

可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)铁结合蛋白的分子进化和系统发育研究*

刘 艳^{1,2} 侯付景³ 周 君¹ 王中华¹ 李太武⁴ 苏秀榕¹

(1. 宁波大学海洋学院 宁波 315211; 2. 宁波职业技术学院应用化工系 宁波 315800;
3. 宁波绿之健药业有限公司 宁波 315505; 4. 宁波城市职业技术学院 宁波 315100)

提要 以克隆获得的可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)、枝吻纽虫(*Dendrorhynchus zhejiangensis*)、泥蚶(*Tegillarca granosa*)、缢蛏(*Sinonovacula constricta*)、仿刺参(*Apostichopus japonicus*)和白肛海地瓜(*Acaudina leucoprocta*) 6 种无脊椎动物的铁结合蛋白基因为基础, 通过 NCBI 检索下载相应的氨基酸序列, 采用 SingalP 程序查找信号肽, 用 TMHMM 程序搜寻预测跨膜区, 采用 Clustal W 程序多序列比对, 构建进化树。对其编码蛋白的信号肽、跨膜区以及磷酸化位点等进行分析。结果表明, 6 种动物的铁结合蛋白都没有信号肽, 也无跨膜区, 不可能是膜上的受体或定位于膜上, 均为胞外蛋白。泥蚶的 ferritin 有 4 个磷酸化位点, 仿刺参 ferritin 有 10 个, 枝吻纽虫有 8 个, 白肛海地瓜有 9 个, 可口革囊星虫和缢蛏的 ferritin 未搜寻到磷酸化位点。6 种铁结合蛋白的疏水性有一定的差异, 最大值在 1.0—1.6 之间, 最小值在 -3.3—-2.8 之间。可口革囊星虫和仿刺参的铁结合区域特征序列完全相同, 与文昌鱼、缢蛏、泥蚶、牡蛎、盘鲍有 2 个氨基酸差异, 与人、小家鼠和叉尾鲷有 1 个氨基酸差异。

关键词 铁结合蛋白; 分子进化; 系统发育; 可口革囊星虫

中图分类号 Q953

铁是有机体内大多数酶促反应所必需的一种元素, 在细胞代谢中有着重要的作用(Aisen *et al.*, 2001), 它与氧的运输、电子传递、DNA 复制和细胞增殖等过程密切相关(Thomas *et al.*, 1999)。对于有机体来说, 细胞内铁的稳定是必需的, 细胞内铁稳态的控制一般是翻译后修饰来控制的(Hansen *et al.*, 1999)。生物体由转铁蛋白进行铁的吸收和通过铁结合蛋白进行铁的汇集共同维持铁的稳态(孙雪松等, 2007)。铁结合蛋白(ferritin)是在马的脾脏和肝脏中首次发现并命名的, 它是一类广泛存在于动物、植物和微生物体内用以储存和释放铁的保守性较高的生物蛋白(Laufberger, 1937; Lobreaux *et al.*, 1992)。哺乳动物的 ferritin 通常由 H 和 L 两种不同类型的亚基组成, 其中

H 型亚基有一个亚铁氧化酶中心, L 型亚基缺乏这一位点, L 型亚基与 H 型亚基相互协同作用进行铁的储存和释放。不同动物组织和不同生理状态下, 构成 ferritin 的 H 型亚基和 L 型亚基的比例往往不同(Drysdale *et al.*, 1991)。无脊椎动物和植物的 ferritin 只含有一种亚基, 其生理功能相当于哺乳动物 ferritin 两个亚基合为一体时所表达的功能(李忻怡等, 2003), 其同源性与脊椎动物的 H 亚基更高, L 型次之, 但也存在着一些例外。果蝇(*Drosophila melanogaster*) 胞浆分泌两种 ferritin 类型, 其中 L 型的表达量一直占绝大多数(Georgieva *et al.*, 2001)。昆虫的铁蛋白包括 H 型分泌铁蛋白亚基、非 H 型分泌铁蛋白亚基和 H 型胞浆铁蛋白亚基三种类型(Nichol *et al.*, 2002)。

* 国家自然科学基金资助项目, “星虫铁结合蛋白基因的真核表达及富铅功能的解析”, 41176123 号; 国家自然科学基金资助项目, “星虫富集汞、铅、砷有毒重金属的分子生物学机理解读”, 40776075 号; 海洋公益性行业专项经费资助项目, “海洋污染生物效应快速监测与评价技术应用示范”, 201005106-2 号。

