

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月15日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590321

研究課題名(和文) ヘムオキシゲナーゼ反応の中間過程および電子授受機構の解明

研究課題名(英文) Investigation of the intermediary steps and electron transfer mechanism of heme degradation by heme oxygenase

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(和文)：

ヘムオキシゲナーゼ(HO)はNADPH-シトクロムP450還元酵素(CPR)からの還元力と分子状酸素を用いて、ヘムを分解する酵素である。本研究ではNADPHから反応中間体ベルドヘムへの還元力の供給経路の解明をめざした。 $\alpha$ -ベルドヘムとHOの複合体を嫌気下で調製し、複合体におけるベルドヘムのオキサポルフィリン環の一電子還元について光電気化学的手法により還元電位を求めた。また、この電気化学的還元およびCPRから複合体への電子伝達における、CO等のリガンドの効果について検討した。さらに、嫌気条件下で複合体の結晶構造を解明し、ヘムオキシゲナーゼによる生理的なベルドヘム分解機構について考察した。

研究成果の概要(英文)：

Heme oxygenase (HO) catalyzes the heme degradation utilizing molecular oxygen and reducing equivalents from NADPH-cytochrome P450 reductase (CPR). The purposes of this study are the characterization of electron pathway between NADPH bound to CPR to heme bound to HO. To probe the cleavage mechanism of oxaporphyrin ring of ferrous  $\alpha$ -verdoheme, an intermediate in the HO reaction, ferrous verdoheme-rat HO-1 complex was prepared under anaerobic conditions. Electrochemical reduction of the complex was performed under anaerobic conditions and the reduction potential for one-electron reduction of the oxaporphyrin ring of ferrous verdoheme was determined. Effects of ligands such as CO on the electrochemical reduction and the electron transfer from NADPH-cytochrome P450 reductase to the complex were investigated. In addition, the crystal structure of rat HO-1 in complex with ferrous  $\alpha$ -verdoheme was determined.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

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：生体分子医学, ヘム分解

## 1. 研究開始当初の背景

ヘムオキシゲナーゼ(HO)は分子状酸素と NADPH-シトクロム P450 還元酵素(CPR)からの還元力を利用し、3段階の酸素添加反応(ヘム→ヒドロキシヘム→ベルドヘム→ビリベルジン)によって、ヘムを部位特異的に開裂し、ビリベルジン、一酸化炭素、鉄に分解する酵素である。HOの主要な生理的役割は老朽化した赤血球の新陳代謝によって生じた多量の遊離型ヘムを分解し、体内の鉄の恒常性を維持することである。この役割に加えて、近年、酸化ストレスに対する防御や、分解反応によって生じた一酸化炭素をシグナル伝達物質とする抗炎症作用、抗アポトーシス作用などがあることが見いだされ、注目を集めている。HOは生理的に重要な酵素であるが、その一方で反応機構においても、基質であるヘム自身が酸素を活性化する補酵素として機能する点でユニークな酵素である。このことは、HOの反応機構は、シトクロム P450 など一般のヘム含有オキシゲナーゼのそれとは全く異なることを示唆しており、その反応機構を解明すべく様々な分光学的、生化学的知見が蓄積されてきた。さらに約10年前にヘム-HO複合体の立体構造が明らかになったことによって、立体構造を基盤とした反応機構の描像が描けるようになり、この分野のHO研究が爆発的に進展し、反応機構の詳細まで明らかになりつつある。

HO反応の第1段階(ヘム→ $\alpha$ -ヒドロキシヘム)は $\alpha$ -メソ位の炭素における水酸化である。この反応の活性酸素種は ferric hydroperoxide (Fe(III)-OOH)であり、これが求電子的に $\alpha$ -メソ位の炭素を攻撃することが明らかにされた。第2段階( $\alpha$ -ヒドロキシヘム→ $\alpha$ -ベルドヘム)では特にその電子要求性について、内外の研究者間で議論されてきた。我々は酸化型の $\alpha$ -ヒドロキシヘムは $O_2$ のみでベルドヘムへ転換されることを既に報告した。近年、還元型の $\alpha$ -ヒドロキシヘムも $O_2$ のみでベルドヘムに転換され、反応には815nm付近に吸収極大を示す未同定の間体が介在することを明らかにし、酸化型と還元型の $\alpha$ -ヒドロキシヘムでは反応性が異なることを報告した。第3段階( $\alpha$ -ベルドヘム→ビリベルジン鉄(III)錯体)については、ベルドヘムの化学合成が困難であったためにこれまで十分な検討がなされてこなかったが、我々は4種のベルドヘム異性体を合成・単離する系を既に確立している。

