

棕色固氮菌细菌铁蛋白释放铁的动力学方程和性质^{*}

张凤章¹ 黄河清^{*1} 林庆梅² 曾润颖³

邱雪慧¹ 黄南昌¹ 许良树¹ 曾定¹

(厦门大学生物学系¹, 环境科学研究中心², 国家第三海洋研究所³, 厦门 361005)

摘要

棕色固氮菌细菌铁蛋白铁核中的磷铁组成存在非均匀性。细菌铁蛋白释放铁的动力学特性表现出复杂性。通过动力学曲线分析, 提出蛋白壳自身调节能力起着限制释放铁速率关键步骤的观点, 建立分析铁蛋白释放铁的动力学特性方程并用它较合理地阐明铁蛋白释放铁的动力学规律及储存铁的途径。用分光光度法和动力学方程研究细菌铁蛋白释放铁的全过程, 其结果表明该蛋白以一级反应方式释放铁核表层的铁和以零级反应方式释放铁核内层的铁。外加磷酸盐能强烈地抑制释放铁的速率, 引起释放铁的反应级数的转化, 迫使铁蛋白以一级反应的方式释放铁核中的大多数铁。

关键词: 棕色固氮菌 细菌铁蛋白 动力学方程和级数 磷酸盐和速率

棕色固氮菌细菌铁蛋白 (Azotobacter vinelandii Bacterial Ferritin, 简称 AvBF) 是由多亚基组成的铁储存蛋白^[1]。电子显微镜技术证实了细菌铁蛋白 (BF) 和动物铁蛋白的分子结构基本相似, 两者均由高对称性亚基结构组成的蛋白质壳包围着一个由数千铁离子和磷酸盐分子组成的均匀铁核^[2]。但近期我们的研究结果却认为铁蛋白铁核中的磷铁组成存在非均匀性, 铁核表层存在着较高磷铁比组成的磷铁结构^[3]。至今用分光光度法和停流分光技术探讨动物铁蛋白释放铁机理已有较详细的报道, 其结论都认为该蛋白可能以混合级方式释放整体铁核的铁, 无法用零级、一级或二级动力学方程给予阐明释放铁的规律, 因而推测复杂的释放铁机理与铁蛋白铁核表层的铁结构有关^[4]。近期 Watt 实验室和我们同时分别报道了棕色固氮菌细菌铁蛋白以一级反应方式和两种不同速率^[5] 或以一级反应和零级反应的方式释放整体铁核的铁^[6], 阐明了 AvBF 蛋白壳中的血红素 (12heme/AvBF) 可能对释放铁的速率起着限制性作用。然而, 虽然对铁蛋白释放铁的动力学已进行较深入地研究, 但在建立分析铁蛋白释放铁的动力学方程的研究至今未见报道。

在 Fe^{2+} 离子和强氧化剂存在下, 脱铁核铁蛋白 (Apo ferritin) 能储存介质中游离亚铁离子于蛋白壳中^[7]。外延 X-射线精细结构技术研究铁蛋白铁核形成过程时指出: 在铁核形成的初级阶段, 亚铁氧化反应发生在该蛋白的三向 (X, Y, Z) 隧道中^[8]。外加磷酸盐和酪氨酸盐均能加速脱铁核铁蛋白铁核形成的速率。可见, 铁蛋白的蛋白壳特性发生变化所影响储存和释放铁的速率可能比它自身具有的复杂铁核结构所起的作用更为重要。

本文选用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 还原法, 磷酸盐处理法及电子光谱法探讨 AvBF 释放整体铁核的铁的

^{*} 国家教委回国留学人员基金及福建省自然科学基金资助项目 (No. 96006)。^{**} 联系人。

动力学性质, 建立分析铁蛋白释放铁的动力学特性方程, 阐明磷酸盐对 AvBF 释放和储存铁所起的重要作用, 为今后进一步深入研究铁蛋白释放铁的机理提供有价值的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与菌体培养

棕色固氮菌 OP 菌株引自美国威斯康星大学固氮研究中心。部分实验所需的试剂购买于美国 Sigma 公司产品。棕色固氮菌用改良的 Burks 无氮培养基在 100 立升发酵罐中发酵。对数生长期收集菌体备用。

