

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510301

研究課題名(和文)ヘムオキシゲナーゼの触媒機構と蛋白質間相互作用ネットワークの解明

研究課題名(英文) Investigation of catalytic mechanism of heme oxygenase and protein-protein interaction among its related enzymes

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・教授

研究者番号：70309748

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヘムオキシゲナーゼは、基質ヘムが自己触媒的に分解するユニークな触媒機構を有し、HOを中心とするヘム分解系は、複数の酵素が連携して活性を発現する分子機構モデルとして捉えることができる。本研究では、HOの触媒作用機序の解明とともにヘム代謝系を構成する酵素間相互作用の探求を総合的に展開し、ヘム分解系の機能を分子レベルで理解するために次のことを行った。1) 基質ヘムとHOとの結合をカロリメトリー解析し、熱力学的パラメータを求めた。2) ヘム調節モチーフとヘムとの相互作用を合成ペプチドを用いて分光学的に解析した。3) 表面プラズモン共鳴および分析用超遠心を用いてHOとCPRのタンパク質間相互作用を解析した。

研究成果の概要(英文)：Heme oxygenase (HO) catalyzes the O₂-dependent degradation of heme using reducing equivalents from NADPH-cytochrome P450 reductase (CPR) and produces biliverdin, CO, and iron. Without reducing reagents, HO does not exhibit heme degradation activity but retains high substrate affinity to form a stable complex with heme. The heme bindings of wild-type HO-1 and its mutants were analyzed using isothermal titration calorimetry. Heme regulatory motifs at the C terminus of HO-2 were synthesized and their heme binding properties were investigated.

For electron transfer as well as product release, HO and CPR should repeat a cycle of association and dissociation, thus there might be some kind of regulation of protein-protein interaction between them. Using surface plasmon resonance we identified surface amino acids of HO-2 essential for binding to and/or electron transfer CPR. Furthermore, equilibrium associative properties between HO-1 and CPR were determined by analytical ultracentrifugation.

研究分野：生化学

キーワード：ヘム ヘムオキシゲナーゼ シトクロムP450還元酵素 蛋白質間相互作用

1. 研究開始当初の背景

ヘム分解系は小胞体あるいは細胞膜に存在し、ヘムオキシゲナーゼ(heme oxygenase, HO), NADPH-シトクロム P450 還元酵素(CPR), ビリベルジン還元酵素(BVR)の3つの酵素からなる。ヘム蛋白質の分解により生じた遊離ヘムは、HOに取り込まれ、CPRからの電子の供給を受け、自己触媒的な α 選択的酸化反応によって、ビリベルジン、一酸化炭素(CO)および鉄イオンに分解される。ビリベルジンは、BVRによって直ちに還元され、ビリルビンとなる。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。

(1)HOの構造解析:1968年のHO発見以来、ヘム分解過程の中間体が徐々に明らかにされてきたが、ヒトおよびラットHO-1の結晶構造がそれぞれOrtiz de Montellano(米国, *Nat. Struct. Biol.* 2000)らと我々のグループ(阪大院理・福山研との共同研究, *FEBS lett.* 2000)によって発表されたのを契機に、HO触媒作用機序の研究は急速に進展した。その中で我々は、ヘムを含まないアポ型HO-1の構造を解析し、ヘム複合体との比較からヘム結合における誘導適合機構を提唱した(*Biochemistry* 2002)。また、 O_2 やCOなどのリガンド識別(*Biochemistry* 2003)、内因性COによる阻害回避(*JMB* 2004)、生成物ビリベルジンの解離(*JBC* 2002)などの分子機構を明らかにした。特に、アジド結合体の結晶構造解析から、分子内水素結合ネットワークがHO反応第1ステップ(ヘムの水酸化)における酸化活性種 ferric peroxide (Fe^{3+} -OOH)の生成に重要であることを明らかにした(*JBC* 2002)。この Fe^{3+} -OOHは第3ステップにも関与していることが、齋藤ら(*JBC* 2005)により示唆された。

(2)ヘム分解系の蛋白質間相互作用: CPR/HO/BVRからなるヘム分解系には、基質結合や生成物分離に応じて、3者が秩序よく会合解離する精緻な機序備わっていると考えられる。我々はラットHO-1とラットCPRとの結合特異性を表面プラズモン共鳴法により検討したところ、HO-1のアポ型はCPRと結合せず、基質ヘムとの複合体(ホロ型)を形成して、はじめてCPRと結合すること、その結合はCPRの基質であるNADP(H)の存在下、増強されることを見出