一方我々は、ラットHO-1について、ヘムを結合していないアポ型やヘム結合型、 $N_3^-$ ・ヘム結合型等の結晶構造を決定し、HOは既知のヘム酵素とは異なるユニークなヘムポケットをもつことを明らかにしてきた。すなわち、ヘム鉄の遠位軸配位子となるアミノ酸が存在せず、代わりにGly139, Gly143の主鎖がヘム鉄に最も接近している。

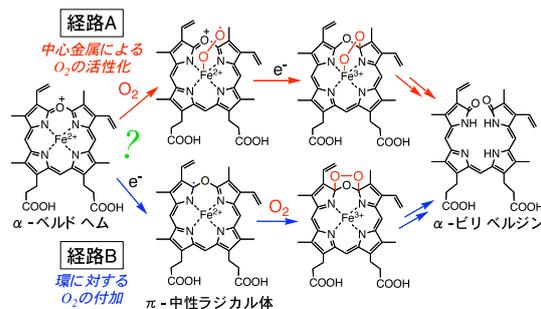


図1:  $\alpha$ -ベルドヘム開環機構の予想

その構造から、我々は、第1段階の水酸化反応におけるO-O結合の開裂に対して、Gly143が関与するinversed heterolysis機構を提唱した。またアポ型の構造から、「誘導適合」によってヘムが結合されること、さらに、CO・ヘム結合型の立体構造から、HOが自ら産生するCOによって反応阻害を受けない構造的基盤を明らかにした。さらに、ビリベルジン鉄錯体結合型の構造から、ビリベルジンがHOから遊離するメカニズムを推定した。

このような酵素反応解析や結晶構造解析の進展にも関わらず、HOによる一連のヘム分解反応のうち、「ヒドロキシヘムからベルドヘムへの転換機構」および「ベルドヘム開環反応」については、未解明な点が多く残る。

## 2. 研究の目的

CPRはFMN, FADを補酵素として持つフラビン酵素であり、シトクロム P450 への電子伝達過程においてはNADPH→FAD→FMNの順番で電子が受け渡され、最終的にシトクロム P450の持つヘムへ電子が受け渡される。HOに対しての電子伝達過程も同様であると考えられていたが、以前の我々の研究により、ベルドヘムからビリベルジンへ至る反応過程に必要な電子については、人為的に作成したFMN欠損CPRを用いても反応を触媒できることが明らかとなり、この過程では必ずしもFMNを介さないことが明らかとなった(Higashimoto Y. et al. J. Biol. Chem. 281 (2006) 31659-31667)。

このような背景を考慮すれば、研究全体の目標はHOによる多段階のヘム分解反応の全容を明らかにすることである。とりわけ本研究においては、第3段階のベルドヘム開環反応の詳細なメカニズムを、分光学的、酵素反応速度論的および構造生物学的手法により明らかにすることを目的とする。

このベルドヘム開環反応には、第1段階と同様なベルドヘムの中心金属の鉄による $O_2$ の活性化が提唱されている。しかし、ベルドヘムの鉄の $O_2$ 親和性はヘム鉄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サポルフィリン環の還元により生じたラジカル体への $O_2$ 付加が報告されていることから、オキサポルフィリン環への $O_2$ のラジカル付加によって生じるオキソ架橋の開裂も考えられる。これらを検証するために、ベルドヘム・HO-1複合体の電気化学的な還元挙動を検討する。また、ベルドヘム・HO-1複合体へのCPRからの電子伝達も検討する。さらに、

ベルドヘム・HO-1 複合体を結晶化してその構造を解明し、活性部位周辺に関する情報を得る。これらの知見を総合して、O<sub>2</sub>の活性化の行なわれる部位がベルドヘムの環上なのかそれとも中心金属上なのかを明らかにし、反応経路を考察する。

