

平成21年 5月22日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18590278
 研究課題名（和文） ヘムオキシゲナーゼによるヘム分解中間過程と CO のガス状伝達物質としての意義
 研究課題名（英文） The intermediate steps of heme oxygenase reaction and the physiological significance of carbon monoxide as a gaseous transmitter
 研究代表者
 野口 正人 (NOGUCHI MASATO)
 久留米大学・医学部・教授
 研究者番号：10124611

研究成果の概要：ヘモグロビンなどのヘムはヘムオキシゲナーゼという酵素によって分解され、最終的には胆汁色素として糞便中に排泄される。ヘムオキシゲナーゼによるヘム分解機構の解明が、我々のメインテーマであり、本申請研究では、ヘム分解の中間過程に現れるベルドヘムの開環反応の詳細およびヘムオキシゲナーゼ反応に電子を供給する、NADPH-シトクロム P450 還元酵素との相互作用および電子伝達経路について詳細な知見を得た。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,200,000	0	1,200,000
2007年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	630,000	3,930,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：酵素，生体分子，蛋白質，有機化学

1. 研究開始当初の背景

ヘムオキシゲナーゼ(HO)は、本来ヘム蛋白質ではないが、基質であるヘムが自触的にO₂を活性化し、3段階の酸素添加反応(ヘム→ α -ヒドロキシヘム→ベルドヘム→ビリベルジン)によってヘムを開環し、ビリベルジン・鉄・COを生成する。生理的還元力として、NADPH-シトクロム P450 還元酵素(CPR)からの電子を利用する。HOによるヘム分解過程の理解は、我々含めた内外の研究者による構造生物学的観点からの研究によ

り、過去10年間で格段に進展した。一方、これまでヘムの分解がHOの唯一の役割であると考えられてきたが、COのガス状伝達物質としての可能性およびビリベルジンの抗酸化作用など、HO生成物にはそれぞれ固有の生理的意義が認められつつあり、HOに関する臨床的研究も活発になっている。本申請研究は、このような背景とこれまでの我々の研究の歩みおよび国内外の研究状況を踏まえ、目的の項に述べる事項を明らかにするために立案された。

2. 研究の目的

(1) ベルドヘム開環反応の解明

この開環反応においても、第1反応と同様にベルドヘムの鉄イオンによるO₂の活性化が提唱されている。このことを検討するために、HO-1-ベルドヘム複合体を結晶化しその構造を解明する。しかし一方、ベルドヘムのO₂親和性はヘムに比べて極めて低く、モデル化合物を用いた実験ではオキソポルフィリン環の還元により生じた radical 体へのO₂付加が観測されていることから、O₂の radical 付加によるオキソ架橋の開裂も考えられる。そこで再構成したHO-1-ベルドヘム複合体を電気化学的に還元した系で酸素との反応性も検討する。

(2) HO と CPR の相互作用と電子伝達経路の特定

表面プラズモン共鳴法を用いて、HOとCPRとの蛋白間相互作用を検討した結果、HOはシトクロムb₅やP450など他のCPRのredox partnerと異なる様式でCPRと会合することが知られた。HOの変異酵素(K149A, R185A)を用いた実験結果とあわせて考えると、HO/CPR系は、一般の酸化還元酵素間における電子授受機構を考える上で、絶好のモデル系となると思われる。そこで、HO表面の電子の「受け取り部位」からヘムポケットのヘム鉄に至るまでの電子伝達経路を、伝達に関与するアミノ酸残基を特定することによって明らかにする。