1.2 方法

1.2.1 AvBF 的制备及纯化

粗制品 AvBF 的分离及纯化参考李久蒂^[9]的方法。实验所需的 AvBF 样品需经 DEAE-纤维素柱(0.15mol/L NaCl/pH7.25)进一步纯化。经纯化的 AvBF 在聚丙烯酰胺凝胶电泳上呈单带。

1.2.2 蛋白质浓度和元素分析

蛋白质浓度测定按常规的 Lowry 方法。蛋白质浓度标准选用 99%纯度的牛血清白蛋白。用原子吸收分光光度法定量分析经硝化过的铁蛋白含铁量。铁蛋白铁核中的亚铁含量按 Funk^[4]的方法测定。磷含量按 Cooper^[10]方法测定。铁蛋白铁核中总的磷铁比是 1:1.2, 它比 Watt 所报道的磷铁比 1:1.4 的结果高于百分之十七的磷酸盐量。

1.2.3 AvBF 释放铁的速率和反应级数的测量按前述的方法进行^[6]。

1.2.4 磷酸盐对 AvBF 释放铁速率的影响

配制 AvBF (10mg prot./ml) 样品含有 1mmol/L Na_2HPO_4 。在厌氧的条件下, 搅拌反应混合样品 1 小时。AvBF 释放铁的速率测定按前述的方法进行(pH 7.25, 30°C)^[12]。

2 结果

2.1 AvBF 释放铁全过程特性

Fig.1 结果表明, AvBF 释放铁的全过程, 平均释放铁的速率是 $15\text{Fe}^{3+}/\text{min}/\text{AvBF}$ 。Fig.2 结果表明, 经磷酸盐处理后的 AvBF 释放铁的全过程, 平均释放铁的速率是 $6.4\text{Fe}^{3+}/$

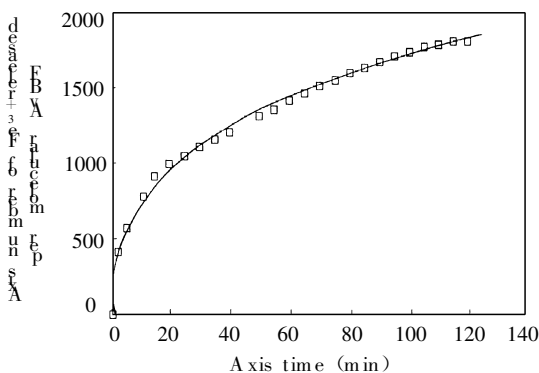


Fig.1 Kinetic curve of complete iron release from AvBF.

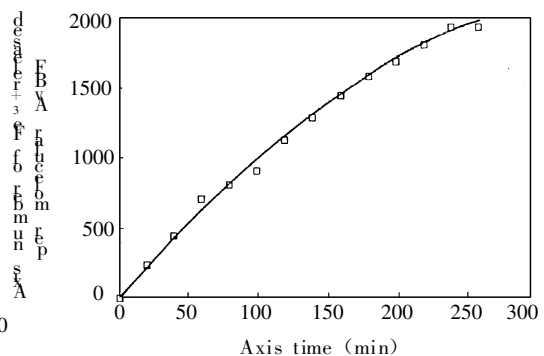
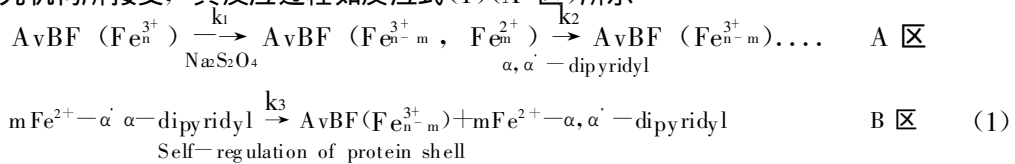


Fig.2 Kinetic curve of complete iron release from AvBF after being treated by extra phosphate.

min/AvBF, 它比 Fig. 1 所示的平均速率慢 2.3 倍。如果把 Fig. 1, 2 的结果分别代入零级、一级或二级反应动力学方程, 其结果均无法获得一条用纵座标表示释放铁速率及横座标表示反应时间的直线。因而可知, AvBF 释放铁动力学全过程也呈复杂化。这个结论与早期报道有关动物铁蛋白释放铁的动力学特性呈复杂化的结论是一致的^[4,6]。

