl*中,

液泡中NA的标记强度同样都大大高于作为对照的野生型。由于NA和铁的螯合,可以削弱 $\text{Fe}^{2+}$ 的氧活性,减轻过量 $\text{Fe}^{2+}$ 导致的细胞毒害,这暗示NA可能通过对细胞中过量铁的螯合转移至液泡中,达到了消除铁毒害的目的(von Wiren等1999)。目前,一般认为,NA在细胞中的作用是维持铁以可溶性的形式存在,保证它在细胞不同区室之间的合理分配,NA的缺乏会导致铁在叶绿体以及韧皮部汁液中的沉淀,降低其有效性和可移动性。

综上所述,NA确实在金属元素的运输、细胞间及细胞内的分布方面发挥了重要的作用,但在不同植物中,NA与金属元素运输之间的关系是相当复杂的。例如在*chln*中,NA的缺失会导致除铜外的铁等金属元素的吸收增加(Pich和Scholz 1996);而在*Osnaat1*中,NA在植株中高度积累,同样可以促进金属元素的吸收和利用(Cheng等2007)。NA到底是通过什么样的方式参与金属元素吸收利用和细胞不同区室之间分布的?参与NA金属螯合物运输调控的机制是什么样的?木质部和韧皮部金属离子运输过程中NA扮演的角色有什么不同?这些都需要做进一步的研究和探索。

### 3 参与NA-金属离子运输和分布的载体YSL (yellow-stripe like)

既然NA能与金属离子螯合参与植物体内金属离子的运输,那么运输的载体又是什么呢?最近的研究表明,有一类从属于寡肽转运体(oligopeptide transporter, OPT)的蛋白YSL有可能是参与NA-金属离子螯合物的载体蛋白(Yen等2001)。YSL基因是首先在玉米中被发现的,玉米中的*ys1*突变体由于不能吸收铁而表现出脉间失绿(yellow stripe)的症状,基因克隆的结果表明,ZmYS1是玉米中转运Fe(III)与高铁载体(phytosiderophore, PS)复合物[Fe(III)-PS]的蛋白(Curie等2001)。在单子叶禾本科植物中,这种蛋白主要用来进行Fe(III)的吸收,如ZmYS1(Curie等2001)、HvYS1(Murata等2006)、OsYSL15(Inoue等2009; Lee等2009)等。但是Schaaf等(2004)还发现,ZmYS1除了可以转运Fe(III)-PS外,还可以转运Fe(II)-NA和Ni(II)-NA;同时,拟南芥尽管不合成用来螯合Fe(III)的麦根酸类物质,但在基因组上仍然含有8个ZmYS1的同源

序列。对这些YSL基因的研究表明,其中的*AtYSL2*在提供Fe(II)-NA的时候,可以促进酵母严谨性缺铁突变体*fet3fet4*的生长,暗示拟南芥中的YSL基因有可能在植物中运输NA-Fe(II)方面存在一定的作用;其他成员则不具备这个特点(Schaaf等2005)。*Atys1*和*Atys3*的双突变植株表现出了叶片脉间失绿的症状,叶中锰和锌尤其是铜的浓度提高,而种子中铁、锌和铜的浓度下降,同时衰老过程中这些金属离子的可转移性下降,这些都表明这两个基因有可能参与了维管束组织中的金属离子向共质体装载的过程,而且这些离子极有可能是以与NA螯合的形式被运输的(Waters等2006)。重金属超积累植物天蓝遏蓝菜中,也克隆到了几个YSL基因,通过酵母互补实验以及分子、组织解剖和生理生化的分析,证明其中的*TcYSL3*参与了Fe/Ni-NA螯合物在植物体内的运输和积累(Gendre等2007)。另外,*OsYSL2*的异源表达也证明它能够运输Fe-NA和Mn-NA,可能参与了水稻木质部中铁和锰的运输以及这些金属元素向种子中的装载过程(Koike等2004)。尔后的研究证明,YSL对NA-金属螯合物的运输是单极性的,即仅能进行向细胞内输入,而不能输出(Schaaf等2004, 2005)。越来越多的研究表明,植物中YSL类蛋白与NA-金属离子螯合物的运输与分布有密切关系,而且不同的YSL蛋白在功能上有不同的分工。从基因和蛋白水平上研究这一蛋白家族的功能,有利于揭示植物中离子运输和分布的分子机制。

