

平成21年 5月20日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18550153
 研究課題名（和文） ヘムオキシゲナーゼの酵素化学的検討とヘム分解系マシーナリーへの展開
 研究課題名（英文） Enzyme chemical study of heme oxygenase and development for machinery of heme catabolism
 研究代表者
 坂本 寛 (SAKAMOTO HIROSHI)
 九州工業大学・大学院情報工学研究院・准教授
 研究者番号：70309748

研究成果の概要：ヘムオキシゲナーゼ (HO) はヘム代謝系の律速酵素で、NADPH-シトクロム P450 還元酵素から電子の供給を受け、ヘムを3段階からなる酸素依存性の反応によって分解し、ビリベルジン、一酸化炭素および鉄イオンを生成する。ビリベルジンは、ビリベルジン還元酵素によって直ちにビリルビンに還元される。本研究では、HOの触媒作用機序の解明と、ヘム代謝酵素および関連タンパク質の相互作用の探求を総合的に展開し、HOの生理機能を分子レベルで理解するための基盤作りを行った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,700,000	0	1,700,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,500,000	540,000	4,040,000

研究分野：生化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：酵素反応、蛋白質、ヘム、構造解析、シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

(1) ヘムオキシゲナーゼ (HO) はヘム代謝系の律速酵素で、NADPH-シトクロム P450 還元酵素 (CPR) から電子の供給を受け、ヘムを3段階からなる酸素依存性の反応によって分解し、ビリベルジン、一酸化炭素 (CO) および鉄イオンを生成する。ビリベルジンは、ビリベルジン還元酵素 (BVR) によって直ちにビリルビンに還元される。このヘム分解には、生体内で不用になったヘムの除去と鉄の再利用の他に、強いラジカル捕捉作用をもつビリルビンの生成およびシグナル伝達作用をもつ CO の発生源としての役割がある。HOには様々なストレスによって誘導される

HO-1 と、構成的に発現されている HO-2 の2つのアイソザイムが存在する。近年、HO-1 はビリルビン産生による活性酸素除去など生体防御機構の一員として働くこと、そして、HO-2 は CO を介して様々な情報伝達経路に関与することが示され、HOの多彩な生理作用が明らかになってきた。

(2) HOによるヘム分解反応は、基質ヘムが補酵素として作用し自己触媒的に分解するという特殊性から、中間過程、特に CO 発生を伴う第2ステップ以降については不明な点が多く残されている。また、ヘム分解系酵素 (HO-1、CPR、BVR) の個々の立体構造は既に決定されているが、基質結合や電子の

授受、生成物遊離に応じて、3者がいかに会合・解離するのか、それを解明するタンパク質-タンパク質間相互作用の研究は緒に就いたばかりである。さらに、HOは様々なシグナル伝達タンパク質との共局在 (colocalization) が免疫組織化学的に指摘されているが、具体的な相互作用の様式はわかっていない。

2. 研究の目的

(1) HO反応機構全容の解明: HO反応の酸素活性種 $\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$ の生成と α メソ位水酸化 (第1ステップ) については、ヘムポケット内の水分子を介した水素結合ネットワークの寄与が明らかになっている。この水分子の一部がビリベルジン生成にも関与していることが、我々の結晶構造解析から示唆されており、今回はこのネットワークの役割を中心に、第2、第3ステップの機構をESR分光学的解析およびX線結晶構造解析などを用いて明らかにする。また、我々は、第2ステップには2つの経路が存在し、その一つに新しい中間体を見いだしており、これについても詳細に検討する。さらに、HO-1を用いてヘム結合や酵素反応をカロリメトリー解析し、フォールディングを含む酵素ダイナミクスを熱力学的に検討し、HO反応全体の理解に努める。