通讯作者: 苏秀榕, 教授, 博士生导师, E-mail: suxiurong@nbu.edu.cn

收稿日期: 2012-11-28, 收修改稿日期: 2013-02-22

Ferritin 是细胞内主要的储铁蛋白,参与机体内的铁代谢,因此它在进化中相当保守,生物体内的 ferritin 是从相同的祖基因进化而来的。

可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta* Chen et Yeh)属星虫动物门(Sipuncula)、革囊星虫纲(Phascolosomatidea)、革囊星虫目(Phascolosomatiformes)、革囊星虫科(Phascolosomatidae)、革囊星虫属(*Phascolosoma*)动物,能在恶劣的环境中生长,可抗低温、高温、缺氧和重金属等不利条件,因此,对其展开抗性相关的研究具有非常重要的价值。目前关于星虫动物门 ferritin 进化和系统发育的研究较少,在纽形动物门(Nemertina)中的进化更是无据可查,正是由于此类信息的缺失,使得 ferritin 在门一类水平上的进化和发育研究比较困难,本文对纽形动物门、星虫动物门、软体动物门(Mollusca)和棘皮动物门(Echinodermata)的 ferritin 的分子结构、特征和系统发育进行了分析和探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

以实验室已克隆获得的 ferritin 基因[包括可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)、枝吻纽虫(*Dendro-rhynchus zhejiangensis*)、泥蚶(*Tegillarca granosa*)、缢蛏(*Sinonovacula constricta*)、仿刺参(*Apostichopus japonicus*)和白肛海地瓜(*Acaudina leucoprocta*)]为基础,借助 GenBank 数据库,搜索下载其它生物的 ferritin 基因序列及其氨基酸序列。

1.2 方法

利用 NCBI 上和 BLAST 进行序列同源性比,采用 SingalP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)程序查找信号肽;用 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)程序搜寻预测跨膜区,用 NetPhos 程序搜寻磷酸化位点,多序列比对采用 Clustal W 程序,构建进化树。利用瑞士生物信息学研究所(Swiss

Institute of Bioinformatics, SIB)的 ExPASy 服务器上的 ProtScale 程序对 ORF 翻译后的氨基酸序列做疏水性分析。

2 结果与分析

2.1 铁结合蛋白结构和功能分析

铁结合蛋白基因序列来源和特征见表 1。运用不同在线分析软件对 6 种 ferritin 的结构和功能进行了分析,结果见表 2。经 SingalP 程序(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)分析显示,6 种铁结合蛋白都没有信号肽, TMHMM 程序(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)分析表明这些铁结合蛋白也无跨膜区,说明其不可能是膜上的受体或定位于膜上,均为胞外蛋白。由磷酸化位点分析可知泥蚶的 ferritin 有 2 个 Ser (Ser34、Ser57), 1 个 Thr (Thr158)和 1 个 Tyr (Tyr27), 仿刺参 ferritin 有 4 个 Ser (Ser57、Ser39、Ser111、Ser121), 2 个 Thr (Thr133、Thr158), 4 个 Tyr (Tyr27、Tyr32、Tyr135、Tyr165), 枝吻纽虫 ferritin 有 5 个 Ser (Ser32、Ser35、Ser54、Ser55、Ser56), 1 个 Thr (Thr91), 2 个 Tyr (Tyr25、Tyr30), 白肛海地瓜有 4 个 Ser (Ser36、Ser57、Ser93、Ser159), 3 个 Thr (Thr133、Thr158、Thr169)和 2 个 Tyr (Tyr 130、Tyr135), 可口革囊星虫和缢蛏的 ferritin 未搜寻到磷酸化位点,这些位点是蛋白激酶磷酸化的场所。亚细胞定位分析(<http://wolffpsort.seq.cbrc.jp/>)可知可口革囊星虫 ferritin 有 14.5%、缢蛏 ferritin 有 20.5%、白肛海地瓜 ferritin 有 13.0%、枝吻纽虫 ferritin 有 15.0%的可能性存在于细胞内;仿刺参和泥蚶的 ferritin 有 21.0%和 19.5%的可能分泌于细胞内。

利用 ExPASy 上的 ProtScale 程序(<http://us.expasy.org/cgi-bin/protscale.pl>)对 ORF 翻译后的氨基酸序列,进行疏水性分析,结果见图 1。