(3) HO-2 で生成される CO の生理的意義

COにガス状伝達物質としての生理的意義があるとすれば、COは可溶性グアニルシクラーゼ(sGC)を介さない、nM濃度レベルのCOによる標的分子に対する直接作用にある可能性が示唆されている。その代表的な例としてBK channelに対するHO-2のO₂センサーとしての役割(Williams *et al.*, *Science* **306**, 2093, 2004), Neuronal PAS domain protein 2 (NPAS2) のヘムを介するCOによる転写活性調節が挙げられる(Dioum *et al.*, *Science* **298**, 2385, 2002)。本研究期間において、NPAS2の立体構造を解析することにより、COの結合や酸化還元状態に依存する2量体形成(NPAS2/BMAL1ヘテロダイマー)調節機構の分子機構を明らかにする糸口を見いだす。

3. 研究の方法

(1) ベルドヘム開環反応

この反応は、酸加水分解により非酵素的にも起こるが、HO系ではO₂と電子を消費して進行する。しかし、HO系において、ベルドヘムの鉄イオン上でO₂が活性化されるのかあるいはポルフィリン環に直接O₂が付加するのか確定的ではないし、ピリベルジン生成に必要とされる電子数も確定していない。実際、ベルドヘム鉄の酸素親和性はヘム鉄に比べて著しく低く、オクタエチルオキサポルフィリン-ピリジン錯体[OEOP(pyr)₂]などのモデル化合物では、還元されたOEOP(pyr)₂のオキサポルフィリンラジカルへの酸素付加が観測されている。そこで、HO-1・ベルドヘム複合体を嫌気条件下、電気化学的に還元し、ラジカル体が生成されているかをESRによって確認する。また添加するO₂量をコントロールしながらストップフロー実験を行い、観測される反応中間体から反応機構を推定する。

(2) HO と CPR の相互作用

HOのヘムポケット周辺の分子表面には正電荷をもったアミノ酸側鎖が多く分布している領域があり、この領域が負電荷を帯びたCPR分子表面とのドッキング部位と想定されてきた。事実、我々は表面プラズモン共鳴法を用いた結合実験とコンピューターモデリングをあわせて検討した結果、野生型HOとCPRは、NADP⁺が存在すると、そうでない場合に比べて約5倍強く結合すること、さらにK149AおよびR185A変異酵素を用いた解析によって、K149は、CPR内のFMN結合ドメイン近傍のacidic clusterを介して、R185はCPRに結合したNADPHを介して、それぞれCPRとの相互作用に関与していることを明らかにした。モデルによれば、FMN近傍にはHOのヘムの遠位側にポルフィリン環の辺縁に接するように、Tyr137が位置しており、このものに積み重なるようなかたちでTyr, Phe残基が連続して配置されている構造がみられ、これがタンパク表面まで続いている。Tyr137は種間でよく保存されている。このような複数の芳香族アミノ酸残基が電子伝達に重要な役割を果たしている可能性が高い。よってこれらの残基をAlaなどに置換した変異体を作成し、その酵素活性検討から、電子伝達経路を探索する。

(3) HO-2 で生成される CO の生理的意義

NPAS2は約800アミノ酸からなる比較的巨大な蛋白質であるが、N末端側にbHLH, PAS-A, PAS-Bからなる合計300アミノ酸程度のドメイン構造を持っており、この部位のみでCO濃度依存的にBMAL1とヘテロダイマーを形成し、DNAに結合する事が可能である。PAS-A, PAS-BドメインはバクテリアのCOセンサーであるCooA, O₂センサーであるFixL, EcDOS, 光センサーであるPYP等のセンサー蛋白質で頻繁に見られるドメインであり、この部位にそれぞれ1分子のヘムを結合しCOを結合する事が出来る。従って最低限N末端側ドメイン部分の構造を決定すれば必要な情報のほとんどは得られる。よって、発現系構築は全長とN末端側ドメインのみの両方について行う。具体的にはcDNA libraryからPCRにより目的遺伝子断片を増幅し、DNAシーケンスの確認後、発現ベクターへとつなぎかえる。N末端側のbHLH, PAS-A, PAS-Bドメインを含む蛋白質と全長の両者の発現系を構築し、精製を行う。発現蛋白質が不溶性画分に現れたりヘムを結合していない場合は、変性蛋白質からの巻き戻し、再構成系を確立させる。このものについて、ヘム複合体の結晶構造を解析する。