(2) ヘム分解系マシーナリーの解明: 既に我々は、HO-1とCPRとの会合には、ヘムおよびNADP(H)結合に惹起するそれぞれの構造変化を認識しあう動的な機構が存在することを見いだしている。そこで、HO-1/CPR複合体の構造をX線結晶構造解析、あるいは電子顕微鏡を用いて解析し、先に提唱したドッキングモデルを検証し、CPRからの電子伝達系路を特定する。また、ビリベルジンの授受に着目し、HO-1とBVRの相互作用を表面プラズモン共鳴法やカロリメトリー法で解析し、ヘム分解酵素間ネットワークを明らかにする。さらに、酵素学的知見の乏しいHO-2について結晶構造解析を行うとともに、HO-2とCPRおよびBVRとの相互作用を検討し、HO-1との相違点を明らかにする。HO-2はCys-Proからなるheme regulatory motif (HRM) 部位をC末端に2つもつが、その機能はまだ不明であり、今回はタンパク質間相互作用における機能について調べる。

3. 研究の方法

(1) HOとその関連タンパク質の発現と精製: HO-1, HO-2, CPR, BVRの可溶性酵素を大腸菌で大量発現させ、各種クロマトグラフィーによって精製した。また、電子顕微鏡観察およびSNP解析に用いたHO-1変異体は、GSTを利用した融合タンパク質系での発現を試み、アフィニティークロマトグラフィーによって

精製した。HO-1の野生型および変異酵素に、CPR, BVR、ヘムを加え、37°Cでインキュベートし、その後、電子供与体NADPHを加え、HO反応によるビリルビン形成を467 nmで測定し、酵素活性[nmol bilirubin/mg]を求めた。

(2) カロリメトリー解析: 等温滴定型熱量計 (isothermal titration calorimeter, ITC) を用いて測定した。ヘム結合による滴定曲線の最小二乗法カーブフィッティングにより、エンタルピー変化 ΔH 、結合定数 K 、ストイキオメトリー N を求めた。また、得られた各パラメータを用いて、 $\Delta G = -RT \ln K$ からギブスの自由エネルギー変化 ΔG を、 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ からエンタルピー変化 ΔS を求めた。

(3) 電子顕微鏡解析: 急速凍結法で氷包埋することで電子顕微鏡観察試料を作製し、電子分光クライオ電子顕微鏡で観察、撮影した。取得した画像に対し、位相補正を行い、GST-HO-1、CPR・GST-HO-1複合体、CPR・HO-1複合体と認識できる分子を単粒子で切り出し、結晶構造および複合体シミュレーションモデルと比較した。その後、切り出した画像の投影角を決定し、逆投射を行うことで各3次元複合体像を取得した。

(4) ペプチド合成: HRMを2つ含むペプチド及びそのCys残基のAla置換アナログペプチドをFmoc法を用いた固相ペプチド合成法により合成し、逆相HPLCにより精製した。CDスペクトルを測定するとともに、ヘム溶液にペプチド溶液を滴定し、その紫外可視吸収スペクトルを測定した。

(5) HOとその関連タンパク質との相互作用解析: HO-1とCPR, BVRとの相互作用を表面プラズモン共鳴法 (SPR) を用いて検討した。センサーグラムから結合速度定数 (k_a)、解離速度定数 (k_d)、及び解離定数 (K_D) を求めた。

4. 研究成果

(1) ヘム結合のカロリメトリー解析: ラットHO-1にヘムを滴定し、紫外可視吸収スペクトルおよび等温滴定型熱量計によって測定した。その結果、ヘムの解離定数 (K_d) は 10^{-8} Mオーダーで、温度変化 (8~37 °C) に対して ΔG は-39~-43 kJ/molとほとんど変化せず、温度上昇に伴う ΔH の減少 (-6~-28 kJ/mol) と $-T\Delta S$ の増加 (-32~-15 kJ/mol) によって相殺されていた (図1)。ヘム蛋白質の成熟過程では、ヘム結合により大きな構造変化が起こるが、HO-1の ΔH は比較的小さく、 $\Delta S > 0$ であることから、HO-1のヘム結合による構造変化は小さく、ヘムポケット周辺に限定されると考えられ、先に我々の提唱した誘導適合モデルを支持する結果が得られた。また、H25Aは野生型に比べて、結合能が300倍低下しており、His25のヘムポケット形成時における重要性が示唆された。

