

コア-シェル型構造のストロマフリーヘモグロビンナノ粒子の合成と酸素結合力

(中央大理工) ○高峯 晃生・岡本 航・高山 夏実・小松 晃之

Synthesis and O₂ Binding Ability of Core-Shell Structured Stroma-Free Hemoglobin Nanoparticle (*Faculty of Sci. and Eng., Chuo University*) ○Koki Takamine, Wataru Okamoto, Natsumi Kohyama, Teruyuki Komatsu.

Although various hemoglobin (Hb)-based O₂ carriers have been developed, autoxidation of the Hbs reduced their O₂ carrying ability. Stroma-free hemoglobin (SFHb) extracted from red blood cells contains reactive oxygen disproportionating enzymes [such as catalase (Cat)]. The aim of this study is to synthesize SFHb nanoparticle (SFHbNP) covered with human serum albumin (HSA) and to clarify its structure, O₂ binding property, and antioxidant ability. SFHb was polymerized using *N*-succinimidyl 3-maleimidopropionate and dithiothreitol, yielding SFHb nanoparticle. Consequently, coupling of maleimide groups on the particle with Cys-34 of HSA gave core-shell structured SFHbNP. The particle diameter was determined to be 30 nm by dynamic light scattering. Scanning electron microscopy confirmed the spherical shape. The *P*₅₀ was 8 Torr, which was lower (higher O₂ affinity) than that of Hb (12 Torr). The Hb oxidation rate of SFHbNP in H₂O₂ solution (20 μM) after 2 hr was only 3%. SFHbNP is an artificial O₂ carrier with high antioxidant ability.

Keywords: Hemoglobin; Albumin; Artificial O₂ Carrier; Nanoparticle; Catalase

ヘモグロビン(Hb)を用いた人工酸素運搬体が数多く開発されてきたが、Hbの自動酸化により酸素運搬能力が低下するという課題があった。一方、赤血球から赤血球膜成分(ストロマ)のみを除去したストロマフリーヘモグロビン(SFHb)は微量の活性酸素不均化酵素(カタラーゼ(Cat)など)を含有している。本研究は、SFHbを重合して得た微粒子の表面にヒト血清アルブミン(HSA)を結合したSFHbナノ粒子(SFHbNP)を合成し、その構造、酸素結合力、抗酸化能力を明らかにすることを目的とした。SFHb溶液に*N*-succinimidyl 3-maleimidopropionateを加え、タンパク質表面にマレイミド基を導入した後、架橋剤 dithiothreitol で重合し、SFHbの微粒子を得た。最後にその微粒子表面に残ったマレイミド基とHSAのCys-34を結合することにより、コア-シェル型のSFHbNPを合成した。動的光散乱法により求めた平均粒径は30 nmであった。走査型電子顕微鏡観察から球状粒子構造を確認した。酸素親和性の指標である*P*₅₀は8 Torrで、Hb(12 Torr)に比べ低下(酸素親和性は増大)した。H₂O₂水溶液(20 μM)中における2時間後のHb酸化率はわずか3%であり、SFHbNPが高い抗酸化能力を有する人工酸素運搬体であることがわかった。

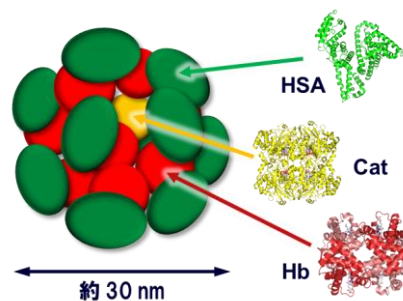


Fig. 1 Structure of SFHbNP.