した。また、変異実験よりこの結合に重要なアミノ残基を特定し、HO-1とCPRのドッキングモデルを提案した(*JBC* 2005)。マズベクトルを用いても結合に関与する残基を同定した(*BBRC* 2008)。さらに、FMN欠損CPRを用いて、HO-1中のヘムへの電子伝達経路を検討した(*JBC* 2006)。最近他の研究者によって、CPRが電子伝達パートナーに結合する際、大きなコンホメーション変化を起こすこと(Aigrain et.al., *EMBO Rep.* 2009, Hamdane et al., *J.B.C.* 2009)が示され、我々のモデルが支持された。

2. 研究の目的

HOは、基質ヘムが自己触媒的に分解するユニークな触媒機構をもっており、そのHOを中心とするヘム分解系は、複数の酵素が互いに連携して活性を発現する分子機構のモデルとして捉えることができる。本研究では、HOの触媒作用機序の解明とともにヘム代謝を構成する酵素間の相互作用の探求を総合的に展開し、ヘム分解系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う。

(1)ヘム結合に伴うHO-1の誘導適合を等温滴定カロリーメトリー(isothermal titration calorimetry, ITC)解析し、そのメカニズムを熱力学的に明らかにする。

(2)HO-2のみに存在するヘム調節モチーフ(heme regulatory motif, HRM)とヘムとの相互作用を合成ペプチドを用いて分光学的に解析し、酵素活性調節機構について検討する。

(3)HO-2についてCPRとの相互作用を表面プラズモン共鳴法で解析し、HO-1と違いを明らかにする。さらにBVRを含めてヘム分解酵素間ネットワークを明らかにする。

(4)HO-1とCPRの相互解析を超遠心を用いた沈降平衡法によって解析する。

3. 研究の方法

(1)HOのヘム親和性は非常に強く、従来の結合過程(ヘム + HO \rightarrow HO \cdot ヘム)のITCでは検出限界を超える。そこで、親和性の弱い鉄配位子His25変異体H25Aを利用して、置換過程(H25A \cdot ヘム + HO \rightarrow HO \cdot ヘム + H25A)のITCを行った。さらに、ヘムのプロピオニル基と相互作用するLys179とArg183の変異体(K179A, R183A, K179A/R183A)の置換ITCも実施した。ITCの結果から、ギブスエネルギー変化 ΔG (親和性)、エンタルピー変化 ΔH とエントロピー変化 ΔS を算出した。

(2)HO-2配列上にみられるHRM(Cys-Pro配列)を含む領域のペプチド(約30残基)およびそのアナログをFmoc固相合成法を

使って合成し、ヘムとの相互作用を紫外可視分光吸収および円二色性(CD)スペクトルの変化を解析する。

(3) リガンドチオールカップリング法を用いて精製した CPR をセンサーチップに固定化した測定は25℃ 流速30 μl/minで行い、NADP⁺存在下における測定は100 μM NADP⁺をランニングバッファー(HEPESバッファー, pH 7.4)に添加し行った。解析には BIAevaluation Version 4.1 を用いて global fitting を行い、結合速度定数 (k_a)、解離速度定数 (k_d)、解離定数 (K_D) を算出した。

(4) 100 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) 中、5, 10 および 15 μM のホ口型 HO-1 および CPR をそれぞれ回転数 15,000 rpm、温度 25℃ の条件下で、波長 280 および 410 nm の吸光度を測定した。それぞれ目的の回転数に達した後、2 時間毎に吸光度の測定を行い、6 時間前の濃度勾配と変化が無いことを確認することで平衡に達したことを確認した。各濃度で得られたデータに対して一成分系における全濃度勾配の理論式を用いた非線形フィッティングにより、ホ口型 HO-1 および CPR の分子量をそれぞれ求めた。さらに、ホ口型 HO-1 および CPR の濃度がそれぞれ 10 μM になるように調整した混合試料を回転数 15,000 rpm、温度 25℃ の条件下で測定した。得られたデータに対してヘテロ二量体における全濃度勾配の理論式を用いた非線形フィッティングにより、ホ口型 HO-1 と CPR 間の解離定数 K_d を算出した。