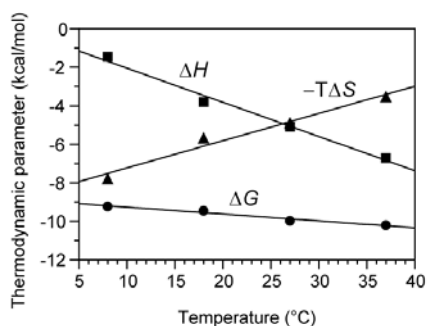


図1. HO-1のヘム結合における熱力学的パラメータの温度依存性。

(2) SNPによるアミノ酸置換の与える影響：現在ヒトHO-1のSNPsによるアミノ酸置換として、D7H、P106L、R113H、Q152Hの4つが報告されている。そこで、ヒトHO-1の野生体と変異体の酵素活性を測定し、SNPsと酵素機能の関連性について検討したところ、P106L変異体は野生体の1割程度の活性しか示さなかった。一方、アスコルビン酸を用いた場合には、どの変異体についても酵素活性の低下は見られなかった。Pro106はCPR結合部位近傍に位置するためLeuの置換によりCPRからの電子供与が機能していない可能性が示唆された。また、P106L変異体の解離定数(K_d)は野生体の15倍となり、ヘム分解のsingle turnover反応とCDスペクトル測定では野生体と大きな違いが見られた。

(3) CPR・HO-1複合体の電子顕微鏡観察：投影画像の位相補正を行い、CPR・GST-HO-1複合体と認識できる分子を1分子ずつ切り出し、CPRおよびHO-1の結晶構造、複合体シミュレーションモデルと比較した。さらに、

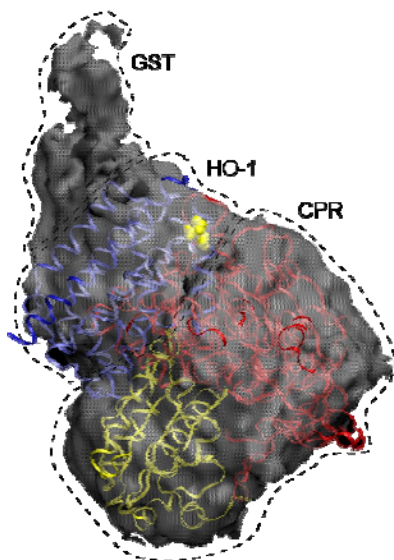


図2. クライオ電子顕微鏡法から求めたGST-HO-1・CPR複合体の3次元再構成像。リボンはシミュレーション

モデル.

1分子画像の投影角を決定し、3次元複合体像を取得した。電子顕微鏡による観察、撮影により得られたCPR・GST-HO-1複合体1分子画像を、CPR・HO-1複合体シミュレーションモデルと比較したところ、モデルと類似の結合様式をとることが確認できた(図2)。さらに詳細な比較のため、単粒子解析法により3次元像を再構成したところ、HO-1のCPRに対する結合角がモデルとは若干異なることが分かった。3次元モデリングにより、HO-1がCPRのFMNドメインにより接近するように複合体を形成していることが示唆された。

(4) ヘム分解系酵素の相互作用解析：構成型アイソザイムHO-2とCPRの相互作用をSPR法により解析し、基質ヘムおよびNADP(H)が両酵素の相互作用に与える影響を検討した。可溶性ラットHO-2と可溶性ラットCPRをそれぞれ大腸菌中で過剰発現させ、各種クロマトグラフィーによって精製した。精製したアポ型HO-2に過剰のヘムを添加し、ゲルろ過によってホロ型HO-2を単離した。CPRをSPR装置のセンサーチップ上に固定化し、溶液中のアポ型またはホロ型HO-2との結合を観測した。さらに、溶液中にNADP(H)を添加し、その影響を調べた。ただし、ヘム分解を防ぐため、酸化型のNADP⁺を用いた。ヘムの影響を調べるため、アポ型およびホロ型HO-2とCPRとの相互作用を測定したところ、アポ型は結合せず、ホロ型のみCPRと結合した。これより、CPRはホロ型HO-2を認識して結合することが示唆された。また、ホロ型HO-2とCPRの結合親和性は、NADP⁺の添加により増強された。これより、CPRはNADP⁺との結合によって、ホロ型HO-2に対してより親和性の高いコンホメーションに変化することが示唆された。