### 4 结语

NA是植物中特有的一种次生代谢产物,它能与众多金属离子螯合,在植物金属离子吸收、运输和分布中发挥功能,并以此消除或减弱过多金属离子尤其是重金属离子积累对植物造成的伤害。是植物金属元素吸收代谢中不可忽视的物质。此外,研究还发现,NA还可以作为血管收缩素转化酶抑制剂而用于人类抗高血压(Usuda等2009)。鉴于其在植物生理和动物生化代谢上的作用,其研究越来越受到重视。但在植物中,人们对NA与金属离子的螯合特性及选择性运输和分配机制,了解的仍有限,其可能的运输载体YSL家族具有更复杂的特性,不同种类的YSL参与植物金属吸收代谢的机制

也需要进一步的研究。以明确NA在生物生理中的作用,为从分子水平上改善植物的矿物营养提供基础性资料。

### 参考文献

- Anderegg G, Ripperger H (1989). Correlation between metal complex formation and biological activity of nicotianamine analogues. *J Chem Soc Chem Commun*, 10: 647~650
- Assuncao AGL, da Costa Martins P, De Folter S, Vooijs R, Schaats H, Aarts MGM (2001). Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell Environ*, 24: 217~226
- Benes I, Schreiber K, Ripperger H, Kirscheiss A (1983). Metal complex formation by nicotianamine, a possible phytosiderophore. *Experientia*, 39: 261~262
- Cheng LJ, Wang F, Shou HX, Huang FL, Zheng LQ, He F, Li JH, Zhao FJ, Ueno D, Ma JF et al (2007). Mutation in nicotianamine aminotransferase stimulated the Fe(II) acquisition system and led iron accumulation in rice. *Plant Physiol*, 145: 1647~1657
- Clemens S (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 212: 475~486
- Cobbett C, Goldsbrough P (2002). Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu Rev Plant Biol*, 123: 825~832
- Curie C, Cassin G, Couch D, Divol F, Higuchi K, Jean ML, Misson J, Schikora A, Czernic P, Mari S (2009). Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe-1 like transporters. *Ann Bot*, 103: 1~11
- Curie C, Panaviene Z, Loulergue C, Dellaporta SL, Briat J-F, Walker EL (2001). Maize *yellow stripe1* encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. *Nature*, 409: 346~349
- Gendreau D, Czernic P, Conejero G, Pianelli K, Briat J-F, Lebrun M, Mari S (2007). *TcYSL3*, a member of the *YSL* gene family from the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*, encode a nicotianamine-Ni/Fe transporter. *Plant J*, 49: 1~15
- Grotz N, Guerinot ML (2006). Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1763: 595~608
- Inoue H, Higuchi K, Takahashi M, Nakanishi S, Mori S, Nishizawa NK (2003). Three rice nicotianamine synthase genes, *OsNAS1*, *OsNAS2* and *OsNAS3* are expressed in cells involved in long-distance transport of iron and differentially regulated by iron. *Plant J*, 36: 366~381
- Inoue H, Kobayashi T, Nozoye T, Takahashi M, Kakei Y, Suzuki K, Nakazono M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK (2009). Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron(III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings. *J Biol Chem*, 284: 3470~3479
- Klatte M, Schuler M, Wirtz M, Fink-Straube C, Hell R, Bauer P (2009). The analysis of *Arabidopsis* nicotianamine synthase mutants reveals functions for nicotianamine in seed iron loading and iron deficiency responses. *Plant Physiol*, 150: 257~271
- Koike S, Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK (2004). OsYSL2 is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem. *Plant J*, 39: 415~424
- Krueger C, Berkowitz O, Stephan UW, Hell R (2002). A metal-binding member of the late embryogenesis abundant protein family transports iron in the phloem of *Ricinus communis* L. *J Biol Chem*, 277: 25062~25069
- Lee S, Chiecko JC, Kim SA, Walker EL, Lee Y, Guerinot ML, An G (2009). Disruption of *OsYSL15* leads to iron inefficiency in rice plants. *Plant Physiol*, 150: 786~800
- Ling HQ, Koch G, Baumlein H, Ganai MW (1999). Map-based cloning of *chloronerva*, a gene involved in iron uptake of higher plants encoding nicotianamine synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 7098~7103
- Mari S, Gendreau D, Pianelli K, Ouedane L, Lobinski R, Briat J-F, Lebrun M, Czernic P (2006). Root-to-shoot long-distance circulation of nicotianamine and nicotianamine-nickel chelates in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *J Exp Bot*, 57: 4111~4122
- Mori S, Nishizawa N (1987). Methionine as a dominant precursor of phytosiderophores in *Gramineae* plants. *Plant Cell Physiol*, 28: 1081~1092
- Murata Y, Ma JF, Yamaji N, Ueno D, Nomoto K, Iwashita T (2006). A specific transporter for iron(III)-phytosiderophore in barley roots. *Plant J*, 46: 563~572
- Ouedane L, Mari S, Czernic P, Lebrun M, Lobinski R (2006). Speciation of non-covalent nickel species in plant tissue extracts by electrospray Q-TOFMS/MS after their isolation by 2D size exclusion-hydrophilic interaction LC (SEC-HILIC) monitored by ICP MS. *J Anal At Spectrom*, 21: 676~683
- Pich A, Manteuffel R, Hillmer S, Scholz G, Schmidt W (2001). Fe homeostasis in plant cells: does nicotianamine play multiple roles in the regulation of cytoplasmic Fe concentration? *Planta*, 213: 967~976
- Pich A, Scholz G (1991). Nicotianamine and the distribution of iron into apoplast and symplast of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). II. Uptake of iron by protoplasts from the variety Bonner Beste and its nicotianamine-less mutant *chloronerva* and the compartmentation of iron in leaves. *J Exp Bot*, 42: 1517~1523
- Pich A, Scholz G (1996). Translocation of copper and other micronutrients in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.): nicotianamine-stimulated copper transport in the xylem. *J Exp Bot*, 47: 41~47