由图 1 中得知,6 种铁结合蛋白的疏水性有一定的差异,最大值在 1.0—1.6 之间,最小值在-3.3—-2.8

表 1 铁结合蛋白基因序列的特征

Tab.1 The basic characteristics of ferritin sequence

物种	序列全长(bp)	5'-非编码区(bp)	3'-非编码区(bp)	开放阅读框 ORF(bp)
可口革囊星虫	1017	151	341	525
枝吻纽虫	1179	104	565	513
泥蚶	895	163	213	519
缢蛏	996	120	360	516
仿刺参	1222	114	513	519
白肛海地瓜	1188	118	545	525

表 2 铁结合蛋白的结构和功能
Tab.2 The structure and function of ferritin

来源	氨基酸数目	有无信号肽	有无跨膜区	磷酸化位点	亚细胞定位
可口革囊星虫	174	无	无	Ser:0	Cyto:14.5
				Tyr:0	Cyto_nucl:13.0
				Thr:0	Mito:8.0 Nucl:4.5
枝吻纽虫	169	无	无	Ser:5	Cyto:15.0
				Tyr:1	Extr:9.0
				Thr:2	Nucl:6.0
泥蚶	172	无	无	Ser:2	Cyto:19.5
				Tyr:1	Cyto_nucl:6.5
				Thr:1	Nucl:6.5 Extr:3.0
缢蛭	171	无	无	Ser:0	Cyto:20.5
				Tyr:0	Cyto_nucl:14.5
				Thr:0	Nucl:7.5
仿刺参	173	无	无	Ser:4	Cyto:21.0
				Tyr:2	Cyto_nucl:12.7
				Thr:4	Cyto_plas:12.2 Mito:4.0 Nucl:2.0
白肛海地瓜	174	无	无	Ser:4	Cyto:13.0
				Tyr:3	Extr:11.0
				Thr:2	Nucl:6.0

之间。这与不同来源的铁结合蛋白一级结构中的氨基酸组成相关。蛋白质的疏水性利于其空间结构的形成,尤其有利于 α -螺旋的形成,从而保持其构象的稳定性。

2.2 铁结合蛋白多序列比对

由可口革囊星虫 ferritin 的氨基酸序列与已报道的多种生物的铁结合蛋白的氨基酸序列具有高度的同源性和保守性(图 2)。其同源性由高到低分别为:加州海兔 *Aplysia californica* (ABF21074.1)75%, 牡蛎 *Ostrea edulis* (AFK73708.1) 73.0%, 美洲花蜉 *Amblyomma americanum* (AAQ54708.1)72.0%, 文昌鱼 *Branchiostoma belcheri* (AAQ21039.1)71.0%, 安德爱胜蛭 *Eisenia andrei* (ACL14179.2) 71.0%, 微小牛蜱 *Rhipicephalus microplus* (AAP72263.1)、亚洲璃眼蜱 *Hyalomma asiaticum asiaticum* (AAS66655.1)、泥蚶 *Tegillarca granosa* 和海星 *Asterias forbesi* (AAB60883.1)70.0%, 缢蛭 *S. constricta* 和仿刺参 *A. japonicus* 69.0%, 盘鲍 *Haliotis discus discus* (ABG88846.1) 67.0%, 人类 *Homo sapiens* (AAA 35832.1)和枝吻纽虫 *D. zhejiangensis* 66.0%, 叉尾鲷 *Ictalurus punctatus*

(AAY86949.1) 65.0%, 白肛海地瓜 *Acaudina leucoprocta* 64.0%, 小家鼠 *Mus musculus* (NP_080562.1) 63.0%, 中华蟾蜍 *Bufo gargarizans* (ABD75379.1) 61.0%, 牛 *Bos taurus* (NP_001069658.1)60.0%, 非洲爪蟾 *Xenopus laevis* (NP_001084057.1)59.0%, 从而说明 ferritin 在进化上是十分保守的,其在细胞内的功能非常重要。另外,从 ferritin 基因所编码的氨基酸个数在从低等到高等的动物中有逐渐增加的趋势。

