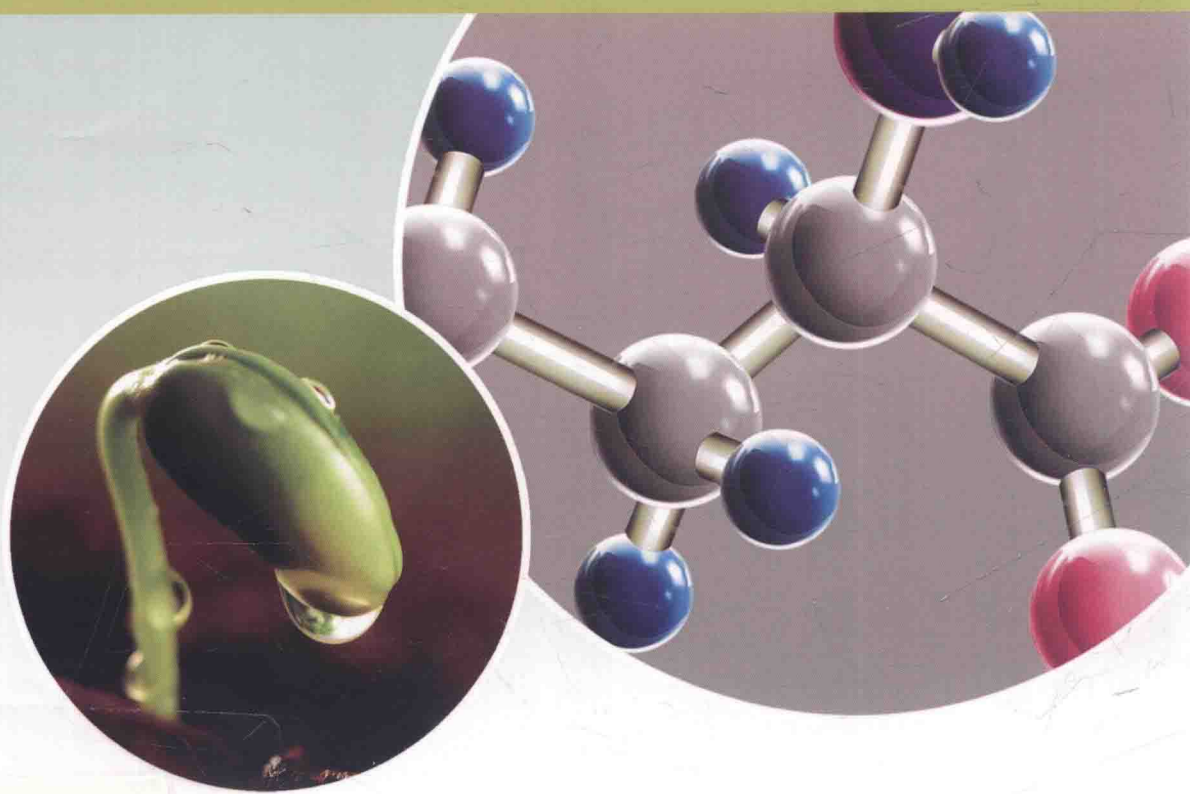


# 植物铁蛋白

## 结构与功能研究

© 云少君 著

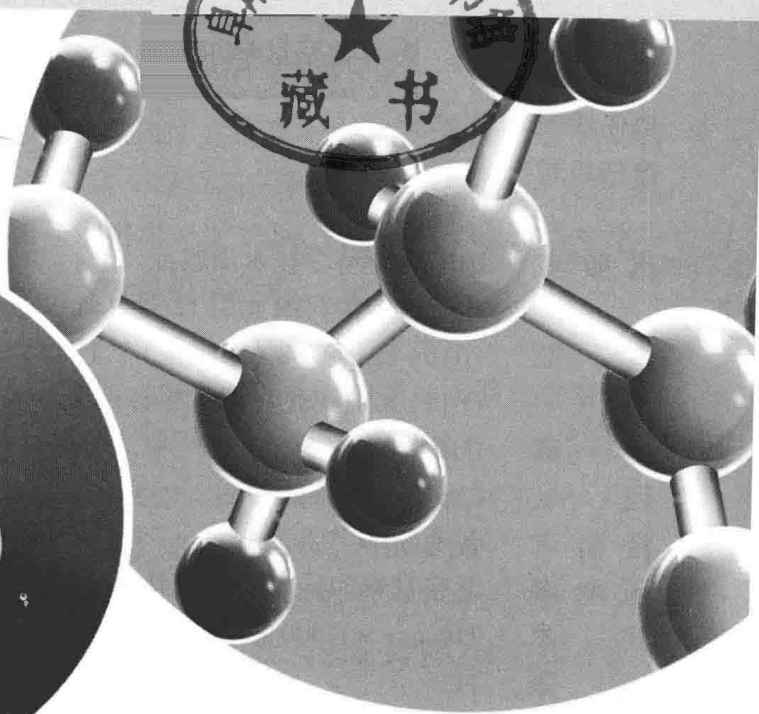
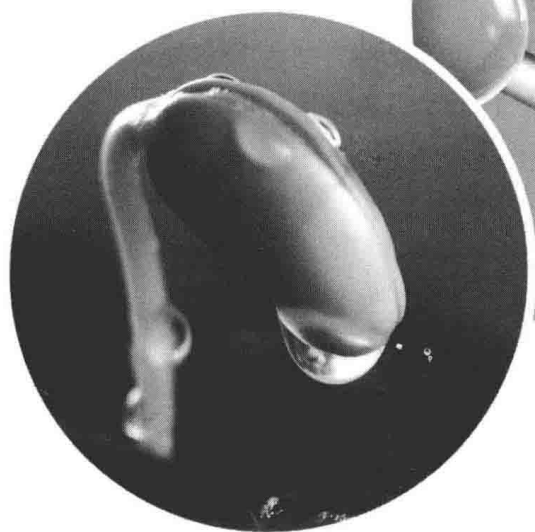