4. 研究成果

(1) ベルドヘム開環反応

①ベルドヘムからビリベルジン-鉄錯体への転換反応には、ベルドヘムのオキサポルフィリン環が一電子還元された π -neutral radical体が、中間体として関与する可能性が示唆されてきた。これを検討するため、嫌気条件下で鉄2価ベルドヘムとHO-1の複合体を調製し、電気化学的還元を行なった。作用電極に網状の金電極、参照電極に銀-塩化銀電極、補助電極に白金電極を用い、各電位で複合体の吸収スペクトルを測定した。Nernst plotより、HO-1に結合したベルドヘムのオキサポルフィリン環に対する一電子還元の還元電位として、-0.47 V vs. NHEを得た。この値は、CPRの補欠分子FMN、FADや補酵素NADPHの酸化還元電位より約0.1V低く、HO-1に結合したベルドヘムの環のCPR/NADPH系による還元は熱力学的に起こりにくいものと判断された。よって、生理的条件下での鉄2価ベルドヘムの分解は、オキサポルフィリン環の一電子還元ではなく、中心の鉄へO₂が結合することにより開始するものと思われる。

② ベルドヘム-ラットHO-1複合体を調製、結晶化し、その構造を2.2Åの分解能で得た。非酵素的な分解を抑えるため、全ての操作は嫌気条件下で行なった。ベルドヘム-HO-1複合体の全体構造は、ヘム-HO-1複合体と同様であった。また、ベルドヘムの鉄に対する遠位軸配位子として、H₂O または OH⁻が配位していた。さらに、ベルドヘムの遠位側には複数の水分子とアミノ酸残基で構成される水素結合ネットワークが観測された。このような水素結合ネットワークは、ヘム-HO-1複合体やビリベルジン鉄錯体-HO-1複合体でも保存されている。このことは、ヘムから α -ヒドロキシヘムへの酸素添加反応と同様に、 α -ベルドヘムからビリベルジン鉄錯体への分解反応においても、この水素結合ネットワークが活性酸素種(おそらくは Fe-OOH)の生成に必要なプロトンを供与する可能性が示唆された。

③ ヘム代謝と深い関連を持つ症状として黄疸が知られているが、近年ガン・、循環器障害・マラリア等の病態においてもヘム代謝の関与が示唆されており、HO阻害剤は薬剤としての有用性が期待される。最近、イミダゾール-ジオキソレン化合物が、従来のHO阻害剤より特異的にHOを阻害する事が明らかにされたが、この化合物がどのようにHOを阻害するのかについては不明であった。そこで、ヘム-HO-1複合体にイミダゾール-ジオキソレン化合物を結合させ、その構造を2.7Å分解能で決定した。その結果、阻害剤のイミダゾール基がヘム鉄に配位結合し、クロロフェニル基が疎水的なポケットに結合する事が明らかになった。すなわち、この阻害剤はHOの遠位側ヘムポケットに結合し、酸素の結合を阻害する事によって、HO反応を阻害している事が知られた。今回決定した立体構造は、より特異的なHO阻害剤の開発における構造基盤として有用と考えられる。また、この阻害剤がHO反応の3段階目の反応であるベルドヘムからビリベルジンへの反応を特に強く阻害することも知られた。このことは、この阻害剤のヘム複合体とベルドヘム複合体に対する親和性が両者でさほど差がないのに対して、酸素の両者に対する親和性が大きく異なるものによるものと推察された。

