

## 再構成フェリチンとネイティブフェリチンに見るコア構造の差異

○猪子洋二、片岡義嗣、稗田裕太郎（阪大院基礎工）、渡邊康（食総研）

フェリチンは動植物からバクテリアまで広く普遍的に存在し、鉄元素の代謝に関わるタンパク質の一つで、鉄元素の貯蔵と無毒化に寄与している。構造は、分子量が約 2 万の H 鎖と L 鎖の 2 種類のサブユニットが 24 個集まって構成されるヘテロポリマーで、外形が約 13nm、内径が約 8nm の球殻状をしている。この球殻の内空に細胞内の反応性の高い  $\text{Fe}^{2+}$  イオンを取り込み不活性な  $\text{Fe}^{3+}$  イオンに酸化して最大 4500 個の鉄元素を貯蔵する能力を持つ。H 鎖と L 鎖の構成比は生物種、生体内の器官、組織、部位によって異なっている。タンパク質部分である球殻については様々な種のアポフェチンでその結晶構造が明らかにされているが、球殻内に蓄積されるオキシ水酸化鉄 ( $\text{FeOOH}$ ) 凝集体（いわゆる鉄コア）部分の様態については不明のままである。

我々はこれまで、アポフェリチンと  $\text{Fe}^{2+}$  イオンとの混合により得られる様々な鉄含有量のフェリチン（再構成フェリチン）について BL-10C の酵素回折計を用いてコア構造を調べてきた。その過程でアポ化しない無処理フェリチン（ネイティブフェリチン）もコントロールとして調べてきた。同じ鉄含有量の再構成フェリチンとネイティブフェリチンではコアの慣性半径や電子密度に有意な差があることに気がついた。*in vitro* で得られるフェリチンのコア構造と *in vivo* でのフェリチンコア構造とが異なることは十分考えられる。

また、分光測定により  $\text{Fe}^{2+}$  から  $\text{Fe}^{3+}$  への酸化速度を比較したところ、ネイティブフェリチンは同数の鉄元素を含む再構成フェリチンに比べ非常に遅い（初速度で約 1/7）酸化能（取込み能）を示した。両者のコア構造や  $\text{Fe}^{2+}$  イオンの酸化能（取込み能）の違いが何に起因するかは分かっていないが、1 つ明らかな違いはコアの化学組成である。通常、アポフェリチンと  $\text{Fe}^{2+}$  イオンとの混合による *in vitro* の取込み反応は Good 緩衝液下で行われフェリチン内空に生成するコアは  $\text{FeOOH}$  から出来ている。一方、ネイティブフェリチン中の鉄コアは P 元素が含まれている。Fe に対する P の割合は種によって異なるが、馬脾臓フェリチンの場合  $(\text{FeOOH})_8(\text{FeOOPO}_3\text{H}_2)$  として Fe 元素に対し約 10% の P 元素を含む。コアの P 元素が  $\text{Fe}^{2+}$  イオンの酸化能に影響を及ぼすことは既に報告されているが、組成とコア構造の関係についてはまったく調べられていない。

そこで、先ず Good 緩衝液下で調製した再構成フェリチンとネイティブフェリチンの鉄コア構造の差異を定量的に確認するため、コントラスト変調法と X 線異常散乱法の 2 通りの手法を用いてコア構造を調べつつある。本発表では、これまでの実験結果から明確な差異が得られているのでこれらについて報告する。