2.2 建立分析 AvBF 释放铁特性的方程

动物铁蛋白释放铁是一个不可逆的动力学过程。Harrison 曾提出 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 还原铁蛋白铁核中的 Fe^{3+} 组分成为 Fe^{2+} 离子为释放铁限制性步骤的动力学模型^[11]。至今该机理已被多数铁蛋白研究机构所接受, 其反应过程如反应式(1)(A 区)所示:



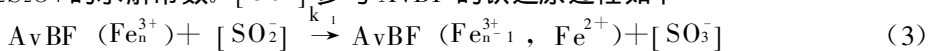
反应式(1)(A区)中的 k_1 表示铁蛋白铁核中的 Fe^{3+} 组分被 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 还原成 Fe^{2+} 离子的速度常数。 k_2 表示铁核中的 Fe^{2+} 离子被 α, α' 一联吡啶螯合于蛋白壳外的速度常数^[11]。然而, 具有 60~70Å 厚度的 HSF 蛋白壳对可见光有着屏蔽作用和呈现无特征吸收峰的电子光谱特点, 它限制了通过紫外可见光谱技术直接研究位于蛋白壳内中心的 Fe^{3+} 组分随着释放铁量递增所形成的壳内迁移运动规律, 因而导致提出铁核表层的复杂磷铁结构对铁蛋白释放铁过程起着至关重要的看法, 忽视了蛋白壳自身的柔性调节能力对释放和储存铁速率所起的作用^[6,12]。

建立在 Harrison 模型^[11] 和我们近期有关铁蛋白释放铁的动力学性质研究结果的基础上^[3, 6, 12], 我们认为蛋白壳自身的柔性调节速率很可能对铁蛋白释放铁的速率起着限制性作用, 而不是受 k_1 或 k_2 所涉及的反应步骤所控制(Fig. 1(A 区))。因此, 建议对 Harrison 的释放铁动力学模型应进行适当地修改, 具体补充内容如总反应^[11]中的 B 区所示。 k_3 表示蛋白壳自身柔性调节的速度常数。

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 是双电子供体的强还原剂, 它以 1/2 级快速反应方式参与酶中的铁簇还原已有详细报道^[3]。 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 在水溶液中易分解成 $[\text{SO}_2^-]$ 并以 1/2 级方式参与 AvBF 释放铁的全过程, 因而可得如下动力学方程:

$$k_h = \frac{[\text{SO}_2^-]}{[\text{S}_2\text{O}_4^{2-}]^{1/2}} \quad (2)$$

k_h 是 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 的水解常数。 $[\text{SO}_2^-]$ 参与 AvBF 的铁还原过程如下:



k_1 表示 $[\text{SO}_2^-]$ 参与 AvBF 铁还原的速率常数, 把方程(2)代入方程(3)并积分, 可得如下动力学方程:

$$- \frac{d[\text{AvBF}(\text{Fe}_{n-1}^{3+}, \text{Fe}^{2+})]}{dt} = K[\text{S}_2\text{O}_4^{2-}]^{1/2} \quad (4)$$

K 表示 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 参与铁蛋白释放铁过程的速度常数。根据铁蛋白含铁量和在严格厌氧条件下, 加入等当量的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 还原铁核中的铁时, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 消耗量可认为与铁核中 Fe^{2+} 离子增加量成对应关系, 即可得如下反应式:

$$[S_2O_4^{2-}] = [AvBF (Fe^{2+})_{max}] - [AvBF (Fe^{2+})_t] \tag{5}$$

把反应式(5)代入方程(4),积分后可得如下方程:

$$[AvBF (Fe^{2+})_{max} - AvBF (Fe^{2+})_t]^{1/2} = K (T_{max} - T_t) \tag{6}$$

$[AvBF (Fe^{2+})_{max}]$ 表示铁蛋白释放最大的铁量, T_{max} 表示 AvBF 释放铁全过程所需的反应时间。 $[AvBF (Fe^{2+})_t]$ 表示在单位时间内铁蛋白释放的铁量, T_t 表示 AvBF 释放一定铁量所需的反应时间。方程(6)可用于分析 $N_{a_2}S_2O_4$ 以 1/2 级方式参与铁蛋白的铁还原全过程的动力学特性,其释放的 Fe^{2+} 量与(相当于释放 Fe^{3+} 的量) $N_{a_2}S_2O_4$ 消耗量成对应的反比关系,与反应的时间成对应的正比关系。