(2) HOとCPRの相互作用

①CPRからHOへの電子伝達機構について検討するため、FMN欠損CPRを作成した。FMN欠損CPRは、CPRのTyr-140とTyr-178をAla

に変異させた酵素を2M KBrで透析することにより作成した。HPLC分析により、変異CPRのFAD含量は野生型と同程度である一方で、FMNのみが完全に欠損していることが確認された。さらにCDスペクトルにより、FMN欠損CPRは野生型CPRと同様の構造を維持していることが示唆された。FMN欠損CPRは、シトクロムc還元活性をほぼ失っていたが、フェリシアン化カリウム還元活性は野生型CPRと同程度の活性を維持していた。また、表面プラズモン共鳴法により、HOとFMN欠損CPRは、野生型CPRと同程度のKd値で結合することが確認された。NADPHとFMN欠損CPRを電子供給系とした場合、HOに結合したヘムの分解は全く起こらなかった。一方、ヘム分解過程の中間体であるベルドヘムは、FMN欠損CPRによって、ビリベルジン鉄キレートまで分解され、しかも、この反応はFMN欠損CPRの濃度に依存的であった。このことから、HOによるヘムの分解に必要なとされる電子は、ベルドヘム段階では、異なる電子伝達経路を通して供給されることが示唆された。

②ヘムの分解は、HO、CPR、ビリベルジン還元酵素(BVR)の3つの酵素によって達成される。これら3つの酵素の立体構造は既に決定されているが、その3者がいかに会合、解離するかというタンパク質間相互作用の詳細は不明である。今回、HOと2つの還元酵素との相互作用を質量分析法によって検討した。を無水酢酸でアセチル化すると、NADPHとCPRを電子供給系とした時、反応速度の著しい低下が観測された。一方、CPR存在下でアセチル化したHOは、その活性を維持していた。アセチル化したHOをトリプシンで消化し、MALDI-TOF MSによって、アセチル化部位の同定を試みた。その結果、HO単独でアセチル化した場合、HOの14個のリジン残基中、11個がアセチル化されることがわかった。CPR存在下でHOをアセチル化した場合、Lys-149とLys-153がアセチル化を受けず、保護されていることがわかった。これらの残基を変異させた酵素では、HO活性が著しく低下することから、この2つのリジン残基はCPRとの相互作用に重要であることが示唆された。一方、BVR存在下でHOをアセチル化した場合、HO中のリジン残基の保護は観測されなかった。

(3)HO-2で生成されるCOの生理的意義

①NPAS2は約800アミノ酸からなる比較的巨大

な蛋白質であるが、N末端側にbHLH、PAS-A、PAS-Bからなる合計300アミノ酸程度のドメイン構造を持っており、この部位のみでCO濃度依存的にBMAL1とヘテロダイマーを形成し、DNAに結合する事が可能である。全長とN末端側bHLHドメインについて発現系の構築を試みた。具体的にはcDNA libraryからPCRにより目的遺伝子断片を増幅し、DNAシーケンスの確認後、発現ベクターへとつなぎかえた。しかしながら発現蛋白質が不溶性画分に現れ、結晶化に必要な十分な量のタンパクを得ることができなかった。

(4) 今後の展望

ベルドヘム開環反応については、結晶学および電気化学的手法を用いて、ほぼ明らかにすることができた。今後はこの反応における活性酸素分子種検討にはいる。HOとCPRの電子伝達については、FMN欠損CPRおよびFAD欠損CPRを用いることにより、より詳細な伝達機構が明らかにされた。MALDI-TOF MSによって、両タンパクの相互作用に必須のアミノ酸残基が同定されたので、より微細な相互作用機序をあきらかにする糸口が得られた。HO系で生成されるCOの生理的意義については、今後の研究で明らかにしていきたい。

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 8件)

- 1) Kenichi Takahashi, Saori Harada, Yuichiro Higashimoto, Chizu Shimokawa, Hideaki Sato, Masakazu Sugishima, Yasuhiko Kaida, Masato Noguchi: Involvement of Metals in enzymatic and Nonenzymatic Decomposition of C-Terminal α -Hydroxyglycine to Amide: An implication for the Catalytic Role of Enzyme-Bound Zinc in the Peptidylamidoglycolate Lyase Reaction. *Biochemistry*, 査読有, 48, 1654-1662, (2009)
- 2) Yuichiro Higashimoto, Masakazu Sugishima, Hideaki Sato, Hiroshi Sakamoto, Keiichi Fukuyama, Graham Palmer, Masato Noguchi: 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.*, 査読有,