### 3. 研究の方法

実験すべてにおいて必要なHO (HO-1) およびCPRは大腸菌を用いて発現させたラット由来組換え蛋白質を用いた。HO およびCPRはそれぞれ膜結合領域を持つが、その領域を除いた蛋白質を発現し、実験に使用した。蛋白質は各種クロマトグラフィーを行うことにより、高純度に精製したものを使用した。HOによるヒドロキシヘムからベルドヘムへ至る反応過程におけるCPR内の電子伝達経路およびベルドヘム開環反応について、以下の実験を行なった。

(1) ヒドロキシヘムからベルドヘムへ至る反応過程におけるCPR内の電子伝達経路を明らかにするために、ヒドロキシヘムを坂本らの手法(Sakamoto H. et al. J. Biol. Chem. 274 (1999) 18196-18200)に従って有機合成した。得られたヒドロキシヘムを嫌気条件下でHOに結合させ、野生型CPRおよびFMN欠損型CPRを用いて、還元速度の違いを検討した。

(2) 一電子還元されたベルドヘム $\pi$ -中性ラジカル体が中間体として関与する可能性が提案されてきた(図1の経路B)。これを検証するため、嫌気条件下で鉄(II) $\alpha$ -ベルドヘムとラットHO-1の複合体を調製し、分光学的および電気化学的手法により検討を加えた。まず、複合体をグローブボックスを用いた嫌気条件下で電気化学的に還元し、ベルドヘムのオキサポルフィリン環が還元されたラジカル体が生成するか否かを紫外可視吸収スペクトルにより調べた。また、複合体の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還元電位を、吸収スペクトルを測定しながら電気化学的手法により求めた。さらに、O<sub>2</sub>の代わりにCOやピリジン等の種々のリガンドを軸配位させた配位子結合型のベルドヘム・HO-1複合体を嫌気条件下で調製し、同様の光電気化学的手法を用いて、各種配位子がベルドヘムのオキサポルフィリン環の電気化学的還元反応に及ぼす影響について調べた。

生理的な電子供与体であるCPRとNADPHを嫌気条件下で添加し、複合体中のベルドヘムのオキサポルフィリン環が還元されるか否かを吸収スペクトル変化の観測により検討した。CO等の軸配位子の影響についても調べた。

(3) ベルドヘム・HO-1複合体の結晶構造の解明: ベルドヘム開環過程のメカニズムを探るもうひとつのアプローチとして、鉄(II) $\alpha$ -ベルドヘム・HO-1複合体の結晶化と構造解析に取り組んだ。比較的安定であると考えられるN<sub>3</sub><sup>-</sup>配位型 $\alpha$ -ベルドヘム・HO-1複合体を嫌気条件下で調製し、結晶化した。その立体構造をSPring-8のBL38B1ビームラインを用いて解析した。ベルドヘム・HO-1複合体では、ヘム鉄上にOH<sup>-</sup>が配位していることがESRスペクトルから示唆されていたのでこれを検証し、またベルドヘムに近接しているアミノ酸残基の配置に関する知見を得た。

このような実験から得られた情報を総合して、O<sub>2</sub>の活性化が行なわれる部位がベルドヘムの中心金属上なのか(図1の経路A)、それともオキサポルフィリン環上なのか(図1の経路B)を特定し、HOによるベルドヘム開環反応のメカニズムの詳細を考察した。

### 4. 研究成果

(1) ヒドロキシヘムからベルドヘムへ至る反応過程におけるCPR内の電子伝達経路の解明. 嫌気条件下で酸化型ヒドロキシヘム・HO複合体の還元型への変換を野生型CPRおよびFMN欠損型CPRを用いて、検討した。還元はHOに対して5等量のNADPH、1/100等量のCPRを加えることによって開始し、pH 7.4、室温で実験を行った。還元型への変換は可視吸収スペクトルの変化によって確認した。野生型CPRを用いた場合は約30分以内に完全に還元型への変換が完了したのに対して、FMN欠損型CPRを用いた場合は60分後にも顕著な変化が見られなかった。以上のことからヒドロキシヘムからベルドヘムへ至る反応過程ではFMNを経由する電子伝達過程であることが明らかになった。