2.3 AvBF 释放铁的速率转换

把 Fig. 1, 2 结果分别代入方程(6)可得 Fig. 3, 4 结果。从 Fig. 3 结果分析可知;AvBF 释放铁的全过程中出现两相(A, B)不同速率的转折点,其转折点时间位于 30min 处,它比近期我们所报道的含有较低磷铁比率(1:1.4)结构的 AvBF 释放铁的转折点时间提前 10min^[6]。在 A 相区,释放铁的量占铁蛋白核中总铁量 61%的铁(1102 $Fe^{3+}/AvBF$),平均释放铁的速率为 36.7 $Fe^{3+}/min/AvBF$ 。在 B 相区,释放铁的量占铁核中总铁量 39%的铁(698 $Fe^{3+}/AvBF$),平均释放铁的速率为 8.2 $Fe^{3+}/min/AvBF$ 。A 相区释放铁的速率比 B 相区高 4.5 倍。

Fig. 4 结果表明;经磷酸盐处理后,AvBF 释放铁的全过程也同样出现两相不同速率的转折点,其转折点时间位于 200min 处,比 Fig. 3 所示的转折点时间推迟 170min。在 A 相区,AvBF 释放铁量占总铁量(1920 $Fe^{3+}/AvBF$)82%的铁(1580 $Fe^{3+}/AvBF$),平均释放铁的速率为 7.9 $Fe^{3+}/min/AvBF$ 。在 B 相区,释放铁量占铁核中总铁量 18%的铁(340 $Fe^{3+}/AvBF$),平均释放铁的速率是 4.25 $Fe^{3+}/min/AvBF$ 。A 相区释放铁的速率比 B 相区仅高出 1.9 倍,比未经磷酸盐处理的 AvBF 释放铁的速率(A 相区)慢 4.6 倍。

2.4 建立 AvBF 释放铁核表层的铁的动力学方程

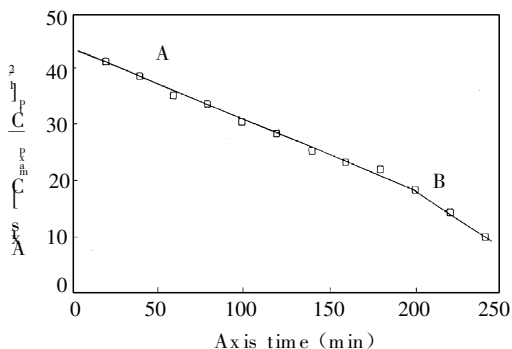
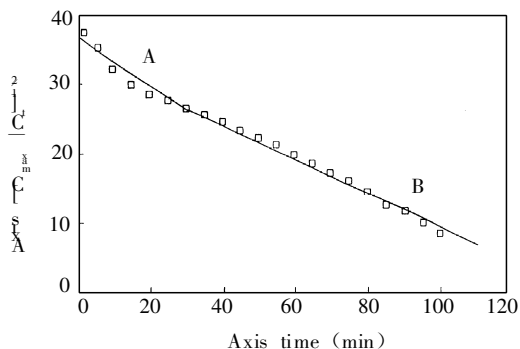


Fig.3 Relative $[C_{max} - C_t]^{1/2}$ plotted as a function of reaction time according to Fig.1 results. C_{max} : Maximum number of iron released per molecular AvBF. C_t : Number of iron released per molecular AvBF according to

Fig.4 Relative $[C_{max_p} - C_p]^{1/2}$ plotted as a function of reaction time according to Fig.2 results. C_{max_p} : Maximum number of iron released per molecular AvBF after being treated by extra phosphate. C_p : Number of iron released per molecular AvBF according to desire to time.

早期的研究表明； α' 联吡啶螯合铁蛋白铁核中的 Fe^{2+} 离子的速率 (k_2) 明显大于 $Na_2S_2O_4$ 还原该蛋白铁核中的 Fe^{3+} 组分成 Fe^{2+} 离子的速率 (k_1)，即 $K_2 \gg K_1$ ^[11]。此外， $Na_2S_2O_4$ 也能快速还原固氮酶、氢酶等金属酶中的铁簇^[13]。但是，AvBF 释放铁的全过程却需要大约 110min 左右。显然， $Na_2S_2O_4$ 还原铁核中的 Fe^{3+} 离子和 α' 联吡啶螯合铁核中 Fe^{2+} 离子于蛋白壳外的速率之和比该蛋白释放铁的全过程速率要快的多，因而推测这二个反应的步骤很可能都不是 AvBF 释放铁的限制性步骤，唯一的可能性是蛋白壳自身柔性地调节能力起着限制释放铁速率的作用，即 $K_2 + K_1 \gg k_3$ 。根据上述结果和反应式(1)，在探讨 AvBF 释放铁全过程动力学时可忽视反应式(1)中所示的 A 区反应步骤，并可把反应式(1)简化成 B 区所示的步骤为限制性步骤，即可得如下动力学方程：