367, 852-858, (2008)

- 3) Hideaki Sato, Yuichiro Higashimoto, Hiroshi Sakamoto, Masakazu Sugishima, Kenichi Takahashi, Graham Palmer, Masato Noguchi: Electrochemical reduction of ferrous α -verdoheme in complex with heme oxygenase-1. *J. Inorg. Biochem.*, 査読有, 101, 1394-1399, (2007)
- 4) Yuichiro Higashimoto, Sho-ichi Yamagishi, Kazuo Nakamura, Takanori Matsui, Masayoshi Takeuchi, Masato Noguchi, Hiroyoshi Inoue: *In vitro* selection of DNA aptamers that block toxic effects of AGE on cultures retinal pericytes. *Microvascular Research*, 査読有, 74, 65-69, (2007)
- 5) Masakazu Sugishima, Kenji Oda, Takashi Ogura, Hiroshi Sakamoto, Masato Noguchi, Keiichi Fukuyama: Alternative cyanide-binding modes to the haem iron in haem oxygenase. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.*, 査読有, **63**(pt6), 471-474(2007)
- 6) Masakazu Sugishima, Yuichiro Higashimoto, Tohru Oishi, Hidenori Takahashi, Hiroshi Sakamoto, Masato Noguchi, Keiichi Fukuyama: X-ray crystallographic and biochemical characterization of the inhibitory action of an imidazole-Dioxolane compound on heme oxygenase. *Biochemistry*, 査読有, 46(7), 1860-1867(2007)
- 7) Takashi Hayashi, Dai Murata, Masatomo Makino, Hiroshi Sugimoto, Takashi Matsuo, Hideaki Sato, Yoshitsugu Shiro, Yoshio Hisaeda: Crystal structure and peroxidase activity of Myoglobin reconstituted with Iron porphycene. *Inorganic Chemistry*, 査読有, 45(26), 10530-10536 (2006)
- 8) Yuichiro Higashimoto, Hideaki Sato, Hiroshi Sakamoto, Kenichi Takahashi, Graham Palmer, Masato Noguchi: The reaction of heme-and verdoheme-heme oxygenase-1 complexes with FMN-depleted NADPH-cytochrome P450 reductase. *J. Biol. Chem.*, 査読有, 281(42), 31659-31667 (2006)

[学会発表] (計19件)

- 1) 佐藤秀明, 東元祐一郎, 坂本 寛, 杉島正一, 野口正人: ベルドヘム-ヘムオキシゲナーゼ-1 複合体の還元反応. (日本化学会第89回春季年会, 2009年3月27-30日, 船橋)
- 2) 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年会 第81回日本生化学会大会合同大会, 2008年12月9-12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年会 第81回日本生化学会大会合同大会, 2008年12月9-12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年会 第81回日本生化学会大会合同大会, 2008年12月9-12日, 神戸)
- 5) Hiroshi Sakamoto, Yuichiro Higashimoto, Masakazu Sugishima, Masato Noguchi: Surface Plasmon resonance and mass spectrometric analysis of protein-protein interaction in heme degradation system. (The 1st Japan-Korea joint symposium on bio-microsensing technology, 2008年5月23-24日, 北九州)
- 6) 東元祐一郎, 杉島正一, 佐藤秀明, 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. (平成20年度日本生化学会九州支部例会, 2008年5月17-18日, 福岡)
- 7) 佐藤秀明, 東元祐一郎, 坂本 寛, 野口正人: α -ベルドヘム-ラットヘムオキシゲナーゼ-1 複合体の電気化学的還元. (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会, 2007年12月11-15日, 横浜)
- 8) 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24-26日, 仙台)
- 9) 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. (第7回日本蛋白質科学会年会, 2007年5月24-26日, 仙台)
- 10) 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19-20日, 宮崎)