由图 2 可知:高度保守的铁结合区域特征序列(EEREHAEKLMFQNQRGGR)和 N-糖基化位点(NQSL)位于不同来源的 ferritin 的蛋白质序列中心,可口革囊星虫在此区域与其它物种差异不大。其中,可口革囊星虫和仿刺参的铁结合区域特征序列完全相同。文昌鱼、缢蛭、泥蚶、牡蛎和盘鲍的铁结合区域特征序列完全相同,可口革囊星虫此区域与之有两个氨基酸差异(F₇₀Y₇₀和 Q₇₃K₇₃)。人、小家鼠和叉尾鲷的铁结合区域特征序列完全相同,可口革囊星虫此区域与之有一个氨基酸差异(F₇₀L₇₀)。美洲花蜱、亚洲璃眼蜱和微小牛蜱的铁结合区域特征序列有一个

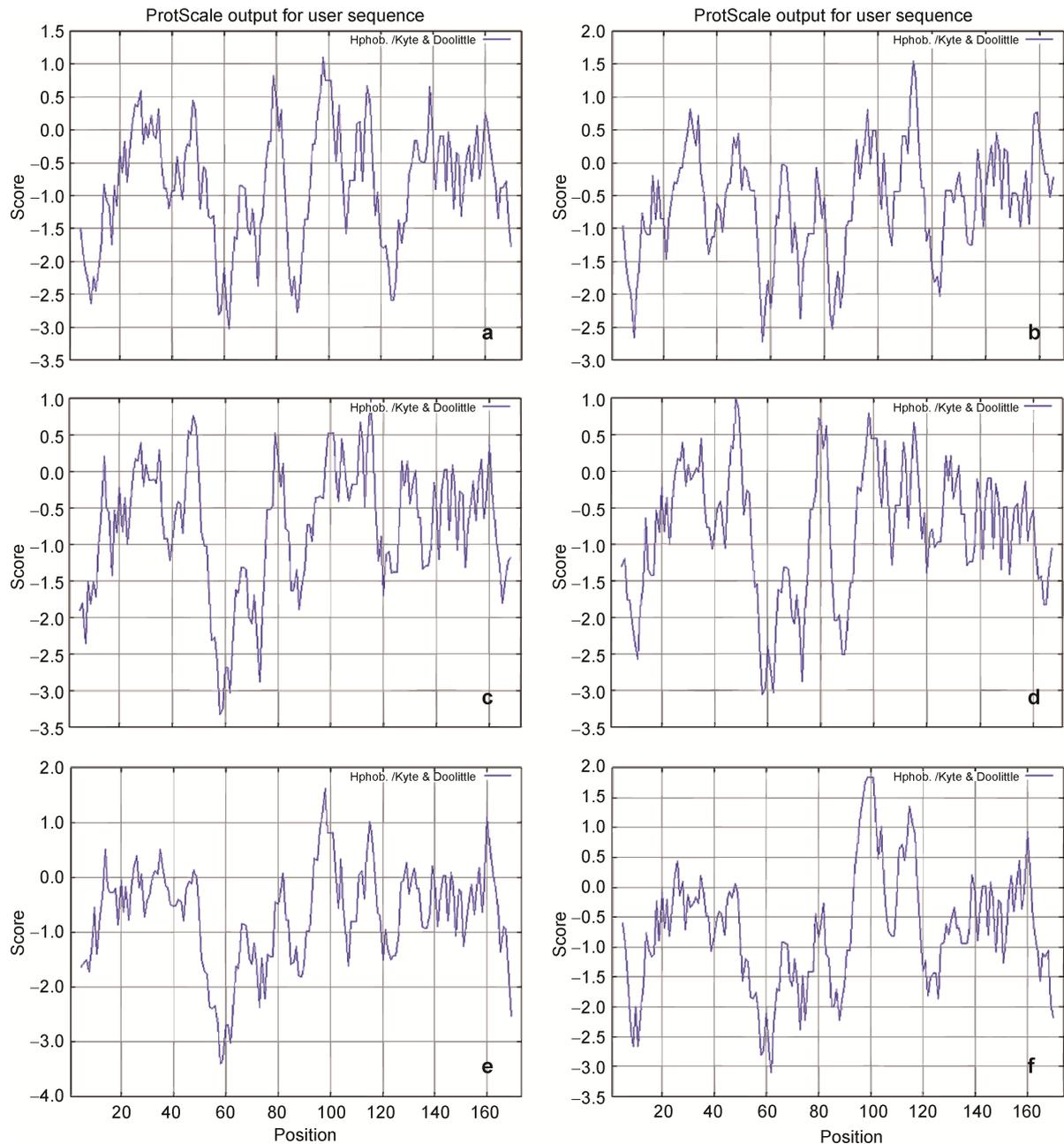


图 1 铁结合蛋白氨基酸疏水性分析结果

Fig.1 Analysis of ferritin protein hydrophobicity

- a. 可口革囊星虫铁结合蛋白; b. 浙江枝吻纽虫铁结合蛋白; c. 泥蚶铁结合蛋白; d. 缢蛭铁结合蛋白;
e. 仿刺参铁结合蛋白; f. 白肛海地瓜铁结合蛋白

