

## Lys- $\alpha$ 99 置換ヘモグロビン変異体の合成と酸素親和性

(中央大理工) ○吉田 瑠佳・齊藤 飛鳥・森田 能次・小松 晃之

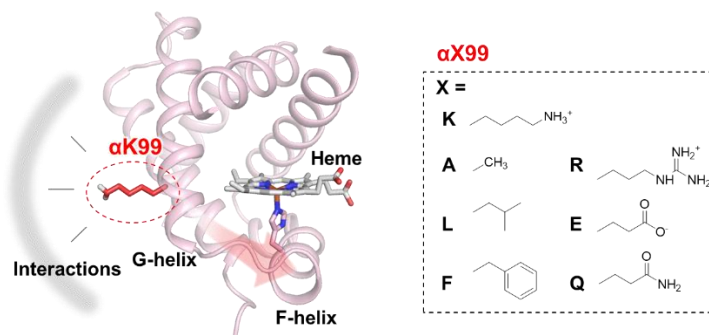
Synthesis and O<sub>2</sub> Affinity of Recombinant Lys- $\alpha$ 99 Substituted Hemoglobin Mutants

(Faculty of Sci. and Eng., Chuo University) ○Ruka Yohida, Asuka Saito, Yoshitsugu Morita, Teruyuki Komatsu

Chemical modification of Lys- $\alpha$ 99 in the central cavity of hemoglobin (Hb) decreases the O<sub>2</sub> affinity. However, the detailed mechanism has not been clarified. If the effect of the amino acid residue at the  $\alpha$ 99 position on the O<sub>2</sub> affinity is elucidated, it would be applied to the development of Hb based O<sub>2</sub> carriers. In this paper, we report the synthesis of recombinant Lys- $\alpha$ 99 substituted Hb mutants [rHb ( $\alpha$ K99X), X = R, A, Q, L, F and E], and relationship between the structure and the O<sub>2</sub> affinity (Fig. 1). The Lys- $\alpha$ 99 retarded the Hb dissociation ( $\alpha_2\beta_2 \rightarrow 2\alpha\beta$ ) by interacting with the surrounding amino acids. The strength of the interaction was evaluated from the dissociation constant. We found a negative relation between the dissociation constant and the O<sub>2</sub> affinity. In particular, rHb ( $\alpha$ K99A) which has a moderate dissociation constant would be a superior raw material of artificial O<sub>2</sub> carrier with low O<sub>2</sub> affinity and high O<sub>2</sub>-carrying capacity.

**Keywords :** Hemoglobin; O<sub>2</sub> affinity; Artificial O<sub>2</sub> carrier; Mutant

ヘモグロビン (Hb) の中央空洞部に存在する Lys- $\alpha$ 99 を化学修飾すると酸素親和性が低下する。しかし、その詳細なメカニズムは未だ明らかにされていない。 $\alpha$ 99 位置アミノ酸残基が酸素親和性に及ぼす影響を解明できれば、Hb を用いた人工酸素運搬体の開発に応用できると考えられる。そこで本研究は、Lys- $\alpha$ 99 を置換した組換え Hb 変異体 [rHb( $\alpha$ K99X), X = R, A, Q, L, F, E] を調製し、その構造と酸素親和性の相関を明らかにすることを目的とした (Fig. 1)。Lys- $\alpha$ 99 は周辺アミノ酸残基との相互作用により Hb の解離 ( $\alpha_2\beta_2 \rightarrow 2\alpha\beta$ ) を抑制していることがわかった。相互作用の強さは解離定数から評価することができ、それぞれの変異体において、解離定数と酸素親和性の間に負の相関が見られた。なかでも適度な解離定数を有する rHb( $\alpha$ K99A)は酸素親和性が低く、酸素運搬能に優れた人工酸素運搬体の原料になり得ることが示された。



**Fig. 1** Structure of rHb( $\alpha$ K99X) variants (X = R, A, Q, L, F and E).