(5) HRMペプチドのヘム結合性：ラット由来HO-2のヘム調節モチーフ(HRM)を2つ含む30残基のペプチド(WT)及びCys残基のAla置換アナログ(C264A、C281A、C264A/C281A)について、ヘムとの相互作用を解析した。4種のペプチドについてCDスペクトルをリン酸緩衝液中とTFE中で測定した結果、HRM近傍の二次構造はランダム構造であることが予測された。次に、ペプチドに対してヘムの滴定を行い、その吸収スペクトルを測定したところ、WT及びC264A、C281Aでは、ヘム滴定により可視部で特有な吸収の増大が観測された。一方、C264A/C281Aでは有意の吸収が観測されなかった。さらに、ヘムを添加した状態でMALDI-TOF-MSによる質量分析を行った。ペプチド由来のピークの外、WTではヘム結合型と思われる2つのピークが得られ、C264A、C281Aでは1つ得られた。一方、

C264A/C281A ではペプチド由来のみが得られた。これより、HRM とヘムが相互作用していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 22 件)

1. Sato, H., Sugishima, M., Sakamoto, H., Higashimoto, Y., Shimokawa, C., Fukuyama, K., and Noguchi, M. "Crystal structure of rat heme oxygenase-1 in complex with ferrous verdoheme: presence of a hydrogen bond network on the distal side." *Biochem. J.* **419**, 339-345, 2009, 査読有.
2. Nakashima, S., Higashimoto, Y., Noguchi, Y., and Sakamoto, H.: "Functional Analysis of Heme Regulatory Motifs of Rat Heme Oxygenase-2." In: Nomizu, M. (Ed.): Peptide Science 2008. Protein Research Foundation, Osaka, pp. 217-220, 2009, 査読有.
3. Nishikawa, Y., Yasumi, Y., Noguchi, S., Sakamoto, H., and Nikawa, J. "Functional Analyses of *Pseudomonas putida* Benzoate Transporters Expressed in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*." *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **72**, 2034-2038, 2008, 査読有.
4. Higashimoto, Y., Sugishima, M., Sato, H., Sakamoto, H., Fukuyama, K., Palmer, G., and Noguchi, M. "Mass spectrometric identification of lysine residues of heme oxygenase-1 that are involved in its interaction with NADPH-cytochrome P450 reductase." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **367**, 852-858, 2008, 査読有.
5. Nakashima, S., Higashimoto, Y., Noguchi, M., and Sakamoto, H.: "Interaction between Heme and Synthetic Peptides Containing Heme Regulatory Motifs of Rat Heme Oxygenase-2." In: Aimoto, S. (Ed.): Peptide Science 2007. Protein Research Foundation, Osaka, pp. 249-250, 2008, 査読有.
6. Ueno, H., Yasunaga, T., Shigyoji, C, and Hirose, K. "Dynein pulls microtubules without rotating its stalk." *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **105**, 19702-19707, 2008. 査読有.
7. Liu, Z., Takazaki, H., Nakazawa, Y., Sakato, M., Yagi, T., Yasunaga, T., King, S.M., and Kamiya, R. "Partially functional outer arm dynein in a novel *Chlamydomonas* mutant expressing a truncated γ heavy chain." *Eukaryotic Cell* **7**, 1136-1145, 2008, 査読有.
