

人工ヘムタンパク質モデル錯体による細胞内一酸化炭素の定量

(同志社大理工) ○桑野 杏那・北岸 宏亮¹

Quantification of intracellular carbon monoxide in cells using artificial hemoprotein model complex

(Faculty of Science and Engineering, Department of Molecular Chemistry and Biochemistry, Doshisha University) ○Anna Kuwano, Hiroaki Kitagishi

CO is known as a bioactive gas, which is produced as a byproduct of heme metabolism. Most of the produced CO binds to heme proteins, therefore it was difficult to quantify how much endogenous CO were produced in cells. In this study, we quantified the amount of CO in cells using the CO receptor hemoCD, which was developed in our laboratory. Then, we also try to track fluctuations in endogenous CO associated with cellular circadian rhythm.

Keywords : Carbon monoxide, Heme, Cyclodextrin, CO receptor, Circadian rhythm

一酸化炭素(CO)はヘムが代謝される際の副産物として産生されている。生産された CO は主に生体内でヘムタンパク質と結合するため、生体内の遊離 CO はガスクロマトグラフィーにより定量可能であったが、全ての生体内 CO を定量することは困難であった。我々は以前に開発した高親和性 CO レセプター-hemoCD (Figure 1)を用いて、生体サンプルの微量 CO を定量するアッセイ(hemoCD assay)を確立した¹⁾。本研究では hemoCD assay を用いて、培養細胞に含まれる内因性 CO の定量を試みた (Figure 2)。HeLa 細胞をセルスクレーパーで剥離し、そこへジチオナイトにより還元した hemoCD を添加した。その後、細胞懸濁液を超音波破碎し、遠心分離により細胞を除いた。上澄みをさらにフィルターで濾過した後、濾液の吸収スペクトルを測定した。hemoCD の CO 錯体および deoxy 錯体の割合より CO 量を算出すると、内在性 CO は細胞 10^6 個あたり約 400 pmol 存在した。さらに、内因性 CO は細胞の概日リズムに参与していることが知られており²⁾、Aphidicolin により HeLa 細胞を同調し、内因性 CO 量は概日リズムに従う周期によってどのように変動するのか追跡を試みた。

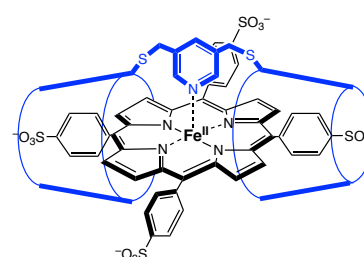


Figure 1. Structure of a CO receptor, hemoCD.

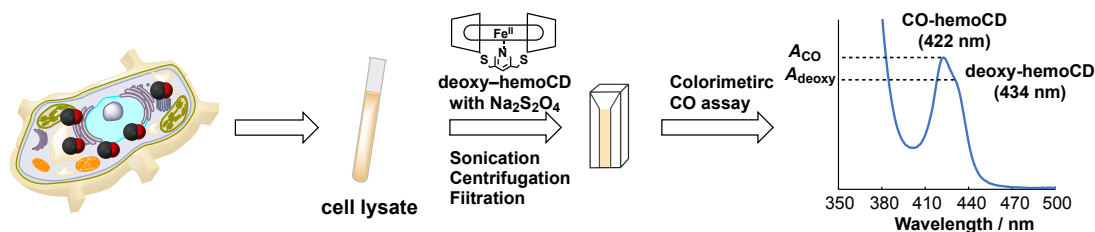


Figure 2. Application of hemoCD to quantify endogenous CO in cells.

1) Mao, Q. *et al. Commun. Biol.*, **2021**, 4, 425.

2) Dioum, E. M. *et al. Science*. **2002**, 298, 2385–2387.