

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20150011

新型天然纳米载体——豆科植物铁蛋白

周中凯, 杨 瑞, 孙国玉, 高云晶, 徐晶晶, 程 尧, 丁晓东, 裴彰明, 吴昊天
(食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 铁蛋白(ferritin)是一种由多亚基组成的铁贮存及去毒蛋白质. 铁蛋白在植物组织中分布广泛,在豆科植物种子中含量尤为丰富. 本文对豆科植物铁蛋白的结构与功能进行阐述,并综述了其作为纳米载体在铁元素补充剂、食品有机营养因子、药物分子应用中的最新研究进展.

关键词: 铁蛋白; 营养元素; 结构与功能

中图分类号: R151.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2015)03-0001-08

Leguminous Plant Ferritin—a Novel Natural Nano-carrier

ZHOU Zhongkai, YANG Rui, SUN Guoyu, GAO Yunjing, XU Jingjing, CHENG Yao,
DING Xiaodong, PEI Zhangming, WU Haotian

(Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, College of Food Engineering and Biotechnology,
Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Ferritin is a ubiquitous and well-characterized iron storage with detoxicated protein. Ferritin is widely distributed in plant tissues, especially in the seeds of legume. This review focuses on the structure and function of phytoferritin as a novel natural nano-carrier, its nutritional utilization as an iron supplement, and its application in the encapsulation of natural bioactive compounds and drug components.

Key words: phytoferritin; nutrition; structure and function

铁蛋白(ferritin)是一种广泛存在于动物、植物和微生物中的铁贮存蛋白. 其中,植物铁蛋白几乎存在于所有植物体细胞中,通常位于低光合活性的非绿色质体,如块茎和种子的淀粉体、前质体、黄化质体、芽和根的顶部、豆科植物的根瘤等特异组织中^[1-2]. 目前研究发现在鹰嘴豆^[3]、红小豆^[4]、豌豆^[5]、大豆种子^[6-7]中均含有铁蛋白. 铁蛋白在生物体内具有两种主要功能:一是维持生物体内铁的代谢平衡^[8];二是清除铁介导的自由基反应,保护细胞免受因各种环境胁迫而导致的细胞氧化性损伤^[9-10]. 因此,铁蛋白是生物体内储存铁并使机体免受铁损伤的一种重要蛋白.

植物铁蛋白是植物内在铁的主要存在形式,能以可溶的、无毒的、生物可利用的形式存储大量的矿化铁(每分子植物铁蛋白约可容纳 2 000 个 Fe^{3+}). 因

此,植物铁蛋白具有良好补铁效果,而且不会引起毒副作用,在铁营养研究领域具有广泛的研究意义. 另一方面,在无氧条件下,利用还原剂可将铁蛋白内部的天然氧化铁核 Fe^{3+} 转化为 Fe^{2+} ,并将其从蛋白质内部释放出去,可以制备得到中空 的脱铁铁蛋白(apoferritin).

近期研究发现,利用脱铁铁蛋白的纳米空间结构,在其内部空腔可包埋食品营养小分子及药物组分等,并有助于提高包埋物的水溶性和稳定性. 因此,说明铁蛋白在构建食品及药物小分子载体方面具有广阔的应用前景.

本文将对豆科植物铁蛋白的结构与功能进行系统总结,并综述植物铁蛋白的补铁活性,以及利用其纳米空腔装载食品营养小分子及药物组分方面的最新研究进展.

收稿日期: 2015-01-19; 修回日期: 2015-03-10

基金项目: 中欧合作项目(SQ2013ZOA100001); 国家自然科学基金资助项目(31471701)

作者简介: 周中凯(1964—),男,河北衡水人,教授,天津市“千人计划”特聘专家; 通信作者: 杨 瑞,讲师, yangrui@tust.edu.cn.

1 铁蛋白的结构

生命体内自然存在的铁蛋白主要由蛋白质外衣和化合态铁核两部分组成. 经典的铁蛋白外衣是由 24 个亚基组装而成的高度对称的内空结构, 通常内径约为 8 nm, 外径约为 12 nm, 厚度约为 2 nm^[11-12] (如图 1(a)). 铁核是由氢氧化铁和磷酸盐组成的非均匀矿化铁核结构, 直径约为 8 nm, 可以划分为高铁磷比的铁核表层结构和低铁磷比的铁核内层结构, 且随着物种的不同铁核大小也有所差异^[12]. 1 分子铁蛋白最多能储存约 4 500 个以无机矿物质形式存在的三价铁原子^[13]. 对于豆科类植物铁蛋白, 其铁的储存量约为 1 800~2 000 个铁原子. 铁蛋白分子的空间结构在各类生物体中具有很高的保守性, 所有生物体

中的铁蛋白分子有着极其相似的四级结构. 铁蛋白由 24 个亚基组成, 每两个亚基反向平行形成一组, 这 12 组亚基对称构成一个近似正八面体, 成 4-3-2 重轴对称的球状分子^[14]. 铁蛋白的每个亚基均为长约 5 nm、直径约 2.5 nm 的近似圆柱体, 且由 4 个 α 螺旋簇(A、B、C、D)和末端第 5 个较短 α 螺旋(E)构成, B 和 C 螺旋之间有一段含 18 个氨基酸的 BC-环连接, E 螺旋位于 4 个 α 螺旋簇的尾端并与之成 60° 夹角^[12](图 1(b)). 每分子铁蛋白可形成 24 个一重轴通道、12 个二重轴通道、8 个三重轴通道(图 1(c)) 和 6 个四重轴通道(图 1(d))^[15], 这些通道被认为是离子或分子等物质出入铁蛋白的必经之路, 起着联系铁蛋白内部空腔与外部环境的作用^[12-13]. 对豆科植物铁蛋白而言, 每个亚基还存在一条 EP 肽段伸展出铁蛋白壳的外部(图 1(b)).