氨基酸差异(D₆₅H₆₅Q₆₅)。非洲爪蟾和中华蟾蜍的铁结合区域特征序列有一个氨基酸差异(F₆₇L₆₇)。可口革囊星虫和白肛海地瓜的铁结合区域特征序列有一个氨基酸差异(R₆₆K₆₆)，与加州海兔的铁结合区域特征序列有一个氨基酸差异(Q₇₃K₇₃)，和文昌鱼、缢蛭、泥蚶、牡蛎和盘鲍的铁结合区域特征序列有一个氨基酸差异(Y₇₀F₇₀)，安德爱胜蚓和文昌鱼、缢蛭、泥蚶、牡

蛎和盘鲍的铁结合区域特征序列有一个氨基酸差异(M₆₇L₆₇)。可口革囊星虫的 N-糖基化位点与其它所研究物种的序列差异很小，仅与非洲爪蟾、中华蟾蜍、枝吻纽虫和泥蚶有一个氨基酸不同(S₁₁₀A₁₁₀)，与白肛海地瓜有一个氨基酸差异(Q₁₀₉E₁₀₉)。

2.3 可口革囊星虫铁结合蛋白的系统进化分析

利用 Clustal W 软件对 *ferritin* 基因的氨基酸序

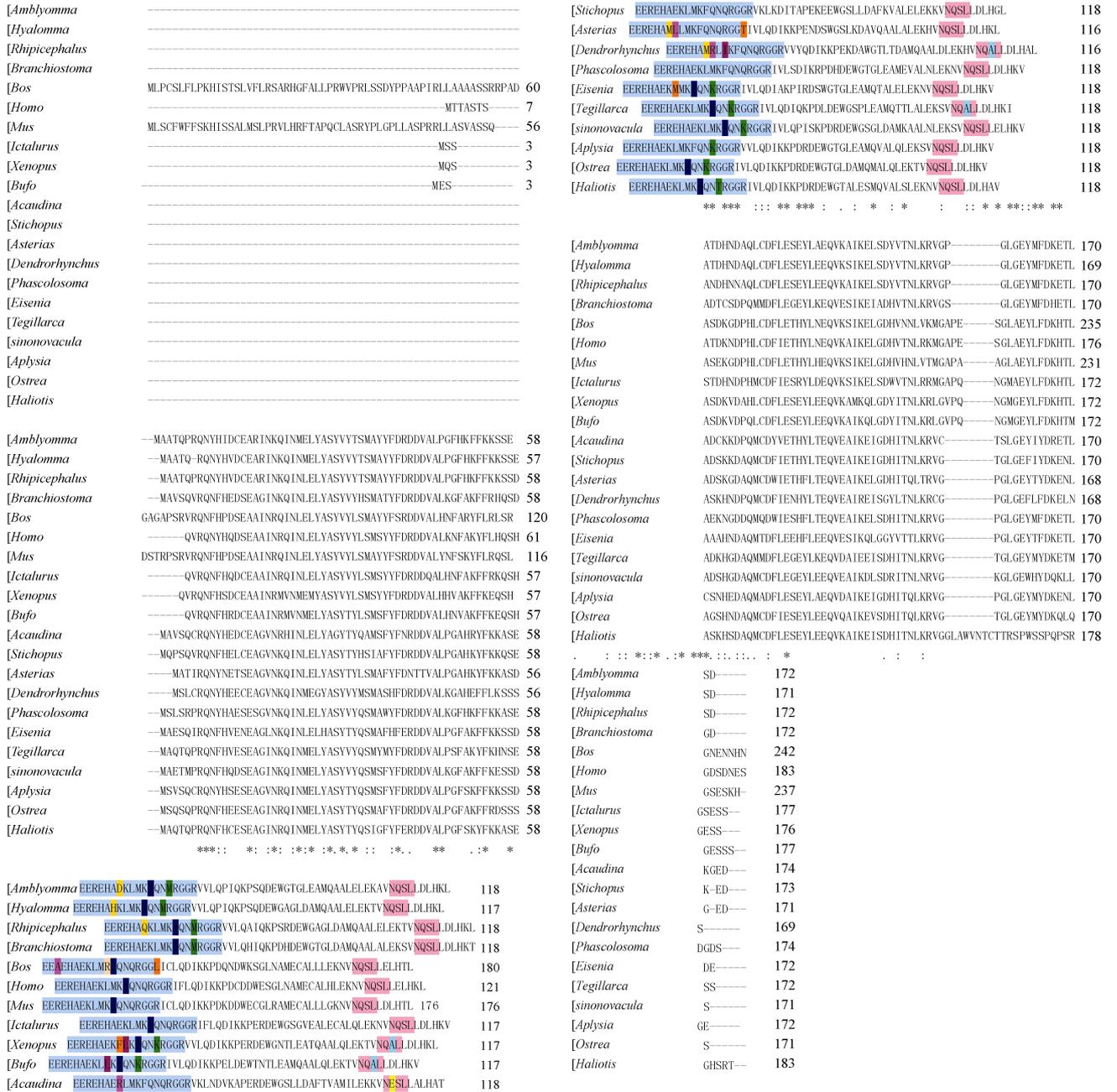


图 2 铁结合蛋白多序列比对

Fig.2 Multiple alignment of ferritin

“.”表示完全保守; “:”表示高度保守; “*”表示保守

列进行多序列联配所构建系统进化树(图 3)显示有 3 个分支: 文昌鱼自成一支(A); 微小牛蜱、亚洲璃眼蜱和美洲花蜱聚类成一支(B); 其余分析的 17 种聚类为一支(C)。C 支又进一步聚类分作两支, 分别是中华蟾蜍、非洲爪蟾、叉尾鲷、小家鼠、人和牛为一支; 牡蛎、加州海兔、盘鲍、缢蛏、泥蚶、安德爱胜蛭、可口革囊星虫、枝吻纽虫、海星、仿刺参、白肛海地瓜为一支。可口革囊星虫在其分支中独立聚类为一支, 虽没

有本门其它物种作为比较, 但不同门类的 ferritin 表现出了很高的同源性和进化上的保守性, 这对于 ferritin 在有机体内参与铁代谢的生理功能极为关键, 也说明铁的代谢对于不同类别的生物都至关重要。