中国农业科学技术出版社

# 植物铁蛋白

## 结构与功能研究

◎ 云少君 著



中国农业科学技术出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

植物铁蛋白结构与功能研究/云少君著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2014. 12

ISBN 978 - 7 - 5116 - 1900 - 6

I. ①植… II. ①云… III. ①植物蛋白 - 铁蛋白 - 研究  
IV. ①Q946. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 269604 号

责任编辑 张孝安  
责任校对 马广洋

出版者 中国农业科学技术出版社  
北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081  
电 话 (010) 82109708 (编辑室) (010) 82106624 (发行部)  
(010) 82109703 (读者服务部)  
传 真 (010) 82106650  
网 址 <http://www.castp.cn>  
经 销 者 各地新华书店  
印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司  
开 本 710 mm × 1 000 mm 1/16  
印 张 11  
字 数 180 千字  
版 次 2014 年 12 月第 1 版 2015 年 6 月第 2 次印刷  
定 价 38.00 元

❖ 版权所有 · 翻印必究 ❖

# 前 言

## PREFACE

铁蛋白具有储存铁及调节体内铁平衡的功能，它广泛存在于大多数生物体中。和动物铁蛋白相比，关于植物铁蛋白的研究至今很少。目前已知，植物铁蛋白主要存在于淀粉体中，而动物铁蛋白则主要存在于细胞质中。植物铁蛋白和动物铁蛋白相比，其在结构上有两个明显的特征：第一，植物铁蛋白 N 端含有 EP 肽段，而动物铁蛋白则不具有。EP 位于铁蛋白蛋白质外壳表面，现今发现它是作为铁蛋白第二个亚铁氧化中心，参与铁结合、氧化及种子萌发与早期生长的铁释放过程；第二，在植物铁蛋白中只含有 H 亚基，即 H-1 和 H-2，二者保持 80% 的同源性，这两个亚基在铁氧化沉淀中起着很好的协同作用。笔者在中国农业大学攻读博士期间，在导师赵广华教授亲切关怀和指导培养下，经过努力，对豆科类种子铁蛋白分离提取及其补铁活性做了大量系统性研究，积累了宝贵的科研经验。笔者在收集整理历年诸多科研一线资料的基础上，系统总结、精心提炼，用时一年多撰写了这本书。希望本书能对从事食品科学、营养学、生物化学以及分子生物学等研究人员和其他相关人员提供参考。

本书是以笔者参加的项目“EP 肽段诱导大豆铁蛋白降解机理及其生物学功能研究”（国家自然科学基金，31271826）；现主持承担的项目“原花青素去除大鼠体内过量铁机理研究”（山西农业大学引进人才科研启动基金，2013YJ30）等项目的研究成果为基础而撰写的。在课题的组织申报和科研实施过程中，得到中国农业大学食品科学与营养工程学院赵广华教授的指导和帮助。

在课题实施及著作写作中，得到山西农业大学食品科学与工程学院院长王晓闻教授、食品质量与安全系主任冯翠萍教授，以及山西农业大学科技处杨万仓处长的支持和协助，在此表示衷心的感谢！由于时间所限，书中不足之处在所难免，敬请广大读者给予批评指正。