4. 研究成果

(1) HO-1 のヘム結合のカロリメトリー解析: H25A の直接滴定および HO-1 野生型 WT の置換滴定の ITC 解析の結果を図 1 に示す。本研究では、直接および置換滴定法を用いて、HO-1 野生型および変異体すべての解析を完了した(表 1)。その結果、野生型に比べ、H25A の親和性は大きく減少したが、Lys179 と Arg183 の変異体では親和性の減少は小さかった。HO のヘム結合のエネルギーは、His25-Fe³⁺間配位結合が主であり、静電相互作用は補助的であるといえる。また、野生型のヘム結合はエンタルピー駆動であり、疎水相互作用はほとんど起こっていない。全ての變異体でエントロピー変化が増加したことから、野生型ではヘムが無秩序なエントロピー駆動型疎水相互作用をしないよう制御されていると思われる。K18A は野生型に比べ親和性と熱力学パラメータ共に変化が無かった。K179A, R183A, K179A/R183A では、エンタルピー減少がエントロピー増加で補償され、野生型に比べ親和性の減少はわずかであった。一方、K18A/K179A/R183A では大きく親和性が減少し、α 選択性が失われていた。つまり、Lys18 は野生型では

結合に関与していないが、Lys179 と Arg183 の変異をレスキューするという興味深い結果が得られた。また、酵素活性を測定したところ、K18A 以外の變異体に活性の低下が見られた。

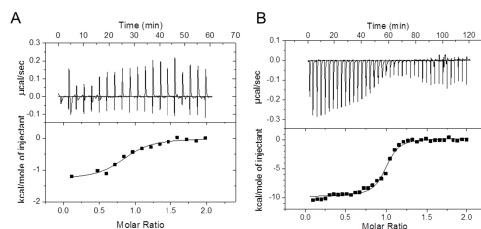


図 1. ITC 解析の例. (A) H25A の直接滴定, (B) WT の置換滴定

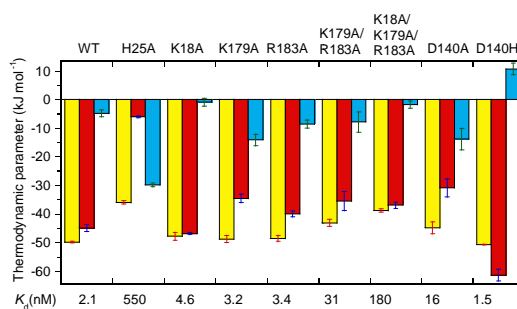


図 2. HO-1 野生型および変異体のヘム結合における熱力学的パラメーター. 黄: ΔG , 赤: ΔH , 青: $T\Delta S$.

(2) HO-2 の HRM とヘム結合性の検討: 30 残基の HRM ペプチドについて、リン酸カリウム緩衝液中におけるペプチドの CD スペクトルを測定したところ、4 種ともランダム構造が主であることが予測された。また、これらのペプチドは 50% トリフルオロエタノール水溶液中においても特徴的な 2 次構造を示す CD スペクトルは得られなかったことからランダム構造をとっていることが考えられた。さらに、ペプチドにヘムを添加した状態においても CD スペクトルを測定した結果、いずれのペプチドについても変化を示さず、相互作用に大きな二次構造変化はないことが分かった。光学セル内のヘム溶液に WT ペプチドを 30 s 間隔で滴定した結果、370 nm の吸収が増大し、ペプチド濃度が 0.5 当量を超えるまで吸収が増大した。P265A と P282A でも、WT 同様の 370 nm のピークが観測されたが、WT と違い片方の HRM を変異させたペプチドでは、ペプチド濃度が 0.7 当量を超えるまで吸収が増大した。一方、2 つの HRM を変異させた P265A/P282A では、ペプチド濃度が 1.0 当量を超えるまで吸収が増大した。しかし、全てのペプチドの滴定間隔を 5 min にしたところ、370 nm の吸収が急激に増大し、ペプチド濃度が 0.5 当量を超えるまで吸収が増大した(図 3)。これらのことから HRM とヘムとの相互作用において Pro 残基は必須ではないが、ヘムとの相互作用に寄与していることが示唆された。さらに、短鎖 HRM ペプチドを用いて滴定間隔 5 min で同様の滴定実験を行い、各 HRM の解離定