8. Murakami, K., Stewart, M., Nozawa, K., Tomii, K., Kudou, N., Igarashi, N., Shirakihara, Y., Wakatsuki, S., Yasunaga, T., and Wakabayashi, T. "Structural basis for tropo-
9. Yasunaga, T., Wakabayashi, T. "Evaluation of a 2k CCD camera with an epitaxially-grown CsI scintillator for recording energy-filtered electron cryo-micrographs." *J. Electron Microsc. 57*, 101-112, 2008, 査読有.
10. Sato, H., Higashimoto, Y., Sakamoto, H., Sugishima, M., Takahashi, K., Palmer, G., and Noguchi, M. "Electrochemical reduction of ferrous α -verdoheme in complex with heme oxygenase-1." *J. Inorg. Biochem.* **101**, 1394-1399, 2007, 査読有.
11. 坂本 寛「ヘム分解の自己分解メカニズム—ヘム分解酵素ヘムオキシゲナーゼの触媒機構」*化学と工業*, 日本化学会, 60 巻 9 号, pp. 868-887, 2007, 査読無.
12. Sugishima, M., Oda, K., Ogura, T., Sakamoto, H., Noguchi, M., and Fukuyama, K. "Alternative cyanide-binding modes to the haem iron in haem oxygenase." *Acta. Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* **63**, 471-474, 2007, 査読有.
13. Sugishima, M., Higashimoto, Y., Oishi, T., Takahashi, K., Sakamoto, H., Noguchi, M., and Fukuyama, K. "X-ray crystallographic and biochemical characterization of the inhibitory action of an imidazole-dioxolane compound on heme oxygenase." *Biochemistry* **46**, 1860-1867, 2007, 査読有.
14. Murakami, K., Yumoto, F., Ohki, S. Y., Yasunaga, T., Tanokura, M., and Wakabayashi, T. "Structural basis for calcium-regulated relaxation of striated muscles at interaction sites of troponin with actin and tropomyosin." *Adv. Exp. Med. Biol.* **592**, 71-86, 2007, 査読有.
15. Hara, F., Yamashiro, K., Nemoto, N., Ohta, Y., Yokobori, S., Yasunaga, T., Hisanaga, S., and Yamagishi, A. "An Actin Homolog of the Archaeon *Thermoplasma acidophilum* That Retains the Ancient Characteristics of Eukaryotic Actin." *J. Bacteriol.* **189**, 2039-2045, 2007, 査読有.
16. Yoshida T., Iizuka R., Itami K., Yasunaga T., Sakuraba H., Ohshima T., Yohda M., and Maruyama T. "Comparative analysis of the protein folding activities of two chaperonin subunits of *Thermococcus* strain KS-1: the effects of beryllium fluoride." *Extremophiles* **11**, 225-235, 2007, 査読有.
17. Wachi, H., Sato, F., Nakazawa, J., Nonaka, R., Szabo, Z., Urban, Z., Yasunaga, T., Maeda, I., Okamoto, K., Starcher B. C., and Li, D. Y. "Domains 16 and 17 of tropoelastin in elastic fibre formation." *Biochem. J.* **402**, 63-70,