云少君

2014 年 10 月

# 目 录

## CONTENTS

第一章 生物体内的铁 .....	(1)
第一节 铁的生理学意义 .....	(1)
一、铁在生物体内的分布 .....	(1)
二、铁的生物学功能 .....	(2)
三、铁对人类神经系统的影响 .....	(3)
第二节 铁在人体内的代谢 .....	(4)
一、铁的来源及生理需要量 .....	(4)
二、铁的吸收 .....	(4)
三、铁的排泄 .....	(5)
第三节 生物体内铁失衡的危害 .....	(6)
一、铁过量的相关疾病 .....	(6)
二、铁缺乏的相关疾病 .....	(6)
第二章 植物铁蛋白的分子结构 .....	(8)
第一节 植物铁代谢 .....	(8)
一、植物铁的吸收 .....	(8)
二、植物铁运输 .....	(10)
第二节 植物铁蛋白概述 .....	(11)
一、铁蛋白分子结构的一般特性 .....	(11)
二、植物铁蛋白结构的特殊性 .....	(11)
三、铁蛋白铁吸收反应研究进展 .....	(13)
四、植物铁蛋白中铁的还原释放——EP 参与的铁释放的途径 .....	(16)
五、植物铁蛋白作为补铁制剂的研究现状 .....	(16)

第三章 饮食铁吸收途径的概述 .....	(19)
第一节 饮食铁的吸收部位及其吸收通路 .....	(19)
第二节 铁吸收途径概述 .....	(20)
一、非血红素的铁吸收 .....	(20)
二、血红素的铁吸收 .....	(20)
三、铁蛋白旁路介导的铁吸收 .....	(21)
四、铁输出者：铁转运蛋白 .....	(21)
五、转铁蛋白受体介导的铁吸收 .....	(22)
第四章 豆科类种子铁蛋白的分离纯化及表征 .....	(25)
第一节 蛋白质分离纯化技术概述 .....	(25)
一、蛋白质特性与分离纯化技术的选择 .....	(26)
二、蛋白质分离纯化的一般程序 .....	(31)
第二节 大豆、豌豆、蚕豆种子铁蛋白分离纯化及表征 .....	(32)
一、豆科类种子铁蛋白分离纯化步骤 .....	(32)
二、豆科类种子铁蛋白的聚丙烯酰胺凝胶电泳 .....	(35)
三、豆科类种子铁蛋白 Western-blot 分析 .....	(40)
四、肽质量指纹图谱 (PMF) 及肽序列分析 .....	(45)
第三节 大豆、豌豆、蚕豆种子铁蛋白性质的研究 .....	(50)
一、rH-1、rH-2 组装铁核 .....	(50)
二、PSF、SSF、BBSF、rH-1、rH-2 的还原释放动力学 .....	(50)
三、脱铁铁蛋白的制备 .....	(52)
四、蚕豆铁蛋白的铁吸收活性研究 .....	(52)
五、静态光散射测定蚕豆铁蛋白聚合动力学 .....	(55)
六、蚕豆铁蛋白的自降解 .....	(56)
第五章 豆科类种子铁蛋白补铁的细胞实验研究 .....	(59)
第一节 Caco-2 细胞及细胞培养概述 .....	(60)
一、Caco-2 细胞简介 .....	(60)
二、细胞培养——肿瘤细胞培养 .....	(63)
三、细胞培养技术的应用研究 .....	(74)

第二节 RNAi 与基因沉默 .....	(75)
一、RNAi 技术及其实验操作 .....	(75)
二、基因沉默 .....	(83)
三、基因沉默机制 .....	(84)
四、防止基因沉默的对策 .....	(85)
五、与基因沉默相关的特殊基因 .....	(86)
第三节 Caco-2 细胞吸收豆科类种子铁蛋白的研究 .....	(86)
一、Caco-2 细胞 <i>TfR1</i> 基因的沉默 .....	(88)
二、Caco-2 细胞的补铁实验研究 .....	(96)
第六章 大豆铁蛋白的动物水平补铁效果评价以及原花青素对补铁效果的影响 .....	(101)
第一节 植物缺铁概述 .....	(102)
一、铁元素在土壤中的含量 .....	(102)
二、植物缺铁反应机理及其影响因素 .....	(102)
三、铁在体内运输及利用 .....	(104)
第二节 缺铁性贫血概述 .....	(104)
一、缺铁性贫血的影响因素 .....	(105)
二、缺铁性贫血的分期 .....	(105)
三、缺铁性贫血诊断依据 .....	(106)
四、缺铁性贫血治疗方法 .....	(107)
第三节 原花青素对大豆铁蛋白补铁效果的影响 .....	(107)
一、原花青素概述 .....	(108)
二、野生型大豆铁蛋白粗蛋白粉的分离提取及动物实验 .....	(116)
第七章 植物铁蛋白的开发利用 .....	(124)
第一节 植物铁蛋白在补铁方面的应用 .....	(124)
一、植物铁蛋白的抗消化能力 .....	(125)
二、以缺铁性小鼠为模型研究植物铁蛋白的补铁功能 .....	(125)
三、植物铁蛋白补铁功能的人体实验 .....	(125)
第二节 植物铁蛋白的补钙功能 .....	(127)