数を算出した結果(表1), WT と Pro 残基を変異させた HRM ペプチドの解離定数には有意な差がみられた。これらの結果より, Pro 残基は HRM の疎水性を高めることでヘムとの結合力を大きくする役割を持つと考えられる。

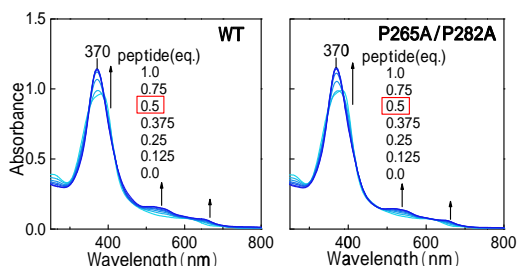


図3. ペプチド滴定によるヘムの吸収スペクトル変化。

表1. 短鎖 HRM ペプチドとヘムの結合親和性

	N	K_d [M]
WT (260-269)	0.95	2.8×10^{-7}
P265A (260-269)	0.91	2.5×10^{-6}
Tyr-WT (277-286)	0.98	5.2×10^{-8}
Tyr-P282A (277-286)	0.99	7.6×10^{-8}

(3) SPR による HO-2 と CPR との相互作用解析: ラット HO-2 の N 末端伸長配列を削除した変異体(N), および CPR との結合に重要と見られる塩基性残基を Ala に置換した変異体(K168A, R172A, R203A)を作製し, ラット CPR との相互作用を解析し, 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。解析例を図4に示し, その結果を表2にまとめる。Nは野生型(WT)に比べ, holo型で親和力が低下し, apo型では結合がみられなくなった。次に, NADP⁺添加実験から, WTと同様に CPR との親和力の増強が確認された。HO-2はHO-1と異なり, N末端伸長配列でも CPR と相互作用しており, この配列が apo型における CPR との結合に関与していると示唆された。また, 3つのAla置換体では, WTに比べ holo型と apo型とも親和力の低下が確認された。また, ヘム分解産物ビリベルジン(BV)とHO-2の複合体を作製し, CPR との相互作用解析を行ったところ, BV-HO-2複合体は CPR との結合を示さなかった。このことから, BVによる apo型 HO-2の相互作用解析への影響はなく, apo型 HO-2における CPR 結合能がサポートされた。また, BV結合により, HO-2で微小なコンホメーション変化が起こり, CPR に結合できなくなったと考えられる。さらに, HO-2に特徴的なN端延長配列ペプチドを化学合成し, HO-2とCPRとの結合に対する阻害実験を行ったところ, 濃度依存的にHO-2のCPRに対する結合を阻害した。このことから, HO-2がヘムと結合していないapo状態でも CPR と弱いながら親和性を示す原因として, この酸性残基に富む延長配列部分が CPR 分子表面の塩基性クラスター部分と静電的に相互作用していることが示唆され

た。

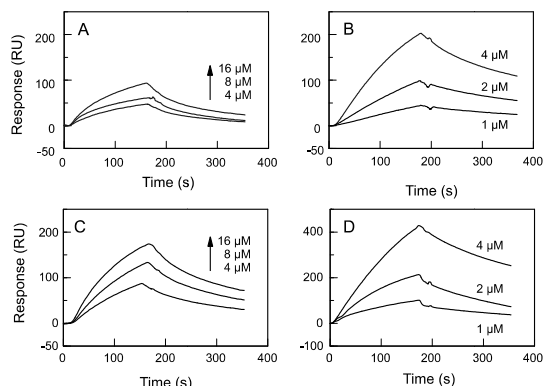


図4. HO-2 WTの固定化CPRに対する結合センサーグラム。(A) heme-free WT, (B) heme-bound WT, (C) heme-free WT + NADP⁺, (D) heme-bound + NADP⁺。