- 2007, 査読有.
18. Nishino, Y., Yasunaga, T., and Miyazawa, A. "A genetically encoded metallothionein tag enabling efficient protein detection by electron microscopy." *J. Electron Microsc.* **56**, 93-101, 2007, 査読有.
 19. 安永卓生「電子顕微鏡画像解析ソフトウェア統合環境Eosの試み」*顕微鏡*, 42 巻 3 号 214-216, 2007, 査読有.
 20. Higashimoto, Y., Sato, H., Sakamoto, H., Takahashi, K., Palmer, G., and Noguchi, M. "The reactions of heme- and verdoheme-heme oxygenase-1 complexes with FMN-depleted NADPH-cytochrome P450 reductase-electrons required for verdoheme oxidation can be transferred through a pathway not involving FMN." *J. Biol. Chem.* **281**, 31659-31667, 2006, 査読有.
 21. Noda, K., Nakamura, M., Nishida, R., Yoneda, Y., Yamaguchi, Y., Tamura, Y., Nakuamura, H., and Yasunaga, T. "Atomic model construction of protein complexes from electron micrographs and visualization of their 3D structure using VR system." *J. Plasma Physics*, **72**, 1037-1040, 2006, 査読有.
 22. 安永卓生, 「知っておきたい分析・検出法 (9) 電子顕微鏡法—生命研究での新展開—」*現代化学*, **424** 巻、2006, 査読無.
- [学会発表] (計 26 件)
1. 東元祐一郎, 杉島正一, 佐藤秀明, 下川千寿, 原田沙織, 坂本 寛, 野口正人「質量分析法によるヘムオキシゲナーゼと NADPH-シトクロムP450 還元酵素・ビリベルジン還元酵素との相互作用解析」第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008年12月10日、神戸
 2. 古賀真也, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛「ヘムオキシゲナーゼ-1 を応用した新型バイオセンサーの開発」第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008年12月10日、神戸
 3. 佐藤秀明, 東元祐一郎, 坂本 寛, 杉島正一, 下川千寿, 原田沙織, 野口正人「CO 配位型ベルドヘム-ヘムオキシゲナーゼ複合体のオキサポルフィリン環の還元」第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008年12月10日、神戸
 4. 杉島正一, 佐藤秀明, 東元祐一郎, 坂本 寛, 下川千寿, 原田沙織, 福山恵一, 野口正人「Crystal structure of rat verdoheme-heme oxygenase-1 complex」第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008年12月10日、神戸
 5. 岩崎浩之, 大村昇, 東元祐一郎, 野口正人, 小松英幸, 坂本 寛「ラット heme oxygenase-1 のヘム結合の熱力学的特性にイオン強度が及ぼす影響」第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008年12月10日、神戸
 6. 中島正太, 高尾研司朗, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛「ラットヘムオキシゲナーゼ-2 由来HRM ペプチドのヘム相互作用解析」第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008年12月10日、神戸
 7. 中島正太, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛「ラットヘムオキシゲナーゼ-2 が持つヘム調節モチーフの機能解析」第45 回ペプチド討論会、2008年10月29日、東京
 8. 坂本 寛, 東元祐一郎, 杉島正一, 野口正人「Surface plasmon resonance and mass spectrometric analysis of proteinprotein interaction in heme degradation system」The 1st Japan-Korea joint symposium on bio-microsensing technology、2008年5月23日、北九州
 9. 東元祐一郎, 杉島正一, 佐藤秀明, 野口正人, 坂本 寛「質量分析法によるヘムオキシゲナーゼと NADPH-シトクロムP450 還元酵素・ビリベルジン還元酵素との相互作用解析」平成20年度日本生化学会九州支部例会、2008年5月18日、福岡
 10. 中島正太, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛「ラット由来ヘムオキシゲナーゼ-2が持つヘム調節モチーフの機能解析」平成20 年度日本生化学会九州支部例会、2008年5月18日、福岡
 11. 岩崎浩之, 大村昇, 野口正人, 東元祐一郎, 小松英幸, 坂本 寛「ラット Heme oxygenase-1 のヘム結合の熱力学的特性に与えるイオン強度変化の影響」平成20 年度日本生化学会九州支部例会、2008年5月18日、福岡
 12. 堤 由佳, 新村理, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛「ヒト Heme oxygenase-1 遺伝子の SNPsによるアミノ酸置換が酵素機能に与える影響」平成20年度日本生化学会九州支部例会、2008年5月18日、福岡
 13. 鈴居詠之郎, 古賀真也, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛「蛍光ラベル化した Heme oxygenase-1 を利用したヘムセンサーの開発」平成20年度日本生化学会九州支部例会、2008年5月18日、福岡
 14. 坂本 寛「ヘムオキシゲナーゼのヘム結合能の解析とヘムセンサーへの応用」第10 回生命化学研究会シンポジウム、2008年1月8日、熊本
 15. 中尾亮太, 堤 由佳, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛, 安永卓生「クライオ電子顕微鏡法によるヘムオキシゲナーゼ-1・シトクロムP450還元酵素複合体の結合様式の