(2) 各電位における鉄(II) $\alpha$ -ベルドヘム・HO-1複合体の吸収スペクトルを測定したところベルドヘム $\pi$ -中性ラジカル体の生成が確認された。ネルンスト・プロットにより、HO-1に結合した鉄(II)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反応の還元電位として-0.47 V vs. NHEを得た。しかしながら、この値はCPRの補欠分子族FMN、FADや補酵素NADPHの酸化還元電位よりも0.1 V以上低いことから、HO-1に結合した鉄(II)ベルドヘムの環のNADPH/CPR系による還元は熱力学的に起こりにくことが明らかとなった。すなわち、生理的条件下におけるHOによるベルドヘムの開環は、オキサポルフィリン環の一電子還元ではなく、中心の鉄へのO<sub>2</sub>の配位により開始されることが示唆された(図1の経路A)。

一方、HO-1に結合したCO配位型鉄(II)ベルドヘムの環の還元電位は-0.41 V vs. NHEであり、CPRの各補欠分子族の酸化還元電位よりはやや低いものの、HO-1に結合したCO配位型ベルドヘムの環がNADPH/CPR系によって還元される可能性を示唆していた。一方、ピリジンやイミダゾール、N<sub>3</sub><sup>-</sup>をリガンドとした場合には、このような還元電位の上昇は認められなかった。

これをさらに詳しく検討するため、CPRとNADPHを反応系に加えた時の鉄(II) $\alpha$ -ベルドヘム・HO-1複合体の紫外可視吸収スペクトル変化を嫌気条件下で観測したところ、外来配位子を添加しない場合には反応が進行しないのに対し、COを配位させた場合には一電子還元反応による $\pi$ -中性ラジカル体の生成が確認できた。この結果は、ベルドヘムの鉄にCOが配位することによってオキサポルフィリン環の還元電位が上昇し、CPRからオキサポルフィリン環への電子伝達が容易になったことを示している。

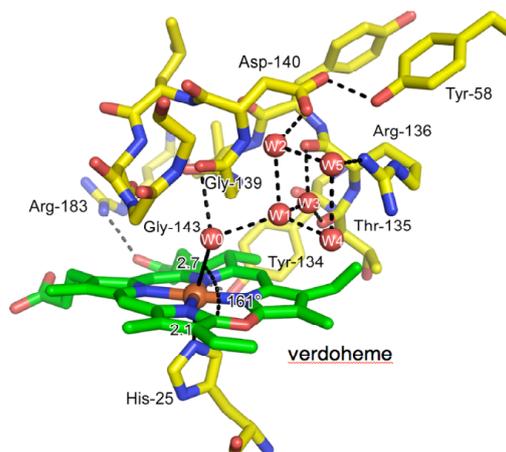


図2: ベルドヘム・HO-1複合体のベルドヘム周辺構造

生理的条件におけるHOによる鉄(II)  $\alpha$ -ベルドヘムの分解過程でも、まず  $O_2$  が鉄に軸配位した後、オキサポルフィリン環が CPR により還元されて、ビリベルジン鉄錯体への転換が進行するものと推測される(図1の経路 A)。

さらに、全操作を嫌気下で行なうことで、ベルドヘム・ラット HO-1 複合体を結晶化し、その立体構造を 2.2Å の分解能で得ることができた(図2)。ベルドヘム・HO-1 複合体の全体構造はヘム・HO-1 複合体とほぼ同様であり、また、 $H_2O$  または OH が遠位軸配位子としてベルドヘムの鉄に対して配位していることが明らかとなった。さらに、ヘム・HO-1 複合体やビリベルジン鉄錯体・HO-1 複合体と同様、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。このことより、HO 反応の第1段階におけるヘムから  $\alpha$ -ヒドロキシヘムへの酸素添加と同様に、第3段階の  $\alpha$ -ベルドヘムからビリベルジン鉄錯体への分解においても、活性酸素中間体(おそらくは  $Fe(III)-OOH$ ) の生成に必要なプロトン供与体としてこの水素結合ネットワークが働いている可能性が示された。