$$-\frac{d[AvBF(Fe_{n-m}^{3+})]_s}{dt} = K_3[AvBF(Fe_{n-m}^{3+})] \tag{7}$$

根据反应式(7)并积分可得：

$$\log[AvBF(Fe_{n-m}^{3+})_{max} - AvBF(Fe_{n-m}^{3+})_{ts}] = K_3(T_{ms} - T_{ts}) \tag{8}$$

T_{ms} 表示 AvBF 释放整体铁核表层的铁所需的反应时间， T_{ts} 表示 AvBF 释放一定量的铁核表层的铁所需的反应时间。

2.5 AvBF 释放铁核表层和内层铁的特性

把 Fig. 3, 4(A 相区) 中所示 AvBF 释放铁核表层的铁的速率分别代入方程(8) 均可获得一条用纵座标表示释放铁速率 $\log(C_{max} - C_t)$ 及横座标表示反应时间的直线(见 Fig. 5, 6)，并符合一级动力学规律。因而可知，AvBF 以一级反应动力学方式释放铁核表层的铁。磷酸盐能强烈地抑制释放铁的速率。经磷酸盐处理的 AvBF 能有效地增加控制铁的含量，其控制量由原有 1102 $Fe^{3+}/AvBF$ (Fig. 3, A 区) 增加到 1580 $Fe^{3+}/AvBF$ (Fig. 4 A 区)，控制率递增百分之四十三，但并不能改变反应级数。

Fig. 7 结果表明；AvBF 释放铁核内层的铁的速率与反应时间成对应的线性关系(见 Fig. 1, 3(B 区))，平均释放铁的速率为 10 $Fe^{3+}/min/AvBF$ ，符合零级反应动力学规律，这一

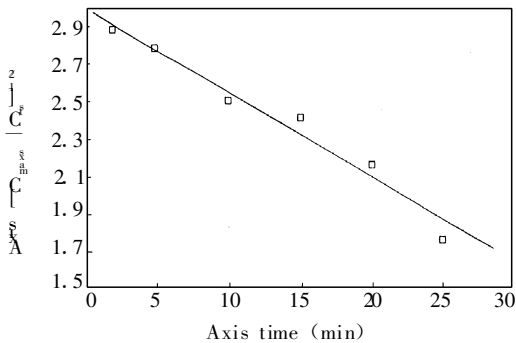


Fig.5 Relative $\log[C_{max} - C_t]$ plotted as a function of reaction time ranging from 0 to 30 min according to A phase results in Fig.1, 3. C_{max} is the maximum number of Fe^{3+} released on the surface of the core per molecular AvBF.

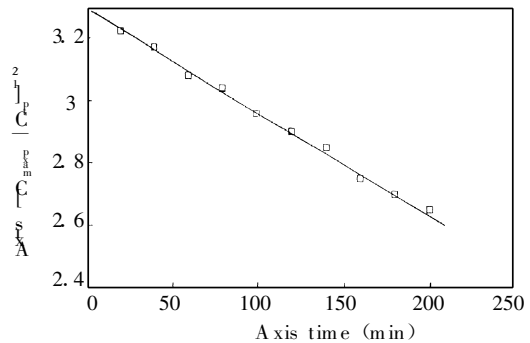


Fig.6 Relative $\log[C_{max_p} - C_{t_p}]$ plotted as a function of reaction time ranging from 0 to 200 min according to A phase results in Fig.2, 4. C_{max_p} is the maximum number of Fe^{3+} released per molecular AvBF in Fig.4A.