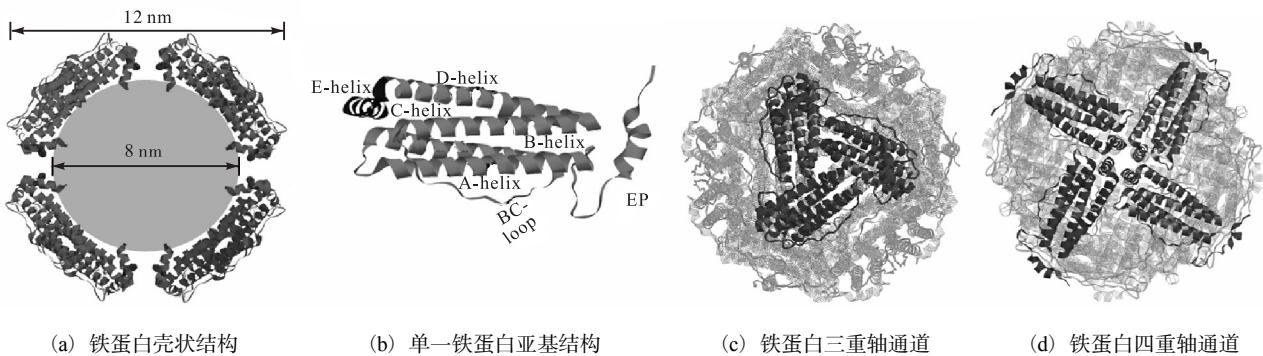


图 1 豆科植物铁蛋白空间结构示意图

Fig. 1 Graphic representation of the structure of the plant ferritin

1.1 豆科植物铁蛋白亚基的结构

在哺乳动物体内, 铁蛋白通常由重链 H 和轻链 L 两种类型的亚基组成. 虽然豆科植物铁蛋白和动物铁蛋白具有相同的起源, 但豆科植物铁蛋白的亚基组成却另有特点. 例如豆科植物铁蛋白的 24 个亚基均为 H 型亚基, 每个亚基都含有一个亚铁氧化中心, 并且豆科植物铁蛋白的 H 型亚基与动物铁蛋白 H 型亚基的氨基酸组成只具有约 40% 的相似度^[16-18]. 目前已知的豆科植物铁蛋白, 如大豆、豌豆、红小豆等植物种子的铁蛋白, 都是由相对分子质量为 2.65×10^4 (H-1) 和 2.80×10^4 (H-2) 的两种亚基组成^[18], 且这两种亚基具有 80% 的氨基酸序列同一性^[19]. 前期研究认为 H-1 亚基是由 H-2 亚基通过羟基自由基降解而来的^[20], 而最近通过比较大豆和豌豆中这两种铁蛋白亚基的肽指纹图谱 (peptide mass fingerprint, PMF) 发现, H-1 和 H-2 的 PMF 图谱明显不同^[21-22]. Masuda 等^[17, 23]也克隆得到了大豆铁蛋白 H-1 和 H-2

亚基的编码基因分别为 SferH-1 和 SferH-2, 证明了豆科植物铁蛋白是多基因编码的. 根据大豆铁蛋白 H-1 及 H-2 的一级序列分析可知, H-1 亚基的亚铁氧化中心由 Glu100、His138、Glu133、Glu134、Tyr107、Glu184 和 Gln218 这 7 个氨基酸组成, 而 H-2 亚基的亚铁氧化中心由 Glu101、His139、Glu134、Glu135、Tyr108、Glu185 和 Gln219 这 7 个氨基酸组成^[17]. 铁吸收过程中, H-1 和 H-2 亚基展现不同的功能, 即 H-1 亚基主要通过亚基内部的亚铁氧化中心催化 Fe^{2+} 的氧化, 而 H-2 亚基主要靠 EP 催化 Fe^{2+} 的氧化, 但二者具有协同效应, 极大促进了铁的吸收^[22].

1.2 豆科植物铁蛋白亚基氨基酸组成的特殊性

相较于其他铁蛋白, 豆科植物铁蛋白在亚基氨基酸的组成也有自己的特点. 研究表明, H-1 和 H-2 亚基来源于不同的前体蛋白 (二者相对分子质量均约为 3.2×10^4 , 氨基酸组成具有约 80% 的相似度), 前体蛋白的 N 端包含两个植物铁蛋白所特有的结构域

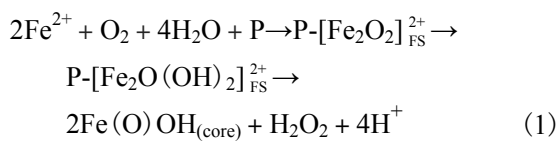
TP(transit peptide)和 EP(extension peptide). 与动物铁蛋白相比, EP 是成熟的植物铁蛋白亚基 N 端特有的重要组成部分, 大约由 30 个氨基酸组成. TP 则由 40~50 个氨基酸组成, 主要负责将前体蛋白转运到质体中, 一旦前体蛋白进入质体, TP 就会被切除掉, 然后亚基在质体中组装成成熟的铁蛋白^[17, 24]. 成熟的豆科植物铁蛋白 EP 肽段伸展在蛋白质外壳的外面, 并且亚基之间成 4-3-2 轴对称结构(图 1(c)和 1(d)). 豆科植物铁蛋白 EP 肽段不仅参与铁氧化沉淀, 同样还可以诱导铁蛋白的聚合. 例如, 在 pH 6.0 时可以诱导豆科植物铁蛋白发生明显的聚合, 当通过加工手段除去该 EP 肽段时, 即使 pH 低于 6.0, 蛋白质也不发生聚合.