#### 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 7 件)

1) J. Taira, M. Sugishima, Y. Kida, E. Oda, M. Noguchi, and Y. Higashimoto: Caveolin-1 is a competitive inhibitor of heme oxygenase-1 (HO-1) with heme: Identification of a minimum sequence in caveolin-1 for binding to HO-1. *Biochemistry*, **50**, 6824-6831 (2011), 査読有り

2) S. Masuda, J. Harada, M. Yokono, Y. Yuzawa, M. Shimojima, K. Murofushi, H. Tanaka, H. Masuda, M. Murakawa, T. Haraguchi, M. Nishimura, H. Yuasa, M. Noguchi, H. Oh-oka, A. Tanaka, H. Tamiaki, and H. Ohta: A monogalactosyldiacylglycerol synthase found in the green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum* reveals important roles for galactolipids

in photosynthesis. *Plant cell* **23**(7) 2644-2658 (2011), 査読有り

3) M. Yamaoka, M. Sugishima, M. Noguchi, K. Fukuyama, and Y. Misutani: Protein dynamics of heme-heme oxygenase-1 complex following carbon monoxide dissociation. *J. Roman Spectrosc.*, **42**, 910-916 (2011), 査読有り

4) H. Sato, Y. Higashimoto, H. Sakamoto, M. Sugishima, C. Shimokawa, J. Harada, G. Palmer, and M. Noguchi: Reduction of oxaporphyrin ring of CO-bound  $\alpha$ -verdoheme complexed with heme oxygenase-1 by NADPH-cytochrome P450 reductase. *J. Inorg. Biochem.* **105**(2) 289-296(2011), 査読有り

5) M. Sugishima, Y. Okamoto, M. Noguchi, T. Kohchi, H. Tamiaki and K. Fukuyama: Crystal Structures of the Substrate-Bound Forms of Red Chlorophyll Catabolite Reductase: Implications for Site-Specific and Stereospecific Reaction. *J. Mol. Biol.* **402**(5) 879-891(2010), 査読有り

6) M. Sugishima, Y. Kitamori, M. Noguchi, K. Takayuki, K. Fukuyama: Crystal structure of red chlorophyll catabolite reductase: Enlargement of the ferredoxin-dependent bilin reductase family. *J. Mol. Biol.* **389**(2) 376-387(2009), 査読有り

7) H. Sato, M. Sugishima, H. Sakamoto, Y. Higashimoto, Chizu Shimokawa, Keiichi Fukuyama, Graham Palmer and M. Noguchi: Crystal structure of rat haem oxygenase-1 in complex with ferrous verdohaem: presence of a hydrogen-bond network on the distal side. *Biochem. J.* **419** (2) 339-345(2009), 査読有り

[学会発表] (計43件)

1) 原田二郎, 原田英里砂, 東元祐一郎, 杉島正二, 佐藤秀明, 平 順一, 福山恵一, 菅瀬謙治, 野口正人:ヘム結合時にヘムオキシゲナーゼ表面で揺らぐアミノ酸はどのような機能をもつのか? (日本化学会第92春季年会, 2012/03/25-28, 慶應大学日吉キャンパス・矢上キャンパス, 横浜市)

2) E. Harada, M. Sugishima, J. Harada, M. Noguchi, K. Fukuyama, K. Sugase: Structural fluctuation of heme oxygenase regulates heme degradation process. (The International Symposium on Nuclear Magnetic Resonance 2011, 2011/11/15-18, OSANBASHI Hall, 横浜)

3) 原田二郎, 原田英里砂, 東元祐一郎, 佐藤秀明, 杉島正二, 平 順一, 福山恵一, 菅瀬謙治, 野口正人:ヘムオキシゲナーゼの変異体の解析から考察される電子伝達系。(第84回日本生化学会大会, 2011/09/21-24, 国立京都国際会館, 京都市)