- Pich A, Scholz G, Stephan UW (1994). Iron-dependent changes of heavy metals, nicotianamine, and citrate in different plant organs and in the xylem exudate of two tomato genotypes: nicotianamine as possible copper translocator. *Plant Soil*, 165: 189~196
- Schaaf G, Ludewig U, Erenoglu BE, Mori S, Kitahara T, von Wiren N (2004). ZmYS1 functions as a proton-coupled symporter for phytosiderophore- and nicotianamine-chelated metals. *J Biol Chem*, 279: 9091~9096
- Schaaf G, Schikora A, Haberle J, Vert GA, Ludewig U, Briat JF (2005). A putative function of the *Arabidopsis* Fe-phytosiderophore transporter homolog AtYSL2 in Fe and Zn homeostasis. *Plant Cell Physiol*, 46: 762~774
- Schmidke I, Kruger C, Frommichen R, Scholz G, Stephan U (1999). Phloem loading and transport characteristics of iron in interaction with plant endogenous ligands in castor bean seedlings. *Physiol Plant*, 106: 82~89
- Shojima S, Nishizawa N-K, Fushiya S, Nozoe S, Irifune T, Mori S (1990). Biosynthesis of phytosiderophores. *Plant Physiol*, 93: 1497~1503
- Takahashi M, Terada Y, Izumi N, Nakanishi H, Yoshimura E, Satoshi M, Nishizawa NK (2003). Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development. *Plant Cell*, 15: 1263~1280
- Usuda K, Wada Y, Ishimaru Y, Kobayashi T, Takahashi M, Nakanishi H, Nagato Y, Mori S, Nishizawa NK (2009). Genetically engineered rice containing larger amounts of nicotianamine to enhance the antihypertensive effect. *Plant Biotechnol J*, 7: 87~95
- von Wiren N, Klair S, Bansal S, Briat JF, Khodr H, Shioiri T, Leigh RA, Hider RC (1999). Nicotianamine chelates both Fe-III and Fe-II. Implications for metal transport in plants. *Plant Physiol*, 119: 1107~1114
- Waters BM, Chu HH, Didonato RJ, Roberts LA, Easley RB, Lahner B, Salt DE, Walker EL (2006). Mutations in *Arabidopsis yellow stripe-like1* and *yellow stripe-like3* reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds. *Plant Physiol*, 141: 1446~1458
- Yen M-R, Tseng Y-H, Saier MH Jr (2001). Maize *Yellow Stripe1*, an iron-phytosiderophore uptake transporter, is a member of the oligopeptide transporter (OPT) family. *Microbiology*, 147: 2881~2883