2 铁蛋白铁吸收与还原释放功能

2.1 铁蛋白铁吸收机理

通常将 Fe^{2+} 在一定条件下被铁蛋白催化并将氧化产物贮藏在其内部空腔的过程称之为铁吸收或铁氧化沉淀. 自然存在于生物体内的铁蛋白均以含有内部铁核的铁蛋白分子(holo ferritin)的形式存在. 目前, 科学家在铁蛋白铁氧化沉淀方面的研究主要集中在马脾铁蛋白、人重组 H 型铁蛋白、牛蛙重组 M 或 H 型铁蛋白、豌豆铁蛋白以及大豆铁蛋白^[11, 21, 25-27]. 其氧化沉淀机理如下:

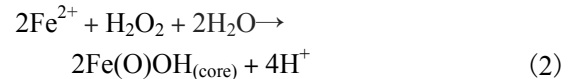
(1) 当铁通量小于等于 $2Fe^{2+}/H-chain$ 时, 反应机理如式(1)所示.



其中 P 代表未结合 Fe^{2+} 的亚铁氧化中心, FS 代表 Fe^{2+} 的结合位点. 由式(1)可知, Fe^{2+} 在亚铁氧化中心被 O_2 全部氧化, 且 1 分子 O_2 可以氧化 2 分子 Fe^{2+} , 同时产生 1 分子的 H_2O_2 和 4 个 H^+ . 反应过程中有过氧桥连的三价双铁中间体 ($\mu-1, 2$ -peroxo-diiiron (III) intermediate) 生成, 用 $P-[Fe_2O_2]_{FS}^{2+}$ 表示, 该物质不稳定, 可迅速分解为氧桥连的三价双铁配合物 ($\mu-1, 2$ -oxodiiron (III) complex), 用 $P-[Fe_2O(OH)_2]_{FS}^{2+}$ 表示, 然后分解为单核的 Fe^{3+} 化合物, 从亚铁氧化中心转移至铁蛋白内部空腔, 最终形成矿化核 $Fe(O)OH_{(core)}$ ^[28-30].

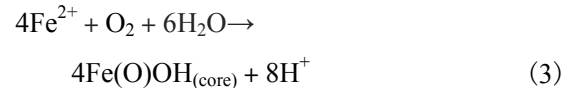
(2) 当铁通量大于 $2Fe^{2+}/H-chain$ 时, 亚铁氧化中心产生的 H_2O_2 与过量的 Fe^{2+} 发生去毒反应^[26], 反应

机理如式(2)所示.



当加入的 Fe^{2+} 为 $48Fe^{2+}/protein$ 时, 在 O_2 量一定的条件下, 对于人重组 H 型铁蛋白来说, 反应式(1)和反应式(2)的反应速率相同, 而对于大肠杆菌铁蛋白(*Escherichia coli* bacterioferritin, EcBFR)来说反应式(2)的速率大于反应式(1)^[31]. 通过这个反应, 铁蛋白不仅消除了 Fe^{2+} 的毒性, 而且还清除了 H_2O_2 的毒性. 由此说明, 铁蛋白具有去毒功能.

(3) 当铁通量大于 $10Fe^{2+}/H-chain$ 且铁矿核足够大时, Fe^{2+} 主要是在铁核表面被氧化, 此时矿化机理扮演着重要的角色, Fe^{2+}/O_2 的计量比为 4:1, 氧气最终被还原成水^[28, 32], 反应机理如式(3)所示.



(4) 对于豆科植物铁蛋白来说, Li 等^[5]研究发现豌豆铁蛋白具有一条新的铁吸收途径——表面氧化途径, 如图 2 所示.

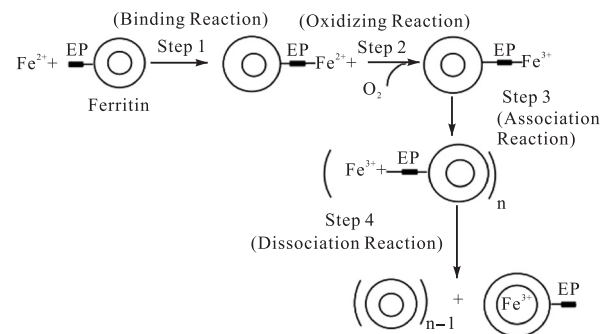


图 2 豌豆铁蛋白中一条新的铁吸收途径

Fig. 2 A new pathway of iron oxidative deposition in pea seed ferritin

该研究发现豆科植物铁蛋白的 N 末端上存在 EP 肽段, 其与维持蛋白质的稳定性有关. 在豌豆铁蛋白铁吸收过程中, 当铁通量大于 $48Fe^{2+}/protein$ 且铁矿核较小时, EP 参与植物铁蛋白 Fe^{2+} 的氧化沉淀, 被认为是植物铁蛋白的第二个亚铁氧化中心. 该途径的步骤如下: 第一步是 Fe^{2+} (大于 $48Fe^{2+}/protein$) 与豌豆铁蛋白表面的 EP 肽段结合; 第二步是 Fe^{2+} 在 EP 表面被 O_2 氧化成 Fe^{3+} ; 第三步是 Fe^{3+} 诱导铁蛋白发生聚合; 第四步是在 Fe^{3+} 转移到铁蛋白内部的同时铁蛋白发生解聚.