- 解明」第45回日本生物物理学会年会、2007年12月21日、横浜
16. 堤 由佳、岩竹麻理子、新村 理、東元祐一郎、野口正人、坂本 寛「ヒト heme oxygenase-1 のヘム分解活性および立体構造に対するアミノ酸置換を伴うSNPsの影響」第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学会大会合同大会 (BMB2007)、2007年12月12日、横浜
 17. 大村 昇、田中知子、小松秀幸、東元祐一郎、野口正人、坂本 寛「ラットヘムオキシゲナーゼ-1 によるヘム結合のカロリメトリー解析」第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学会大会合同大会 (BMB2007)、2007年12月12日、横浜
 18. 中島正太、東元祐一郎、野口正人、坂本 寛「ラットヘムオキシゲナーゼ-2 のヘム調節モチーフ含有ペプチドのヘムとの相互作用」第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学会大会合同大会(BMB2007)、2007年12月12日、横浜
 19. 佐藤秀明、東元祐一郎、坂本 寛、野口正人「Electrochemical reduction of ferrous α -verdoheme-rat heme oxygenase-1 complex」第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学会大会合同大会(BMB2007)、2007年12月12日、横浜
 20. 中島正太、東元祐一郎、野口正人、坂本 寛「ラットヘムオキシゲナーゼ-2 のヘム調節モチーフ含有合成ペプチドのヘムとの相互作用」第44回ペプチド討論会、2007年11月8日、富山市
 21. 坂本 寛「ヘム分解酵素ヘムオキシゲナーゼの構造・反応・相互作用」第31回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム、2007年9月22日、湯布院
 22. 東元祐一郎、佐藤秀明、杉島正一、坂本 寛、野口正人「FMN 欠失NADPH-シトクロムP450 還元酵素を用いたヘムオキシゲナーゼ反応における電子授受機構の検討」第7回日本蛋白質科学会年会、2007年5月24日、仙台
 23. 中島正太、東元祐一郎、野口正人、坂本寛「ラットヘムオキシゲナーゼ-2 のヘム調節モチーフの合成とヘムとの相互作用」平成19年度日本生化学会九州支部例会、2007年5月19日、宮崎
 24. 佐藤秀明、東元祐一郎、坂本 寛、野口正人「ベルドヘム-ヘムオキシゲナーゼ複合体の電気化学的還元」平成19年度日本生化学会九州支部例会、2007年5月19日、宮崎
 25. 杉島正一、東元祐一郎、大石 徹、高橋秀典、坂本 寛、野口正人、福山恵一「イミダゾール-ジオキソレン化合物によるヘムオキシゲナーゼの阻害機構」平成19年度日本生化学会九州支部例会、2007年5月19日、

宮崎

26. 中尾亮太、堤由佳、東元祐一郎、野口正人、安永卓生、坂本 寛「クライオ電子顕微鏡法によるヘムオキシゲナーゼ-1・シトクロムP450 還元酵素複合体の結合様式の解明」平成19年度日本生化学会九州支部例会、2007年5月19日、宮崎

〔図書〕(計2件)

1. 坂本 寛 (分担執筆)、朝倉書店、酵素ハンドブック 第3版、2008、996ページ (877-880, 883-885)
2. 安永卓生 (共著)「電子顕微鏡の節」、実験化学講座、丸善(株)、2006.

〔その他〕

ホームページ

<http://www.bio.kyutech.ac.jp/~sakakan/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本 寛 (SAKAMOTO HIROSHI)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・准教授

研究者番号：70309748

(2) 研究分担者

安永 卓生 (YASUNAGA TAKUO)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・教授

研究者番号：60251394

(3) 連携研究者

東元 祐一郎 (HIGASHIMOTO YUICHIRO)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：40352124