- 11) 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19-20日, 宮崎)
- 12) 杉島正一, 坂本 寛, 東元祐一郎, 大石徹, 高橋秀典, 野口正人, 福山恵一: ラット由来ヘムオキシゲナーゼ-1を用いた構造生物学的研究。(分子研研究会「ヘム代謝に関わる酵素の分子科学」, 2007年3月19-20日, 岡崎)
- 13) 野口正人, 東元祐一郎, 佐藤秀明, 坂本 寛: ヘムオキシゲナーゼ反応における電子授受機構-表面プラズモン共鳴および FMN 欠失 NADPH-シトクロム P450 還元酵素による検討-(分子研研究会「ヘム代謝に関わる酵素の分子科学」, 2007年3月19-20日, 岡崎)
- 14) 坂本 寛, 高橋研一, 東元祐一郎, 野口正人: ヘムオキシゲナーゼ反応中間過程の速度論的解析。(分子研研究会「ヘム代謝に関わる酵素の分子科学」, 2007年3月19-20日, 岡崎)
- 15) Yuichiro Higashimoto, Hideaki Sato, Hiroshi Sakamoto, Masato Noguchi: Reactions of Heme and Verdoheme in Complex with Heme Oxygenase-1 with NADPH/FMN-depleted NADPH-cytochrome P450 Reductase System. (第79回日本生化学会大会, 2006年6月18-23日, 京都)
- 16) Hiroshi Sakamoto, Kenichi Takahashi, Yuichiro Higashimoto, Saori Harada, Masato Noguchi: Kinetic Analysis of Conversion of α -Hydroxyheme to Verdoheme in Heme Oxygenase. (第79回日本生化学会大会, 2006年6月18-23日, 京都)
- 17) Hideaki Sato, Yuichiro Higashimoto, Hiroshi Sakamoto, Masato Noguchi: Degradation of Ferriprotoporphyrin IX Dimethyl Ester by Rat Heme Oxygenase-1. (第79回日本生化学会大会, 2006年6月18-23日, 京都)
- 18) 坂本 寛, 高橋研一, 東元祐一郎, 原田沙織, 野口正人: ヘムオキシゲナーゼ反応第2中間ステップのストップ・フロー解析。(平成18年度日本生化学会九州支部例会, 2006年5月20-21日, 福岡)
- 19) 東元祐一郎, 佐藤秀明, 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。(平成18年度日本生化学会九州支部例会, 2006年5月20-21日, 福岡)

[図書] (計 4件)

- 1) 野口正人: 医学書院, 医学大辞典(第2版), 23, 60, 73, 76, 333, 436, 441, 442, 501-502, 1084, 1093, 1095, 1559 (2009.2)
- 2) 野口正人, 小俣義明, 高橋研一, 坂本 寛: 朝倉書店, 酵素ハンドブック, 877-885 (2008.5)
- 3) 野口正人: 東京化学同人, 生化学辞典, 4, 88, 181, 276, 361, 370, 419, 423, 512, 788, 900, 902, 907, 933, 1128, 1133, 1190, 1214, 1226, 1227, 1228, 1229, 1230, 1233, 1294, 1295, 1295-1296, 1307, 1348, 1365 (2007.12)
- 4) 野口正人: 南江堂, シンプル生化学, 45-52, 97-103, 115-123, 125-133 (2007.4)

6. 研究組織

(1)研究代表者

野口 正人
久留米大学・医学部・教授
研究者番号: 10124611

(2)研究分担者

東元 祐一郎
久留米大学・医学部・准教授
研究者番号: 40352124

坂本 寛
九州工業大学・情報工学部・准教授
研究者番号: 70309748

佐藤 秀明
久留米大学・医学部・准教授
研究者番号: 60271996

(3)連携研究者

なし