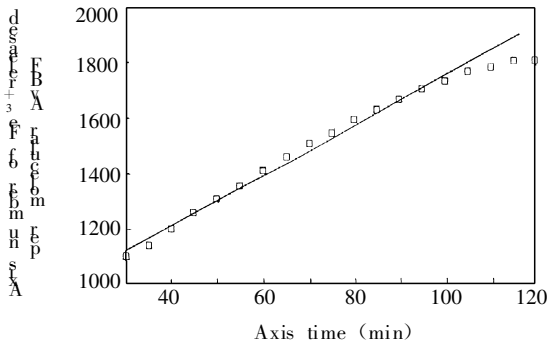


Fig. 7 Relative number of iron released per molecular AvBF plotted as a function of reaction time ranging 30 to 120 min according to B phase results in Fig. 1, 3.

结果与我们近期所报道含较低磷铁比结构的 AvBF 以零级反应方式释放铁核内层的铁, 其速率为 $10.3 \text{ Fe}^{3+}/\text{min}/\text{AvBF}$ 的结果很相似^[10]。

3 讨 论

近期我们的研究表明: 采用逐点尝试动力学反应级数测定法分析马脾铁蛋白和猪脾铁蛋白分别释放铁的全过程时, 其结果均可获以一级反应动力学方式释放铁核表层的铁和以零级反应方式释放铁核内层的铁的动力学特性^[12]。这一结论与近期我们选用电子光谱技术和蛋白壳还原法探讨棕色固氮菌细菌铁蛋白释放铁的全过程

时所获的具有两相区不同速率和两种反应级数的结论是一致的。尽管细菌铁蛋白的磷酸盐含量至少大于动物铁蛋白含磷量的 10 倍并使该蛋白的分子结构明显趋于复杂化, 但两者动力学特性仍较相似^[4, 6, 14]。因而, 铁蛋白释放铁全过程中所表达的两项不同速率和级数与该蛋白蛋白壳自身柔性调节能力有着密切的联系、与铁核结构无关、与磷酸盐含量无关。

动植物及微生物铁蛋白的铁核结构和理化特性已进行了较详细的研究^[4, 6, 15, 16], 但如何提出一个合理化的动力学方程阐明铁蛋白释放铁的全过程一直是铁蛋白研究工作者探讨的难题。如把铁蛋白释放铁的全过程结果代入反应方程式, 其结果不仅能够准确定量分析它们各自释放铁全过程的转折点时间、反应级数转折点、释放铁的速率, 而且能定性分析蛋白壳自身柔性调节能力及络合铁核中的铁量的能力、适合于分析任何不同种类的铁蛋白释放铁动力学规律, 使之更明确地阐明铁蛋白的生理功能。电子显微镜技术研究表明: 铁蛋白的分子结构是由一层直径为 105 \AA 的蛋白壳围绕着 55 \AA 的铁核^[1]。电子光谱技术研究指出铁蛋白蛋白壳内表层的氨基酸能有效地络合铁核表层的铁, 并引起该蛋白以一级反应的方式有规律地释放铁^[6]。然而, 铁蛋白的自身柔性调节能力是有限的, 它只能有效地控制铁核表层的铁, 可能无法控制铁核内层的铁。这一现象引起铁蛋白以两种不同速率和反应级数释放整体铁核的铁。

磷酸盐是铁蛋白铁核的主要成份之一, 但它对铁蛋白的生理功能所起的作用一直不清楚。从 Fig. 2, 4, 6 结果分析可知, 外加磷酸盐加强蛋白壳内表层的氨基酸络合铁的能力和增加络合铁量, 阻碍释放铁的速率, 引起两相速率转折点反应时间推延近 170min。可见, 外加磷酸盐对铁蛋白释放和储存铁的速率确实起着限制性的重要作用。然而, 与其相反的是铁蛋白铁核表层比铁核内层含有较高的磷酸盐量^[3, 12], 但它释放铁核表层的铁的速率 Fig. 2(A 区) 却明显高于释放铁核内层的铁的速率 Fig. 2(B 区)。因此, 外加磷酸盐和铁蛋白铁核中自身的磷酸盐所引起的生理功能可能不同或可能采用不同途径和机理影响铁蛋白释放和储存铁的速率, 其详细机理仍有待于进一步深入研究。