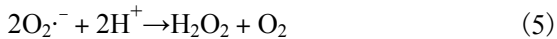
2.2 铁蛋白铁还原释放机理

铁蛋白的铁释放反应具体是指当细胞需要铁时

(Fe^{2+} 浓度低),铁蛋白在还原剂的作用下将空腔内的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,并使铁从其内部释放出来供机体其他生命活动所利用.由于这一反应与植物及动物细胞的生长过程密切相关,因此其具有非常重要的生理意义^[20].铁蛋白释放铁动力学研究结果显示,铁蛋白释放铁的动力学曲线无法用常规的零级、一级或二级反应动力学公式来阐明^[33].根据Harrison等^[34]提出的铁蛋白释放模型可知,连二亚硫酸钠只能通过浓度扩散方式穿过铁蛋白外壳进入铁核中,并以1/2级的方式参与铁蛋白还原释放.Huang等^[35]则提出铁蛋白以两种不同速率的途径释放铁,并建立相关动力学方程,较为合理地解释了铁的释放机理.Fu等^[36]研究发现大豆铁蛋白的EP片段有类丝氨酸蛋白酶活性,进而可以导致铁蛋白的自降解,与这一过程相伴随的是铁的快速释放.

2.3 铁蛋白的生物活性

研究发现,当机体内 Fe^{2+} 浓度过高时,会诱发Haber-weiss反应,产生自由基^[37],如式(4)、(5)、(6)所示.尤其以羟基自由基反应极强,会导致心脏、肝脏、肾脏、脾脏等机体组织受损,增加罹患癌症的风险.更重要的是,过量的铁会在脑部沉积,造成中枢神经系统疾患,典型例子是帕金森病和阿尔茨海默病.



铁蛋白可以将多余的 Fe^{2+} 经过氧化沉淀以三价铁的形式储存在铁蛋白内部,从而避免此类损伤(去毒反应).铁蛋白通过储存与释放铁离子调节生物体内铁的平衡,是生物体内铁代谢过程中一个非常重要的参与者.

3 铁蛋白的应用

3.1 豆科植物铁蛋白的补铁功能

缺铁性贫血(iron deficiency anemia, IDA)是当今世界发病率最高的营养性疾病之一.如何改善人类铁缺乏症状,是全世界迫切需要解决的问题.以亚铁离子形式为代表的补铁制剂,副作用大,且服用过多的 Fe^{2+} 会诱发Fenton反应产生自由基,对胃肠道产生严重刺激,甚至可能引发疾病^[38].

以豆科植物种子铁蛋白为代表的植物铁蛋白被认为是未来一种天然安全的非血红素补铁因子^[1,37].

在日常接触的食物中,相较于其他铁来源,豆科作物种子中铁蛋白含量(大约为50~70 mg/kg)最为丰富.因此,豆科类植物是植物源补铁制剂开发的良好原料,其中以大豆种子铁蛋白研究最多,其被认为是一种新型的功能性补铁因子^[39-40].

最近研究者以同量铁源的马脾脏铁蛋白、大豆种子铁蛋白以及硫酸亚铁喂食缺铁老鼠,21 d后发现3种处理的老鼠体内血红蛋白含量均达到对照水平,由于大豆种子中的铁主要以铁蛋白的形式存在,该实验说明大豆种子铁蛋白中铁的利用度能够达到硫酸亚铁的水平^[41].Yun等^[42]则通过动物实验研究表明,大豆铁蛋白粗提物和硫酸亚铁在提升大鼠红细胞数、血红蛋白浓度、血清铁蛋白和血清铁水平上具有相同效果.另外,来自于人体试验的结果也表明大豆铁蛋白和硫酸亚铁中的铁对于缺铁性贫血的治疗有同样的效果(分别将血红蛋白提升30%和34%)^[43].在人体铁吸收方面,Murray-Kolb等^[44]利用两种大豆原料饮食类型(粥和松饼),对18位患有铁缺乏症的妇女进行补铁效果研究.研究发现,两种大豆源饮食都有助于患者铁的吸收,证明大豆是一种良好的铁元素补充剂.Lönnerdal等^[45]研究了大豆铁蛋白的铁吸收效果,通过比较受试者对 FeSO_4 和大豆铁蛋白的铁吸收效果,结果表明受试者的全身铁吸收状况在大豆铁蛋白与 FeSO_4 组之间没有显著性差异,具有相似的补铁效果.综合以上研究结果表明,豆科类食源铁蛋白与硫酸亚铁具有相同的补铁效果,但铁蛋白存储的铁为三价铁,毒性较低,这与硫酸亚铁形成了鲜明的对比.由此可见,豆科类食源铁蛋白能够有效地预防缺铁性贫血,是非常安全的铁营养源.