第三节 植物铁蛋白在生物纳米体系中的应用·····	(129)
一、矿化成核储存矿质元素·····	(130)
二、肽段序列修饰或基因改造铁蛋白储存金属元素·····	(130)
三、还原成金属单质沉积储存金属元素·····	(130)
第四节 植物铁蛋白的其他功能·····	(132)
一、铁蛋白与非生物胁迫·····	(134)
二、铁蛋白与生物胁迫·····	(134)
三、抗氧化功能·····	(134)
第八章 植物铁蛋白的现状与未来·····	(135)
第一节 现阶段存在的问题·····	(135)
第二节 植物铁蛋白未来的发展趋势·····	(136)
参考文献·····	(138)



# 第一章 生物体内的铁

## 第一节 铁的生理学意义

铁是维持生命的主要物质之一，是红细胞成熟过程中合成血红蛋白必不可少的原料。铁也是组织代谢不可缺少的物质，缺铁可引起多种组织改变和功能失调。

### 一、铁在生物体内的分布

铁在生命过程中起着重要的作用，是生物体生存所必需的矿物质元素。在成年女性和男性体内，铁分别约占 35mg/kg 体重和 45mg/kg 体重。体内总铁量的 60% ~ 70% 存在于循环的红细胞的血红素中，另外，10% 以肌红蛋白、细胞色素和含铁的酶的形式存在，这部分铁含量为 4 ~ 8mg。在健康人体内，剩余的 20% ~ 30% 的铁以铁蛋白和含铁血黄素的形式存在于肝细胞和网织巨噬细胞中。

多数植物的铁含量为 100 ~ 300mg/kg。不同植物种类和部位的铁含量则有一定的差异，水稻、玉米的含铁量一般比较低，为 60 ~ 180mg/kg，而且玉米中大部分铁沉积在茎节，其叶片中铁含量却很低。Terry 等报道，叶片中 60% 的铁被固定在叶绿体的类囊体膜上，20% 在叶绿体基质中贮存，其余的 20% 则在叶绿体外。当植物受到缺铁胁迫时，叶绿体基质中的铁大部分被再利用，类囊体膜上的铁和叶绿体外的结构铁损失很多，叶片中全铁含量的 9% 以铁血红素形式存在，19% 则以非铁血红素蛋白形式存在，主要包括铁氧还蛋白、类囊体组分、顺乌头酸酶、亚硝酸还原酶、亚硫酸还原酶等。其余多以铁蛋白形式存在，铁蛋白含量约占叶片全铁含量的 63%，但豆科类的种子是将其总铁的 90% 储藏在位于淀粉体的植物铁蛋白中。

## 二、铁的生物學功能

与转铁蛋白结合的铁量小于体内总铁量的 1% (大约 4mg), 但是, 这部分铁却是体内最有意义的铁池, 因为其具有最高的转换力。转铁蛋白结合的铁大约为 25mg/d。在转铁蛋白结合的铁中, 80% 是转运到骨髓中合成红细胞。在这些部位, 网织红细胞释放幼红细胞至血液中, 在 1d 内, 其发展为成熟的红细胞, 在血液中大约循环 120d。因为红细胞日需要铁的最高量为 20mg, 合成血红蛋白的铁主要来自于红细胞破碎释放的铁和血浆中循环的铁。网织内皮巨噬细胞消化衰老的红细胞后释放血色素分子到血液循环中, 再到线粒体中的铁吸收至原卟啉 IV 后通过亚铁螯合酶形成血色素分子, 进而完成一个重要的血色素合成循环。因此, 铁在氧气运输中起着重要的作用。

作为人体内重要的一种金属, 铁在细胞代谢的过程中也起着重要的角色, 例如, DNA、RNA 和蛋白质的合成、电子运输、细胞呼吸、细胞增生和分化、基因表达的调控等。铁代谢一般发生在独特的组织中, 例如睾丸、大脑、小肠、胎盘和骨骼肌中。在肝、脑、红细胞和巨噬细胞中发现有高水平的铁。较为重要的是, 髓磷脂的合成和神经树的发育也需要铁的参与。因此, 铁代谢对于正常的大脑功能, 尤其是学习和记忆能力同样起到重要的作用。