- 4) E. Harada, M. Sugishima, J. Harada, M. Noguchi, K. Fukuyama, K. Sugase: Identification of an allosteric site from the analysis of protein fluctuation using NMR. (第49回日本生物物理学会年会, 2011/09/16-18, 兵庫県立大学姫路書写キャンパス, 姫路市)
- 5) 原田二郎, 原田英里砂, 東元祐一郎, 佐藤秀明, 杉島正一, 平 順一, 福山恵一, 菅瀬謙治, 野口正人:ヘムオキシゲナーゼのタンパク質分子表面で愉快アミノ酸残基 R85 の変異体から考察される電子伝達系. (第5回バイオ関連化学シンポジウム, 2011/09/12-14, つくば国際会議場「エスカルポつくば」, つくば市)
- 6) 佐藤秀明, 増子隆博, 塚口 舞, 小俣義明, 久枝良雄, 野口正人:ヒドロキシメチルピラン合成酵素・基質複合体の質量分析法による同定. (第5回バイオ関連化学シンポジウム, 2011/09/12-14, つくば国際会議場「エスカルポつくば」, つくば市)
- 7) 原田二郎, 原田英里砂, 東元祐一郎, 杉島正二, 平順一, 佐藤秀明, 福山恵一, 菅瀬謙治, 野口正人:ヘムオキシゲナーゼの分子表面で揺らぐアミノ酸残基の変異体解析. (平成23年度日本生化学会九州支部例会, 2011/05/21-22, 久留米大学医学部筑水会館, 久留米市)
- 8) 原田二郎, 原田英里砂, 東元祐一郎, 杉島正二, 平 順一, 佐藤秀明, 福山恵一, 菅瀬謙治, 野口正人:NMR によって揺らぎが観測されたヘムオキシゲナーゼ表面アミノ酸の機能解析. (日本化学会第91春季年会, 2011/3/11〈講演予稿集発行日〉, 日本化学会第91春季年会(2011)講演予稿集)
- 9) 古賀真也, 山崎一樹, 東元祐一郎, 野口正人, 小松英幸, 坂本 寛: バイオヘムセンサーを用いたヘム蛋白質の新規スクリーニング定量法の提案. (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会 (BMB2010), 2010/12/7-10, 神戸ポートアイランド, 兵庫)
- 10) S. Koga, Y. Higashimoto, M. Noguchi, H. Komatsu, H. Sakamoto: Sensitive heme sensor using fluorescent-labeled heme oxygenase-1. (5th International Peptide Symposium, 2010/12/4-9, 京都)
- 11) E. Harada, M. Sugishima, M. Noguchi, K. Fukuyama, K. Sugase: Elucidation of heme-recognition mechanism of rat heme oxygenase-1 by relaxation dispersion spectroscopy. (XXIVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, 2010/8/22-27, Cairns Convention Centre, Cairns, Australia)
- 12) 菅瀬謙治, 原田英里砂, 杉島正二, 野口正人, 福山恵一: NMR によるヘムオキシゲナーゼのヘム認識機構の解明. (蛋白質セミナー 超高磁場が拓く生体系 NMR: 最新技術と応用, 2010/7/29-30, 大阪大学蛋白質研究所, 大阪)
- 13) 原田英里砂, 杉島正一, 野口正人, 福山恵一, 菅瀬謙治: NMR によるヘムオキシゲナーゼのヘム認識機構の解明. (第10回日本蛋白質科学会年会, 2010/6/16-18, 札幌コンベンションセンター, 北海道)
- 14) 山崎一樹, 古賀真也, 東元祐一郎, 野口正人, 末田慎二, 小松英幸, 坂本 寛: 蛍光ラベル化 HO-1 を用いたヘムセンサーにおける蛍光色素導入箇所の検討. (平成22年度日本生化学会九州支部例会, 2010/5/22-23, 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島)
- 15) 福嶋祐也, 吉永篤史, 東元祐一郎, 野口正人, 末田慎二, 小松英幸, 坂本 寛: ヘムオキシゲナーゼ-2 とシトクロム P450 還元酵素の結合様式の検討. (平成22年度日本生化学会九州支部例会, 2010/5/22-23, 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島)
- 16) 平 順一, 杉島正一, 小田えり子, 野口正人, 東元祐一郎: カベオリンによるヘムオキシゲナーゼ-1の活性阻害および阻害機構の解明. (平成22年度日本生化学会九州支部例会, 2010/5/22-23, 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島)
- 17) 杉島正二, 原田二郎, 佐藤秀明, 下川千寿, 原田沙織, 野口正人: Hinge 欠損型 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と相互作用解析. (平成22年度日本生化学会九州支部例会, 2010/5/22-23, 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島)
- 18) 佐藤秀明, 杉島正一, 坂本 寛, 東元祐一郎, 福山恵一, 野口正人: ベルドヘム-ヘムオキシゲナーゼ-1複合体の構造解析. (日本化学会第90春季年会, 2010/3/26-29, 近畿大学 本部キャンパス, 大阪)
- 19) 下川千寿, 原田沙織, 東元祐一郎, 佐藤秀明, 杉島正一, 野口正人: ペプチドアミド化反応における亜鉛および鉄イオンの役割. (日本化学会第90春季年会, 2010/3/26-29, 近畿大学 本部キャンパス, 大阪)
- 20) 岩崎浩之, 杉島正一, 東元祐一郎, 野口正人, 小松英幸, 坂本 寛: ラットヘムオキシゲナーゼ-1と基質ヘムとの結合における誘導適合モデルのカロリメトリ解析. (第82回日本生化学会大会, 2009/10/21-24, 神戸国際会議場, 兵庫)
- 21) H. Sato, M. Sugishima, Y. Higashimoto, H. Sakamoto, C. Shimokawa, M. Noguchi: Ferrous a-verdoheme in complex with rat heme oxygenase-1. Its crystal structure and electrochemistry. (Heme oxygenases in biology and medicine; The 6<sup>th</sup> international congress on heme oxygenases, 2009/9/30-10/4, Miami)