3 讨论

3.1 可口革囊星虫 ferritin 的系统发育

铁作为催化各种生化反应的功能酶的协同因子

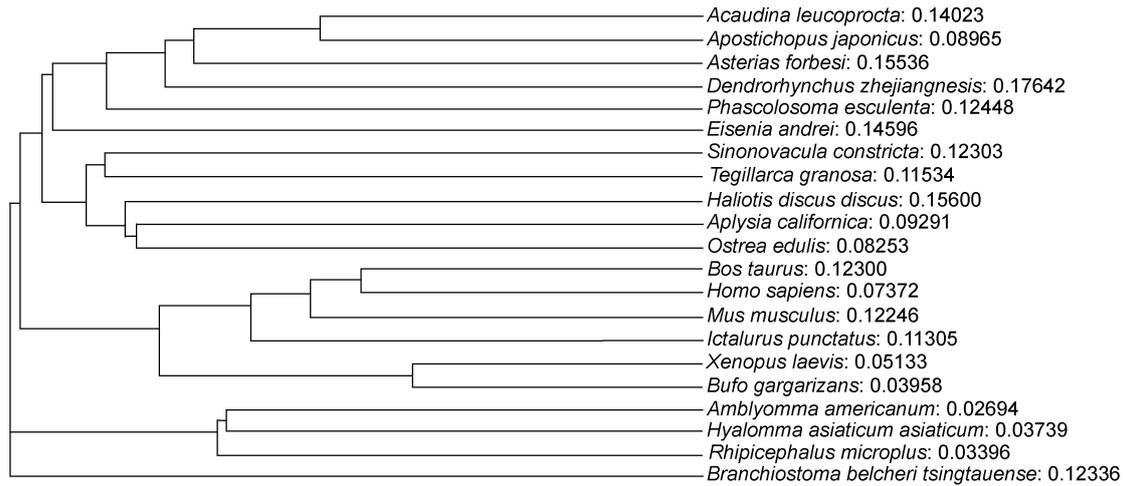


图3 铁结合蛋白氨基酸序列的系统进化关系

Fig.3 The phylogenetic relationship of amino acids of ferritin

参与调控有机体的生命活动(Andrews, 2000)。当铁含量超过细胞稳态时,会产生对有机体有毒的自由基。有机体已经进化发展了自身的调控机制,包括铁的摄取、存储和输出来控制细胞内的铁处于平衡稳态,转铁蛋白和转铁蛋白受体参与铁的摄取和转运,铁结合蛋白参与铁的存储、释放和铁代谢的调节(孙雪松等, 2007)。铁结合蛋白是普遍存在于生物体内的一种多功能多亚基蛋白,对生物体内铁的含量进行控制起到解毒作用(Fenton *et al*, 1985)。在进化过程中,铁结合蛋白保守性较高,与其它物种铁蛋白的同源性也较高。多序列比对结果显示可口革囊星虫 ferritin 与 GenBank 搜索其它来源的 ferritin 的氨基酸序列的同源性都在 60%—70%左右,不同动物门的 ferritin 表现出了较高的同源性。所研究的 6 种无脊椎动物(缢蛏、泥蚶、可口革囊星虫、枝吻纽虫、仿刺参、白肛海地瓜)ferritin 与脊椎动物的(中华蟾蜍、非洲爪蟾、叉尾鲷、小家鼠、人和牛)的聚类在同一分支中,节肢动物(微小牛蜱、美洲花蜱、亚洲璃眼蜱)的 ferritin 独立聚为一支,说明其与脊椎动物的 H 链相似性相对高于节肢动物。一般无脊椎动物、植物、微生物的铁蛋白只含一种亚基,构成球状的 24 聚体蛋白,其生理功能相当于哺乳动物铁蛋白两个亚基合为一体时所表达的功能,其同源性 with 脊椎动物的 H 亚基更高。可口革囊星虫与枝吻纽虫、海星、仿刺参和白肛海地瓜聚类在同一分支,与牡蛎、加州海兔、盘鲍、缢蛏、泥蚶、分别聚类在不同分支下,则说明铁结合蛋白在门水平的进化上,星虫动物门与纽形动物门和棘皮

动物门的亲缘关系相对近一些,与软体动物门和节肢动物门的亲缘关系相对较远。

3.2 Ferritin 的结构与功能

蛋白质翻译后修饰在有机体的生命活动中具有十分重要的作用,它使蛋白质的结构根伟复杂,功能更为完善,调节更为精致,作用更为专一。常见的蛋白质翻译后修饰过程有泛素化、磷酸化、糖基化、酯基化、甲基化和乙酰化 6 种,其中,磷酸化是蛋白质最重要的翻译后修饰过程之一。蛋白质的磷酸化和去磷酸化是有机体内普遍存在的信息转导途径,几乎涉及所有的生理过程。蛋白质的磷酸化是在蛋白激酶的作用下将磷酸基转移到蛋白质氨基酸残基的过程,一条蛋白链的磷酸化一般只发生在丝氨酸(serine, S)、苏氨酸(threonine, T)和酪氨酸(tyrosine, Y)三个残基上。磷酸化位点附近的氨基酸位置保守性强,其上下基序是主要的活性中心和酶识别位点。

在所研究的铁结合蛋白分子中,高度保守的铁结合区域特征序列(EEREHAEKLMFQ NQRGGR)位于蛋白质序列中心,各物种在此区域差异很小,-EE-EHA----QN-RGG-氨基酸序列在不同来源的铁结合蛋白分子中高度保守,这也说明该区域是铁蛋白储存铁活性的关键部位,对铁蛋白的功能具有重要意义。可口革囊星虫的铁结合区域特征序列与其它门类的相比较仅有 1—4 个氨基酸不同,其中,与棘皮动物门的仿刺参的该区域序列完全相同,与白肛海地瓜的该区域只有一个氨基酸差异;与哺乳动物小家鼠 H 链的该区域也只有 2 个氨基酸不同。在