铁通过影响某些基因的转录而影响细胞周期的循环和分化。某些哺乳动物基因的转录, 例如, 蛋白质激酶 C -  $\beta$ , 酸性磷酸酶的 5 型同位酶或者是酒石酸抑制的酸性磷酸酶以及细胞周期蛋白依赖的激酶抑制剂 p21 的转录, 都依赖铁元素的参与。蛋白质激酶 C -  $\beta$  是细胞信号转导通路的蛋白质激酶 C 家族的成员之一, 其对于细胞信号和分化是必需的。在某些细胞类型中蛋白质激酶 C -  $\beta$  的表达是必需的, 其中包括造血细胞等, 铁在这一过程中起到重要的作用。酸性磷酸酶的 5 型同位酶是含铁分子, 主要由单核细胞和巨噬细胞表达, 它可能由子宫转铁蛋白基因编码, 其编码的铁转运分子主要存在于胎盘中。序列分析显示铁反应转录激活部位和血色素反应原件是存在于酸性磷酸酶的 5 型同位酶的启动子区域。因此, 铁和血色素在基因表达上可能起着相反的作用。p21 是细胞周期素依赖的激酶抑制剂家族的成员, p21 的降低可以导致细胞周期素依赖激酶的功能的抑制, 而这些对于控制细胞周期的循环是非常重要的, 会导致细胞循环在 G1 期终止。因此, p21 和蛋白质激酶 C -  $\beta$  的转录能够调控单核细胞和巨噬细胞的细胞分化。在铁缺乏的条件下, p21 的 mRNA 在单核细胞和巨噬细胞是不诱导表达

的，细胞分裂会在 S 期终止。因此，单核细胞和巨噬细胞的凋亡受到精细的调控。这些发现均显示铁会影响 p21 和蛋白质激酶 C- $\beta$  的表达进而关系到细胞的分裂。

铁同时还是许多细胞酶的关键成分，例如氧化酶、过氧化氢酶、过氧化酶、细胞色素酶、核苷酸还原酶、顺乌头酸酶以及一氧化氮合成酶。这些酶在基本的细胞过程中是很关键的，例如，DNA 和 RNA 的合成、电子运输和细胞增生等。铁还参与某些疾病的发生过程，例如，铁量异常病、癌症、神经退行性疾病和衰老。目前，发现在含有高浓度铁的细胞中，载脂蛋白 B100 的 mRNA 和蛋白水平降低 50%，而脑信号蛋白 cd100 和醛糖还原酶的 mRNA 水平是增高的。这些研究证明了铁在某些细胞过程中起着重要的作用，但是，铁在这些过程中所起作用的分子机制目前还不是很清楚。

### 三、铁对人类神经系统的影响

金属离子对现代神经系统疾病的发生发展均有影响，以往的研究结果表明，铜、锌、铝及铁均对大脑发育尤为重要，如铁、铜的浓度不足可引起贫血和发育迟缓，而铜、铝的过量又会导致神经退行性疾病，如帕金森氏症和阿尔茨海默氏病的发生。近年来，铁对人类神经系统影响的研究较为充分。

婴儿期铁营养状况对其行为发育的影响至关重要，婴儿期若缺铁，除引起缺铁性贫血外，其精神发育以及运动发育均与正常儿之间存在差异。缺铁患儿最为典型的表现是易激动或对周围事物缺乏兴趣，学龄儿童则表现为认知能力较差，青少年缺铁表现为注意力、学习记忆能力异常、工作耐力下降，对刺激应答减弱。有研究表明，儿童期缺铁，在 19 年后其认知功能仍低于正常儿童，可见儿童早期的铁缺乏对神经生物学方面的影响深远。

铁是细胞色素蛋白中血红素的关键成分，在细胞呼吸过程中介导线粒体内的电子传递，铁代谢对脑组织的功能活动极为重要，缺铁会影响认知能力的发展，但铁过量也会损害大脑。不同神经发育阶段、不同大脑区域对铁缺失的敏感性各不相同，研究发现在皮质和海马回区域发生的晚期铁缺失与早期铁缺失相比，受铁缺失的影响较小，然而深部小脑核、浅表小脑和丘脑在晚期受铁缺失影响更大，其余区域在这两个阶段没有显著性差异。随着年龄的增长，脑内的铁会随之增加，而大脑对铁代谢紊乱非常敏感，已发现脑组织铁代谢相关蛋白的异常和铁积聚与神经退行性疾病的发生密切相关。铁浓度过高会导致神经元死亡，脑内铁

含量过高通过 Fenton 反应形成过量的氧自由基，导致细胞膜脂质过氧化而引起细胞的凋亡，铁代谢和铁转运相关基因的突变或缺失是引起神经退行性疾病中脑铁代谢紊乱的根本原因，例如，编码铁蛋白轻链的基因突变就能引起患者脑中铁和铁蛋白异常的聚集，从而影响到铁的贮存，最终引起其他铁相关疾病。