Beach, Florida, USA)

22) 古賀真也, 岩崎浩之, 小松英幸, 杉島正一, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本 寛: ヘム分解酵素ヘムオキシゲナーゼのヘム結合解析とヘムセンサーとしての応用. (第58回高分子討論会, 2009/9/16-17, 熊本大学 黒髪キャンパス, 熊本)

23) 佐藤秀明, 杉島正一, 東元祐一郎, 坂本 寛, 福山恵一, 野口正人:  $\alpha$ -ベルドヘム-ヘムオキシゲナーゼ-1複合体の電気化学と結晶構造. (第24回生体機能関連化学シンポジウム・第12回バイオテクノロジー部会シンポジウム, 2009/9/13-15, 九州大学医系キャンパス・百年講堂, 福岡)

24) M. Sugishima, Y. Kitamori, M. Noguchi, T. Kohchi, K. Fukuyama: Crystal structure of red chlorophyll catabolite reductase (RCCR) reveals that RCCR and ferredoxin dependent bilin reductase were evolved from the common ancestor. (International conference on tetrapyrrole photoreceptors of photosynthetic organisms 2009, 2009/7/26-31, Asilomar conference center, Pacific grove CA, USA)

25) 佐藤秀明, 杉島正一, 坂本 寛, 東元祐一郎, 野口正人:  $\alpha$ -ベルドヘム-ヘムオキシゲナーゼ-1複合体の結晶構造. (平成21年度日本生化学会九州支部例会, 2009/5/16-17, 九州大学病院地区コラボ・ステーション, 福岡)

26) 岩崎浩之, 大村昇, 杉島正一, 東元祐一郎, 野口正人, 小松英幸, 坂本 寛: 等温滴定カロリメトリーによるラットヘムオキシゲナーゼ-1の基質結合における誘導適合モデルの検討. (平成21年度日本生化学会九州支部例会, 2009/5/16-17, 九州大学病院地区コラボ・ステーション, 福岡)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 緑色硫黄細菌変異体およびバクテリオクロロフィル

発明者: 原田二郎、野口正人、民秋均

権利者: 同上

種類: 特許願

番号: 特願2012-28919

出願年月日: H24. 2.13

国内外の別: 国内

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

東元 祐一郎 (HIGASHIMOTO YUICHIROU)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号: 40352124

佐藤 秀明 (SATO HIDEAKI)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号: 60271996

杉島 正一 (SUGISHIMA MASAKAZU)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号: 30379292

(H23. 11. 14 辞退)

坂本 寛 (SAKAMOTO HIROSHI)

九州工業大学・情報工学部・准教授

研究者番号: 30379292

(3) 連携研究者

( )

研究者番号:

(4) 海外研究協力者

Graham Palmer

Dept. Biochem. and Cell Biol., Rice Univ.