ferritin 的空腔中铁以一种三价铁离子氧化物的形式存在(Reif, 1992), Ferritin 有三个公认的结构域: 亚铁氧化酶中心、亲水基团中心和铁离子通道。由 Glu-25、Tyr-32、Glu-59、Glu-60、His-63、Glu-105 和 Gln-1397 个氨基酸残基组成的亚铁氧化酶中心在所分析的 ferritin 中均可找到。铁结合蛋白亚基中的铁结合区域特征序列(EEREHAEKLMFQNRGGR)和 N-糖基化位点(NQSL)是形成有活性的铁蛋白结构域的主要组成, 对铁代谢的调节至关重要, 有关可口革囊星虫含铁蛋白介导的铁转运和调控分子机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- 孙雪松, 何庆瑜, 2007. 含铁蛋白介导的铁转运分子机制. 化学进展, 19(12): 1986—1990
- 李忻怡, 张 伟, 林浴霜等, 2003. 青岛文昌鱼铁蛋白 ferritin 基因的序列分析、同源性比较及二级结构预测. 山东大学学报(理学版), 38(5): 116—120
- Aisen P, Enns C, Wessling-Resnick M, 2001. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. Int J Biochem Cell Biol, 33: 940—959
- Andrews N C, 2000. Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. Nat Rev Genet, 1: 208—217
- Drysdale J, Dugast I, Papadopoulos P *et al*, 1991. Intracellular iron metabolism. Current Studies in Hematology & Blood Transfusion, 58: 148—152
- Georgieva T, Dunkov B C, Dimov S *et al*, 2001. *Drosophila melanogaster* ferritin: cDNA encoding a light chain homologue, temporal and tissue specific expression of both subunit types. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 32(3): 295—302
- Hansen T M, Nelsen H, Bernth N V *et al*, 1999. Expression of ferritin protein and subunit mRNAs in normal and iron deficient rat brain. Brain Res Mol Brain Res, 65: 186—197
- Laufberger V, 1937. Sur la cristallisation de la ferritine. Bull Soc Chim Biol, 19: 1575—1582
- Lobreaux S, Yewdall S J, Briat J F, 1992. Amino acid sequence and predicted three-dimensional structure of pea seed (*Pisum sativum*) ferritin. Biochem J, 288: 931—939
- Nichol H, Law J H, Winzerling J J, 2002. Iron metabolism in insects. Annual Review of Entomology, 47: 535—559
- Reif D W, 1992. Ferritin as a source of iron for oxidative damage. Free Radic Biol Med, 12: 417—427
- Thomas A M, Rogers J T, Leedman P J, 1999. Iron-regulatory, iron-responsive and ferritin mRNA translation. Int J Biochem Cell Biol, 31: 1139—1152

MOLECULAR EVOLUTION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF FERRITIN OF *PHASCOLOSOMA ESCULENTA*

LIU Yan^{1,2}, HOU Fu-Jing³, ZHOU Jun¹, WANG Zhong-Hua¹, LI Tai-Wu⁴, SU Xiu-Rong¹

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo, 315211; 2. Department of Applied Chemical Engineering, Ningbo Polytechnic, 315800; 3. Ningbo Green-Health Pharmaceutical Co., Ltd., Ningbo, 315505; 4. Ningbo City College of Vocational Technology, Ningbo, 315100)

Abstract Based on the ferritin genes obtained in laboratory (including genes from *Phascolosoma esculenta*, *Dendrorhynchus zhejiangensis*, *Tegillarca granosa*, *Sinonovacula constricta*, *Apostichopus japonicus*, and *Acaudina leucoprocta*), other ferritin genes were found in the NCBI database, and related amino acid sequences were downloaded. The SignalP program was used to search for signal peptides. The TMHMM program was used to search for and predict the transmembrane domain. The NetPhos program was used to predict the phosphorylation sites. ProtScale was used to analyze protein hydrophobicity. Clustal W was used to make multiple sequence alignments. The phylogenetic tree was constructed. The results show that none of the ferritins had any signal peptides or transmembrane domains. None could be located on the cell membrane. The ferritin of *T. granosa* was predicted to have four phosphorylation sites, the ferritin of *D. zhejiangensis* have eight; that of *A. leucoprocta*, nine; and that of *A. japonicus*, ten. The ferritins of *P. esculenta* and *S. constricta* were predicted to have no phosphorylation sites. The hydrophobicity of ferritin showed some differences across these six species. The maximum hydrophobicity appeared at 1—1.6 and the minimum value was within the range of -3.3—-2.8. Multiple sequence alignment showed that ferritin had an iron ion binding region (EEREHAEKLM FQNRGGR) and N-glycosylation site (NQSL) base sequences and that both these areas were highly conserved, indicating that the role of ferritin in iron metabolism may be significant.

Key words ferritin; molecular evolution; phylogenetic analysis; *Phascolosoma esculenta*