## 第二节 铁在人体内的代谢

### 一、铁的来源及生理需要量

人体内铁的来源有两个方面：一是来源于食物中的铁，如动物的肝脏、肾脏、瘦肉、蛋黄和鱼类等；植物的豆类、蔬菜和水果等均含有丰富的铁质，其中，无机铁较多。一般每日的食物中含铁 10 ~ 15mg，平均吸收率为 5% ~ 10%，即每日摄入 0.5 ~ 1.5mg 的铁。二是来源于红细胞破坏释放出来的铁，它的 80% 又重新用于血红蛋白的合成，20% 贮存起来。因此，铁在体内代谢中，可被身体反复利用，排出量很少。人体对铁的生理需要量也是很少的，并且随年龄的变化而变化，另外还有性别、特殊生理期等的差异。中国营养学会制订的中国居民膳食铁参考摄入量：婴幼儿 10 ~ 12mg/d，男青年 20mg/d，女青年 25mg/d，男成人 15mg/d，女成人 20mg/d，孕妇及哺乳期 15 ~ 35mg/d，老年人 15mg/d，可耐受最高量为 50mg/d。

### 二、铁的吸收

食物中的有机铁进入胃，在胃酸及胃蛋白酶的作用下溶解成为无机铁，进入肠被各种还原剂还原为  $\text{Fe}^{2+}$  被肠吸收。无机铁比有机铁易吸收， $\text{Fe}^{2+}$  比  $\text{Fe}^{3+}$  易吸收。铁主要在十二指肠和空肠上段吸收，但也有少量铁在胃内吸收，并且胃液的环境对铁的吸收起着重要作用。 $\text{Fe}^{2+}$  被吸收后在铜蓝蛋白的作用下氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ ，之后与转铁蛋白结合被转运到各组织，在组织细胞内  $\text{Fe}^{3+}$  与转铁蛋白分离并被还原成  $\text{Fe}^{2+}$ ，血浆转铁蛋白将大部分铁转运到骨髓，用于合成 Hb（血红蛋白），小部分运到组织细胞用于合成含铁蛋白或储存。

食物中的铁一般分两大类：血红素铁与非血红素铁。铁在食物中主要以三价铁的形式存在，少数为还原铁形式。肉类等动物性食物中的铁约一半是血红素铁，其他为非血红素铁。前者在体内吸收时，不受膳食中植酸、磷酸的影响，后

者常受膳食因素的影响。非血红素铁在吸收前，必须首先与其结合的有机物如蛋白质、氨基酸和有机酸等分离，再转化为亚铁后方可吸收。与血红素铁的吸收不同，非血红素铁的吸收在很大程度上受膳食因素的影响。

影响铁吸收的因素有以下几方面。

### (一) 摄入铁的量

在一般情况下，机体摄入的铁量增加，其吸收量也增加，虽然大量摄入时吸收的百分率很低，但吸收的绝对量仍然增加。其中，二价铁比三价铁更易吸收。

### (二) 机体状况对铁吸收的影响

#### 1. 胃肠因素

酸性胃液对保持铁的可溶性和还原性是有利的，因此体内缺乏胃酸或服用抗酸药可影响铁的吸收。

#### 2. 造血和铁贮存状况

许多研究证明，铁的吸收与体内铁的需要量和贮存量有关。一般贮存量多时其吸收较低；反之，贮存量低或需要量增加时则吸收率增高。

#### 3. 生长发育和年龄

铁吸收率随婴儿体内铁贮存减少而明显增加，但进入中老年阶段后随着年龄增加，机体对铁的吸收率则逐渐降低。

### (三) 膳食因素

食物的搭配是影响铁吸收的重要因素之一。膳食中的非血红素铁必须转变为 $\text{Fe}^{2+}$ 才能被吸收。植物性食物中的膳食纤维、多酚类化合物、植酸盐、草酸盐等影响其吸收。另外，维生素A、维生素C、维生素 $\text{B}_2$ 、 $\beta$ -胡萝卜素、有机酸、动物性食物及某些单糖、脂类可促进铁的吸收。

## 三、铁的排泄

通过不同途径摄入体内的铁，除了供机体需要外，多余的铁主要以3种形式排出体外，以保持体内铁的平衡。一是经消化道上皮细胞脱落而排出，如由胆汁、脱落的黏膜细胞和少量的血液通过粪便排出；二是由汗液和皮肤脱落细胞排泄少量的铁；三是由尿液排泄，这种方式丢失的铁最少。正常人每日铁吸收量变化较大，主要视体内需要量而定，而排泄量却相对稳定，约 $1\text{mg/d}$ ，其中90%从肠道排出，尿中排出量极少，另外，月经、出血等也是铁的排出途径。

### 第三节 生物体内铁失衡的危害

#### 一、铁过量的相关疾病

流行病学调查和动物实验研究都表明,体内铁的贮存过多与许多疾病如心脏病、肿瘤、糖尿病、关节炎和骨质疏松症等有关。人类由于大量食用铁强化食品、红肉(含血红素铁);使用铁制炊具;超量服用维生素C;饮用柠檬酸;嗜酒等而摄入过量的铁。特别是由于膳食结构的改变、强化食品的过度食用和工业污染等原因,可通过多种途径使进入体内的铁增加。