3.2 铁蛋白装载食品营养因子

3.2.1 铁蛋白装载水溶性花青素

花青素(anthocyanidin),又称花色素,是一类广泛存在于植物中的水溶性黄酮类化合物,也是水果、蔬菜、花卉等植物颜色来源之一.花青素的基本结构单元是2-苯基苯并吡喃,即花色基元(flavylium).根据花色基元各碳位取代基的不同(羟基或甲氧基),形成各式各样的花青素.天然的花青素往往与各种单糖形成糖苷,以花色苷(anthocyanin)的形式存在^[46],具有消炎活性、抗癌活性以及抗氧化活性^[47-49].很多环境因素如温度、pH、光照、氧气等都能影响花青素的稳定性并使其降解.此外,金属离子、食品中的酶、抗坏血酸、氨基酸、糖类及其降解产物等,根据种类和数量的不同,也可能加速或缓解花色苷的降解^[50].

铁蛋白具有独特的可逆组装性质. 即在变性条件下, 铁蛋白能够解离为单亚基状态, 当环境恢复中性条件时, 铁蛋白亚基又重新组装, 形成球形空壳状(如图3所示). Zhang等^[51]利用大豆铁蛋白 rH-2 的可逆组装性质包埋花色苷 cyanidin-3-O-glucoside (C3G), 发现其包埋率为 37.5(摩尔浓度比: C3G/ferritin = 37.5), 研究发现包埋后的复合物使 C3G 的热稳定性和光稳定性都得到了提高; 而且, 通过分析花色苷和包埋复合物的 Caco-2 单细胞吸收和黏附效果, 结果表明相较于单体 C3G, 铁蛋白复合物细胞吸收活性更高.

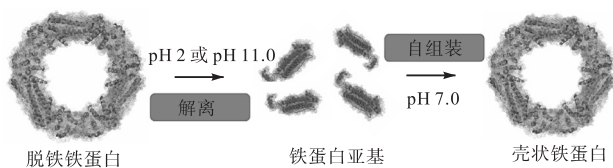
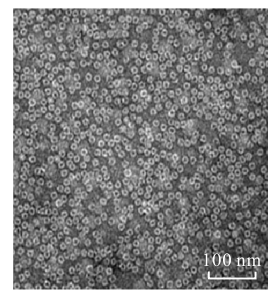


图3 铁蛋白可逆组装性质

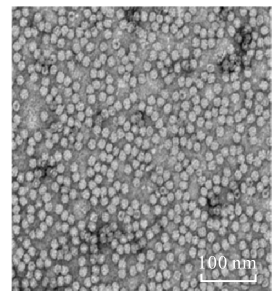
Fig. 3 Characteristics of ferritin reversible assembly

3.2.2 铁蛋白包埋脂溶性营养因子

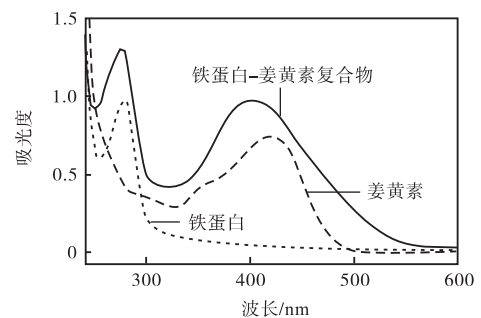
食品中存在着许多天然的脂溶性活性物质, 如 β -胡萝卜素、脂溶性维生素、某些黄酮类物质等. 这些物质都具有一些有益人体健康的生理功能, 如抗氧化、抗炎、抗肿瘤等. 然而由于这类化合物的水不溶性以及不稳定性, 限制了其在食品工业中的应用. 有研究表明, 给大鼠按体质量 1 g/kg 的剂量口服姜黄素时, 大约有 75% 随粪便排出, 尿液中的含量也微乎其微; 对血液和胆汁中的姜黄素含量进行测定时发现, 姜黄素很难从肠道直接被吸收, 在肠道以外器官的含量更是无法达到发挥生物学效应的浓度^[52], 因而在代谢过程中, 此类水溶性较差的营养素降低了其生物利用度, 使之还未发挥生理功能就被快速代谢并且排出体外. Chen等^[53]以铁蛋白(rHuHF)为原料, 利用铁蛋白的可逆组装特性, 成功制备了 rHuHF- β -胡萝卜素包埋物, 平均每分子 rHuHF 包埋 12.4 个 β -胡萝卜素分子. 研究后发现, 包埋复合物相比单体 β -胡萝卜素分子, 其水溶性和热稳定性都得到了显著提高. 另外, 他们还以姜黄素为研究对象成功制备了 rHuHF-姜黄素包埋物(图4), 测定发现每分子铁蛋白可以包埋约 14.7 个姜黄素分子. 该包埋并没有改变铁蛋白的形态(图4(a)和4(b)), 但是其全波长扫描图谱发生了明显改变(图4(c)), 这可能是铁蛋白与姜黄素相互作用导致的. 更重要的是, 包埋后的复合物相对于单体姜黄素分子其水溶性也极大提高(图4(d)), 热稳定性和光稳定性也得到改善^[54].