参考文献

- 1 Stiefel, R. R. and Watt, G. D. : *Azotobacter vinelandii* b557.5 is a bacterioferritin. *Nature*, 1979, 279 :81—83.
- 2 Theil, E. C. Ferritin: *structure, gene, regulation, and cellular function in animals, plants, and microorganisms*. *Ann. Rev. Biochem.*, 1987, 56:289—315.
- 3 黄河清, Richards, R. T., and Watt, G. D. 等: 马脾铁蛋白铁核表层特性. 厦门大学学报(自然科学版), 1993, 32 :628—633.
- 4 Funk, F., Lenders, J. P., Crichton, R. R. et al. : *Reductive mobilisation of ferritin iron*. *Eur. J. Biochem.*, 1985, 152 :167—172.
- 5 Richards, T. D., Pitts, K. R., Watt, G. D. : *A kinetic study of iron release from azotobacter vinelandii bacterial ferritin*. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1996 61:1—13.
- 6 黄河清, 张风章, 陈灿和等: 细菌铁蛋白释放铁的动力学研究. 生物物理学报, 1996, 12 :33—37.
- 7 Cheng, Y. G. and Chasteen, N. D. : *Role of phosphate in initial iron deposition in apoferritin*. *Biochemistry*, 1991, 30 :2947—2953.
- 8 Strang, S., Morante, S., Stefanini, S. et al. : *Nucleation of the iron core occurs at the three—fold channels of horse spleen apoferritin: an EXAFS study on the native and chemical—modified protein*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1993 1164:331—341.
- 9 李久蒂, 王继文, 钟泽璞等: 棕色固氮菌中一种含细胞色素 b 的铁蛋白. 中国科学(B 辑), 1979, 10 :1681—1687.
- 10 Cooper, T. : *Tools of Biochemistry*, New York, John, W. Sons 1997, pp53.
- 11 Harrison, P. M., Hoy, T. G., Macara, I. G., et al : *Ferritin iron uptake and release*. *Biochem. J.* 1974, 143 :445—451.
- 12 黄河清, 张风章, 许良树: 猪脾和马脾铁蛋白理化特性的比较. 动物学报, 1977, 43 :170—177.
- 13 Watt, G. D. : *A microcalorimetric procedure for evaluating the kinetic parameters of enzyme—catalyzed reactions: kinetic measurements of the nitrogenase system*. *Analytical Biochemistry*, 1990 187:141—146.
- 14 Huang, H. Q., Watt, R. K., Frankel, R. B. et al. : *Role of phosphate in Fe^{2+} binding to horse spleen holoferritin*. *Biochemistry*, 1993 32:1681—1687.
- 15 Huang, H. Q., Xu, Liang—Shu, Zhang—Feng, Zhang et al. : *H_2 —uptake activity, spectra, reduction potentials, and kinetics of iron release on the surface of iron core from azotobacter vinelandii. bacterial ferritin*. *Journal of Protein Chemistry*, 1998 17:45—51.
- 16 Huang, H. Q. et al. : *Septroelectrochemical Investigation of azotobacter vinelandii bacterial ferritin*. *Journal of electroanalytical chemistry*, 1998 438:91—96.

KINETIC EQUATIONS AND CHARACTERISTICS OF IRON RELEASE FROM AZOTOBACTER VINELANDII BACTERIAL FERRITIN

Zhang Fengzhang¹ Huang Heqing¹ Lin Qingmei² Zeng Runying³

Qiu Xuehui¹ Huang Nanchang¹ Xu liangshu¹ Zeng Ding¹

(*Department of Biology*¹, *Research Center of Environment Science*²,
*State Third Ocean Institut*³, *Xiamen University, Xiamen 361005*)

ABSTRACT

Bacterial ferritin from azotobacter vinelandii (AvBF) contains a heterogenetic core (total atomic ratio $\text{Fe}^{3+} : \text{P} = 1.2 : 1$) consisting of phosphate and iron within the shell and has complex kinetic characteristics for complete iron release. Based on the kinetic curves analysis, self-regulation of protein shell is suggested to play an important role in limiting rate of iron release. A reasonable kinetic equation has been established to be better used for explaining the complex characteristics with diphasic behavior corresponded with double rates for complete iron release and the pathway for it storage. A complete process for iron release has been studied by the $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ reduction, the phosphate treatment, the spectrophotometry, and the kinetic equation, which the results are known that AvBF releases the iron involving in first-order reaction on the surface of the iron core and in zero-order reaction in the inside of the core. The presence of extra phosphate strongly inhibits the rate of iron release, cause original mixed order rections for complete iron release to occur transfer, and make the ferritin to release most iron with first-order reaction within the core.

Key Words : Azotobacter vinelandii Bacterial ferritin Kinetic
Equation and reaction order Phosphate and rate