铁的生物学功能主要是其化学性,铁可以接收和供给电子,铁同时存在 $\text{Fe}^{2+}$ 和 $\text{Fe}^{3+}$ 两种价态,因此铁水平在细胞内必须得到很好的维持。过量的铁会导致氧化性胁迫,称为Fenton反应。这是由于二价铁能够活化过氧化氢,形成羟基自由基,它们具有很强的氧化能力,能改变细胞的成分,并导致细胞完整性的损失,甚至导致细胞死亡。此外,高的活性氧自由基,例如 $\text{OH}^-$ 和 $\cdot\text{O}_2^-$ ,其毒性也是很高的,原因是它们能够快速与活细胞中各种分子进行结合,其后果是DNA的损伤、蛋白质、膜脂质和糖的合成受损、蛋白酶的降低,进而改变细胞的增生。另外,游离的铁还能够直接和不饱和脂肪酸结合,导致脂质过氧化,形成烷氧基和过氧化氢自由基,进而严重的损害细胞完整性,引起细胞的死亡。铁的这一损伤性的效应导致铁在癌症的病变中、动脉粥样硬化疾病、神经退行性疾病,例如帕金森氏症和阿尔茨海默氏病中起着重要的作用。

#### 二、铁缺乏的相关疾病

铁缺乏是一个渐进的过程,长期缺铁使体内血红蛋白量合成减少,最终发展为缺铁性贫血。缺铁性贫血的婴儿,典型的表现是易激动或对周围事物缺乏兴趣。青少年缺铁表现为注意力不集中、学习记忆能力下降,注意范围狭窄,工作耐力下降,对刺激应答减弱,易疲倦。据WHO报道,全世界有10%~20%的人患缺铁性贫血,其中,成年男子约占10%,妇女约占20%,孕妇和儿童占40%~60%。

缺铁性贫血已然成为当今世界的一个主要的公共营养问题。在发展中国家,怀孕妇女以及儿童是受影响最多的人群。缺铁性贫血对机体的影响是多方面的:

第一，含铁酶的功能降低；第二，影响行为和智力发育；第三，机体抗感染能力降低；第四，影响机体的体温调节；第五，影响机体生长发育。

现在的补铁制剂如硫酸亚铁和葡萄糖酸亚铁被认为是最有效的治疗缺铁性贫血的临床用药。然而，硫酸亚铁治疗的副反应有很多，例如，可以导致机体便秘、腹泻和体重下降。另外，亚铁盐的化学形式很容易被其他饮食成分所影响。例如，存在于谷类、豆类的植酸和存在于茶、咖啡、红酒、蔬菜、药草的多酚都能螯合植物成分铁盐中的铁，在肠道中形成不溶性复合物，抑制铁的吸收。

到目前为止，在已经发现的植物中，只有豆科类植物是将其 90% 的铁储藏于种子的铁蛋白中。所以，来源于豆科类植物的铁蛋白是一个理想的补铁资源。铁蛋白广泛存在于细菌、动物和植物体内，基于其具有铁储存及调节体内铁平衡的功能，铁蛋白能够将机体内的铁保持在可溶、无毒且生物可利用的形式。因此，研究植物铁代谢且开发一种新型的补铁制剂势在必行。植物铁蛋白被认为是 21 世纪新型的最具开发潜力的补铁功能因子。

## 第二章 植物铁蛋白的分子结构

### 第一节 植物铁代谢

在植物体内，铁参与叶绿素的合成、体内氧化还原反应、生物固氮、植物呼吸作用，还参与许多酶促反应，兼有结构成分和活化剂的作用。世界上许多国家由于土壤钙化而使植物可利用的铁元素缺乏。据统计，全世界有 1/3 的土壤是石灰性土壤，约 40% 的土壤缺铁，植物缺铁黄化已成为世界性营养失调问题，与之相伴随的人类缺铁的问题也极为严重。