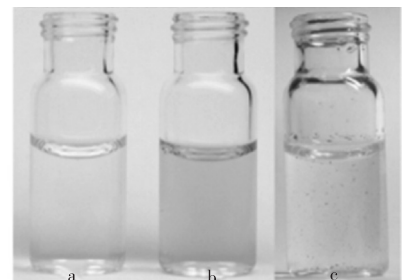
(a) 脱铁铁蛋白透射电镜图



(b) 铁蛋白-姜黄素复合物透射电镜图



(c) 紫外-可见光扫描图



铁蛋白水溶液 铁蛋白-姜黄素复合物水溶液 姜黄素水溶液

(d) 不同样品照片图

图4 铁蛋白包埋姜黄素的性质变化

Fig. 4 Characteristic changes of curcumin encapsulated by apoferritin

以上结果均表明铁蛋白作为食品活性因子载体具有良好的促水溶性、促稳定性的功能. 该铁蛋白-脂溶性营养素包埋物的制备为后续细胞吸收活性及动物人体试验研究奠定了基础.

3.3 铁蛋白在药物靶向运输中的应用

铁蛋白的壳状结构在医学领域也具有广泛的应用. 例如, 在癌细胞治疗方面, 铁蛋白可以作为基于铂金属化合物的运输载体, 能够克服单纯铂类药物的毒性, 并且能促进此类抗癌药物的细胞吸收^[55]. Zhen等^[56]利用铁蛋白包埋脂溶性光敏剂 $ZnF_{16}Pc$ (1 mg 铁蛋白可以包埋 1.5 mg $ZnF_{16}Pc$), 使包埋后的铁蛋白大小在 18.6 nm 左右, 并且具有良好的水溶性. 研究发现该包埋物对 U87MG 皮下肿瘤细胞具有抑制

活性,然而对其他正常细胞却几乎没有毒性,显示出良好的肿瘤细胞治疗活性.

在癌细胞检测方面,通过在铁蛋白表面分别连接了荧光染料 Cy5.5 和淬灭剂 BHQ-3,达到检测癌细胞的目的^[57].其基本原理是荧光剂 Cy5.5 通过一个特殊的肽段 PLGVR 与铁蛋白连接,该肽段能够被细胞癌变时大量分泌的 MMP(基质金属蛋白酶)所识别并水解,从而释放荧光信号.具体过程为,首先当将两种不同标记的铁蛋白在 pH 2.0 时混合在一起时,蛋白质亚基解离,然后恢复至 pH 7.4 时,亚基自组装重新形成杂聚的铁蛋白,表现出荧光淬灭现象.随后,当杂聚铁蛋白分子进入体内到达癌细胞时,MMP 将 PLGVR 肽段水解释放出 Cy5.5,从而在癌细胞附近显示出荧光,利用这一方法可以用于癌细胞检测.

在医学生物检测领域,有研究报道将铁蛋白外表面标记荧光基团,并在内部装载铁氰化物 hexacyanoferrate(III),制成的复合物被作为生物检测标签用于荧光免疫分析和电化学免疫分析,其对免疫球蛋白 IgG 的检测限值可分别达到 0.06 ng/mL 和 0.08 ng/mL^[58-59].

4 结 语

豆科植物铁蛋白是一类铁贮存蛋白质,其分子结构保守,外形呈球状,24 个亚基可组成一个特殊的笼状蛋白质外壳.豆科植物铁蛋白本身就是一种天然可食的安全的营养物质,且能够维持生物体内铁的动态平衡,具有铁储存和避免铁毒害的双重生理功能.通过大量的动物和人体试验研究表明,豆科植物铁蛋白是一种有效的铁营养源,相比 FeSO₄ 铁补充剂,具有安全无毒的特点,且补铁效果良好.除了补铁方面的研究之外,铁蛋白在构建食品营养小分子载体方面也显现出了一定潜力.利用铁蛋白的可逆组装性质,食品小分子营养因子可以被包裹在其内部形成复合体结构.该复合体可以克服营养素溶解度低的缺点,进而大大提高了其生物利用率.另外,铁蛋白外壳具有良好的稳定性,将不稳定的活性物质包埋到铁蛋白内部空腔以后可以使其与复杂的外界环境隔绝开来,以适应各种食品加工条件,有效地保护活性成分,提高活性分子的稳定性.此外,铁蛋白纳米载体在癌症治疗、免疫检测、医学成像领域也越来越受到国内外科科研工作者的关注.因此,作为一种天然的纳米载体,豆科植物铁蛋白在食品、医学领域的

应用前景必将更加广阔.

参考文献:

- [1] 杨秀丽,张拓,李美良,等.植物铁蛋白:新型的补铁功能因子[J].食品科技,2010,35(7):76-80.
- [2] 宁春红,杨东鹤,蔡秋艺,等.植物铁蛋白与植物发育[J].黑龙江农业科学,2007(4):103-104.
- [3] Lü Chenyan, Liu Wenying, Zhao Guanghua. A novel homopolymeric phytoferritin from chickpea seeds with high stability[J]. European Food Research and Technology, 2014, 239(5): 777-783.
- [4] Li Meiliang, Yun Shaojun, Yang Xiuli, et al. Stability and iron oxidation properties of a novel homopolymeric plant ferritin from adzuki bean seeds: A comparative analysis with recombinant soybean seed H-1 chain ferritin[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2013, 1830(4): 2946-2953.
- [5] Li Chaorui, Fu Xiaoping, Qi Xin, et al. Protein association and dissociation regulated by ferric ion: A novel pathway for oxidative deposition of iron in pea seed ferritin[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(25): 16743-16751.
- [6] Masuda T, Goto F, Yoshihara T. A novel plant ferritin subunit from soybean that is related to a mechanism in iron release[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(22): 19575-19579.
- [7] Ragland M, Briat J F, Gagnon J, et al. Evidence for conservation of ferritin sequences among plants and animals and for a transit peptide in soybean[J]. Journal of Biological Chemistry, 1990, 265(30): 18339-18344.
- [8] Curic C, Briat J F. Iron transport and signaling in plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2003, 54: 183-206.
- [9] Deák M, Horváth G V, Davletova S, et al. Plants ectopically expressing the ironbinding protein, ferritin, are tolerant to oxidative damage and pathogens[J]. Nature Biotechnology, 1999, 17(2): 192-196.
- [10] Ravet K, Touraine B, Boucherez J, et al. Ferritins control interaction between iron homeostasis and oxidative stress in *Arabidopsis*[J]. Plant Journal, 2009, 57(3): 400-412.
- [11] Lawson D M, Artymiuk P J, Yewdall S J, et al. Solving the structure of human H ferritin by genetically engineering intermolecular crystal contacts[J]. Nature, 1991, 349(6309): 541-544.
- [12] Harrison P M, Arosio P. The ferritins: Molecular properties, iron storage function and cellular regulation[J].

- Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Bioenergetics, 1996, 1275(3):161–203.
- [13] Chasteen N D, Harrison P M. Mineralization in ferritin: An efficient means of iron storage[J]. Journal of Structural Biology, 1999, 126(3):182–194.
- [14] Li M, Jia X, Yang J, et al. Effect of tannic acid on properties of soybean (*Glycine max*) seed ferritin: A model for interaction between naturally-occurring components in foodstuffs[J]. Food Chemistry, 2012, 133(2):410–415.
- [15] Masuda T, Goto F, Yoshihara T, et al. Crystal structure of plant ferritin reveals a novel metal binding site that functions as a transit site for metal transfer in ferritin[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(6):4049–4059.
- [16] Laulhere J P, Laboure A M, Briat J F. Mechanism of the transition from plant ferritin to phytosiderin[J]. Journal of Biological Chemistry, 1989, 264(6):3629–3635.
- [17] Masuda T, Goto F, Yoshihara T. A novel plant ferritin subunit from soybean that is related to a mechanism in iron release[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(22):19575–19579.
- [18] Zhao G. Phytoferritin and its implications for human health and nutrition[J]. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-General Subjects, 2010, 1800(8):815–823.
- [19] Liao Xiayun, Yun Shaojun, Zhao Guanghua. Structure, function, and nutrition of phytoferritin: A newly functional factor for iron supplement[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2014, 54(10):1342–1352.
- [20] Lobreaux S, Briat J F. Ferritin accumulation and degradation in different organs of pea (*Pisum sativum*) during development[J]. Biochemical Journal, 1991, 274:601–606.
- [21] Li C, Hu X, Zhao G. Two different H-type subunits from pea seed (*Pisum sativum*) ferritin that are responsible for fast Fe(II) oxidation[J]. Biochimie, 2009, 91(2):230–239.
- [22] Deng Jianjun, Liao Xiayun, Yang Haixia, et al. Role of H-1 and H-2 subunits of soybean seed ferritin in oxidative deposition of iron in protein[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(42):32075–32086.
- [23] Masuda T, Goto F, Yoshihara T, et al. Construction of homo-and heteropolymers of plant ferritin subunits using an in vitro protein expression system[J]. Protein Expression and Purification, 2007, 56(2):237–246.
- [24] Ragland M, Briat J F, Gagnon J, et al. Evidence for conservation of ferritin sequences among plants and animals and for a transit peptide in soybean[J]. Journal of Biological Chemistry, 1990, 265(30):18339–18344.
- [25] Bou-Abdallah F, Zhao G, Biasiotto G, et al. Facilitated diffusion of iron(II) and dioxygen substrates into human H-chain ferritin. A fluorescence and absorbance study employing the ferroxidase center substitution Y34W[J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, 130(52):17801–17811.
- [26] Zhao Guanghua, Bou-Abdallah F, Arosio P, et al. Multiple pathways for mineral core formation in mammalian apoferritin. The role of hydrogen peroxide[J]. Biochemistry, 2003, 42(10):3142–3150.
- [27] Lü Chenyan, Bai Yufei, Yang Senpeng, et al. NADH induces iron release from pea seed ferritin: A model for interaction between coenzyme and protein components in foodstuffs[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4):3851–3858.
- [28] Xu B, Chasteen N D. Iron oxidation chemistry in ferritin. Increasing Fe/O₂ stoichiometry during core formation[J]. Journal of Biological Chemistry, 1991, 266(30):19965–19970.
- [29] Treffry A, Bauminger E R, Hechel D, et al. Defining the roles of the threefold channels in iron uptake, iron oxidation and iron-core formation in ferritin: A study aided by site-directed mutagenesis[J]. Biochemical Journal, 1993, 296:721–728.
- [30] Sun S, Arosio P, Levi S, et al. Ferroxidase kinetics of human liver apoferritin, recombinant H-chain apoferritin, and site-directed mutants[J]. Biochemistry, 1993, 32(36):9362–9369.
- [31] Zhao Guanghua, Ceci P, Ilari A, et al. Iron and hydrogen peroxide detoxification properties of DNA-binding protein from starved cells. A ferritin-like DNA-binding protein of *Escherichia coli*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(31):27689–27696.
- [32] Yang X, Chen-Barrett Y, Arosio P, et al. Reaction paths of iron oxidation and hydrolysis in horse spleen and recombinant human ferritins[J]. Biochemistry, 1998, 37(27):9743–9750.
- [33] Richards T D, Pitts K R, Watt G D. A kinetic study of iron release from *Azotobacter vinelandii* bacterial ferritin[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 1996, 61(1):1–13.
- [34] Harrison P M, Hoy T G, Macara I G, et al. Ferritin iron uptake and release. Structure-function relationships[J]. Biochemical Journal, 1974, 143:445–451.
- [35] Huang Heqing, Xu Liangshu, Zhang Fengzhang, et al. H₂-uptake activity, spectra, reduction potentials, and ki-