#### 一、植物铁的吸收

土壤中铁的含量较高，但可被植物直接吸收利用的铁很少。土壤中的铁绝大多数以无机形态存在，结合在有机物中的铁为数不多，可溶离子态的铁在一般土壤中存在更少，尤其是在氧化条件以及中性到碱性土壤中，这些离子态的铁 ( $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Fe}^{2+}$ ) 的浓度非常低，约为  $10^{-10}$  mol/L 或更低。所以，在正常土壤 pH 值下，通过质子流及其扩散供给的无机铁远低于植物的需要，只占植物总吸收铁量的 3% ~ 9%，而根在土壤孔隙伸展过程中接触和置换吸收的铁占 23% ~ 56%。可见，新根尖的生长对植物铁吸收具有非常重要的作用，而且根尖对铁的吸收速率也大于根基部。植物根系能否有效吸收无机铁取决于在根际范围内降低 pH 值和使  $\text{Fe}^{3+}$  转变为  $\text{Fe}^{2+}$  的能力。一般认为，二价铁是植物吸收的形态，三价铁必须在输入细胞质之前在根表还原成二价铁。因此，如果没有主动的调节机制使植物获得充足的铁，那么大多数植物便会表现出缺铁症状。目前，人们已较为清楚地认识到，缺铁条件下高等植物为防止缺铁，产生了两种独特的铁吸收机制。

除了铁供应充足时的非特异性铁吸收机制外，对于双子叶和非禾本科单子叶植物而言，还会在根系产生如下生理及形态的变化，如根系  $\text{Fe}^{3+}$  还原酶活性的增



加,净质子分泌量的增加,有机酸及酚类物质的分泌,以及产生根尖膨大、根毛增多、根表产生转移细胞等,即机理 I。机理 I 的植物  $\text{Fe}^{3+}$  必须先还原为  $\text{Fe}^{2+}$  才能被吸收利用。缺铁条件下,机理 I 植物的一个显著特征是根系向外分泌  $\text{H}^+$  的能力增加。根细胞原生质膜上受 ATP 酶控制的质子泵因缺铁诱导激活,向膜外泵出的质子数量增多,致使根际 pH 值明显下降。此外,缺铁条件导致机理 I 植物体内缺铁信号物质的生成,该信号被转入到根细胞内,启动能感受缺铁信号的未知转录因子的表达,然后该因子与已知铁吸收调控因子 FER 或 FIT 结合,形成异源二聚体,调控铁高效吸收相关基因,如三价铁螯合物还原酶 FRO2、亚铁离子高亲和力转运蛋白 IRT1 等基因的表达,从而将  $\text{Fe}^{3+}$  在根表面还原成  $\text{Fe}^{2+}$ ,再通过高亲和力亚铁离子转运蛋白转运到细胞内,供代谢利用。在缺铁胁迫的条件下,机理 I 植物通过激活一种特异的  $\text{H}^+ - \text{ATPase}$ ,这种还原酶催化电子从胞质中还原态的吡啶核苷酸 (NADH) 跨膜传递给胞外作为电子受体的  $\text{Fe}^{3+}$  螯合物,这是机理 I 植物吸收铁的一个专性前提条件。而 Chaney 等很早就已提出,机制 I 型植物对铁的吸收分两步进行:第一步,  $\text{Fe}^{3+}$  还原成  $\text{Fe}^{2+}$ ; 第二步,以  $\text{Fe}^{2+}$  的形态吸收运输铁。此外,目前已从遗传上证明了三价铁螯合物还原酶为机制 I 型植物吸收利用铁所必需。根系中  $\text{Fe}^{3+}$  被还原为  $\text{Fe}^{2+}$  后,  $\text{Fe}^{2+}$  通过它的转运蛋白跨越根部的细胞质膜而被转运。

对于禾本科植物而言,根系对缺铁的反应为植物铁载体释放量的增加。植物铁载体对于根系铁的吸收和跨膜运输有不可替代的作用,这一吸收过程被称为机理 II (图 2-1)。在缺铁条件下,铁高效禾本科植物可以分泌大量的铁载体,其活性不受土壤 pH 的影响,它对土壤中的铁有较强的螯合能力,可以利用难溶性的无机铁化合物。同时在缺铁植物根系细胞原生质膜上存在专一性很强的  $\text{Fe}^{3+} -$  铁载体运载蛋白系统,铁载体将  $\text{Fe}^{3+}$  通过运载蛋白系统带入细胞质中,  $\text{Fe}^{3+}$  在细胞内被还原成  $\text{Fe}^{2+}$  后,铁载体又可进入根际运载新的  $\text{Fe}^{3+}$ 。如此往复使得禾本科单子叶植物获得所需要的铁。从机理 II 植物(如大麦、燕麦和水稻)中分离到的铁载体,后来被确定为麦根酸类植物高铁载体,对  $\text{Fe}^{3+}$  有着强烈的亲和力(具有 6 个螯合 Fe 的功能基团)并能形成稳定的、八面体的三价铁螯合物  $[\text{Fe}^{3+} - \text{MAs}]$ 。麦根酸 (MAs) 的分泌由缺铁胁迫诱导产生,禾本科植物缺铁时通过 MAs 的诱导合成向根际分泌,在根际对难溶性铁进行活化,根际通过  $[\text{Fe}^{3+} - \text{MAs}]$  螯合物的专一性吸收以适应缺铁胁迫环境。