- netics of iron release on the surface of iron core from *Azobacter vinelandii* bacterial ferritin[J]. Journal of Protein Chemistry, 1998, 17(1): 45–52.
- [36] Fu Xiaoping, Deng Jianjun, Yang Haixia, et al. A novel EP-involved pathway for iron release from soya bean seed ferritin[J]. Biochemical Journal, 2010, 427(2): 313–321.
- [37] Wang A, Zhou K, Qi X, et al. Phytoferritin association induced by EGCG inhibits protein degradation by proteases[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2014, 69(4): 386–391.
- [38] Grady J K, Chen Y, Chasteen N D, et al. Hydroxyl radical production during oxidative deposition of iron in ferritin[J]. Journal of Biological Chemistry, 1989, 264(34): 20224–20229.
- [39] Theil E C. Iron, ferritin, and nutrition[J]. Annual Review of Nutrition, 2004, 24: 327–343.
- [40] Lönnerdal B. Soybean ferritin: Implications for iron status of vegetarians[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2009, 89(5): 1680S–1685S.
- [41] Beard J L, Burton J W, Theil E C. Purified ferritin and soybean meal can be sources of iron for treating iron deficiency in rats[J]. Journal of Nutrition, 1996, 126(1): 154–160.
- [42] Yun Shaojun, Zhang Tuo, Li Meiliang, et al. Proanthocyanidins inhibit iron absorption from soybean (*Glycine max*) seed ferritin in rats with iron deficiency anemia[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2011, 66(3): 212–217.
- [43] Lönnerdal B, Bryant A, Liu X, et al. Iron absorption from soybean ferritin in nonanemic women[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2006, 83(1): 103–107.
- [44] Murray-Kolb L E, Welch R, Theil E C, et al. Women with low iron stores absorb iron from soybeans[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2003, 77(1): 180–184.
- [45] Lönnerdal B, Bryant A, Liu X, et al. Iron absorption from soybean ferritin in nonanemic women[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2006, 83: 103–107.
- [46] Giusti M M, Rodríguez-Saona L E, Wrolstad R E. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(11): 4631–4637.
- [47] Wang Haibo, Nair M G, Strasburg G M, et al. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries[J]. Journal of Natural Products, 1999, 62(2): 294–296.
- [48] Kamei H, Kojima T, Hasegawa M, et al. Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro[J]. Cancer Investigation, 1995, 13(6): 590–594.
- [49] Wang Hong, Cao Guohua, Prior R L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(2): 304–309.
- [50] Markakis P. Anthocyanins as Food Colors[M]. New York: Academic Press, 1982: 163–180.
- [51] Zhang Tuo, Lü Chenyan, Chen Lingli, et al. Encapsulation of anthocyanin molecules within a ferritin nanocage increases their stability and cell uptake efficiency[J]. Food Research International, 2014, 62: 183–192.
- [52] Anand P, Kunnumakkara A B, Newman R A, et al. Bioavailability of curcumin: Problems and promises[J]. Molecular Pharmaceutics, 2007, 4(6): 807–818.
- [53] Chen Lingli, Bai Guangling, Yang Rui, et al. Encapsulation of β -carotene within ferritin nanocages greatly increases its water-solubility and thermal stability[J]. Food Chemistry, 2014, 149: 307–312.
- [54] Chen Lingli, Bai Guangling, Yang Senpei, et al. Encapsulation of curcumin in recombinant human H-chain ferritin increases its water-solubility and stability[J]. Food Research International, 2014, 62: 1147–1153.
- [55] Xing Ruimin, Wang Xiaoyong, Zhang Changli, et al. Characterization and cellular uptake of platinum anticancer drugs encapsulated in apoferritin[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2009, 103(7): 1039–1044.
- [56] Zhen Zipeng, Tang Wei, Guo Cunlan, et al. Ferritin nanocages to encapsulate and deliver photosensitizers for efficient photodynamic therapy against cancer[J]. ACS Nano, 2013, 7(8): 6988–6996.
- [57] Lin Xin, Xie Jin, Zhu Lei, et al. Hybrid ferritin nanoparticles as activatable probes for tumor imaging[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2011, 50(7): 1569–1572.
- [58] Liu Guodong, Wang Jun, Wu Hong, et al. Versatile apoferritin nanoparticle labels for assay of protein[J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(21): 7417–7423.
- [59] Liu Guodong, Wang Jun, Lea S A, et al. Bioassay labels based on apoferritin nanovehicles[J]. Chembiochem, 2006, 7(9): 1315–1319.