表2. HO-2とCPRの相互作用解析結果

	k_a $M^{-1}s^{-1}$	k_d s^{-1}	K_D μM
Heme-free WT	630 ± 19	$7.41 (\pm 0.98) \times 10^{-3}$	11.8
Heme-free WT + NADP ⁺	968 ± 11	$5.06 (\pm 0.44) \times 10^{-3}$	5.23
Heme Complex	2380 ± 104	$3.01 (\pm 0.12) \times 10^{-3}$	1.26
Heme Complex + NADP ⁺	10100 ± 207	$2.53 (\pm 0.25) \times 10^{-3}$	0.25
ΔN	125 ± 7	$3.25 (\pm 0.20) \times 10^{-3}$	26
ΔN + NADP ⁺	1150 ± 85	$4.15 (\pm 0.14) \times 10^{-3}$	3.6
K168A	126 ± 9	$5.94 (\pm 0.41) \times 10^{-3}$	47
K168A + NADP ⁺	579 ± 11	$5.40 (\pm 0.82) \times 10^{-3}$	9.32
R172A	167 ± 19	$2.26 (\pm 0.57) \times 10^{-3}$	13.5
R172A + NADP ⁺	538 ± 67	$3.26 (\pm 0.60) \times 10^{-3}$	6.06
R204A	177 ± 10	$3.10 (\pm 0.27) \times 10^{-3}$	17.5
R204A + NADP ⁺	131 ± 15	$2.99 (\pm 0.34) \times 10^{-3}$	22.8

アミノ酸変異のヘム分解への影響を検証するために, HO反応におけるスペクトル変化を測定した。single turnover反応では, ヘム複合体に特有のSoret peak(405 nm)の減少と, ビリベルジン由来の670 nm付近の上昇を観察した。WTヘム複合体は, NADPH添加後, 直ちに還元が開始され, 完全にビリベルジンへと分解された(図5A)。一方で, ΔN では顕著なヘムの分解は確認されなかった(図5B)。この結果は SPR 実験の結果をサポートし, N末端の延長配列が CPR との結合に関与していることを示唆する。

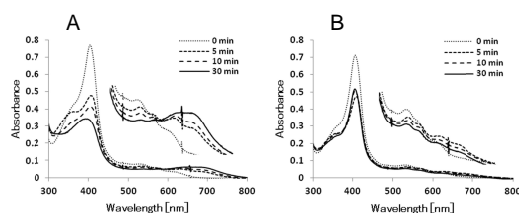


図5. HO-2 WT (A)と ΔN (B)のCPR還元系におけるsingle turnover反応

(4) 平衡沈降法を用いたHOとCPRとの相互作用解析: ホロ型HO-1およびCPRについて沈降平衡法により分子量測定を行った。回転中心からの距離に対して吸光度をプロットすると, どちらも指数関数的な濃度勾配を示した。非線形フィッティング解析より算出したホロ型HO-1およびCPRの分子量はそれぞれ 29.9 ± 1.1 および 68.9 ± 2.0 kDaとなり, どちらも理論値の31.2および69.9

kDa と近い値が得られた。よって、ホ口型 HO-1 および CPR はどちらも溶液中で自己会合することはなく単量体として存在すると考えられる。次に、ホ口型 HO-1 と CPR の混合試料について沈降平衡法による測定を行ったところ、セル底において急激な濃度勾配の上昇が見られた(図6)。これはホ口型 HO-1 と CPR が会合し、分子量が大きな複合体を形成していることを示唆する。非線形フィッティング解析より算出したホ口型 HO-1 と CPR の解離定数 K_d は $2.20 \pm 0.2 \mu\text{M}$ となり SPR 法により得られた $2.44 \pm 0.6 \mu\text{M}$ と近い値が得られた。よって、ホ口型の HO-1 と CPR は溶液中においても $K_d = 2 \mu\text{M}$ 程度の親和性をもって相互作用していることが示唆された。

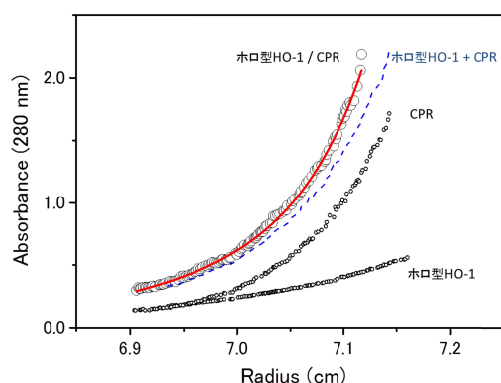


図6. ホ口型 HO-1 と CPR 混合試料. ホ口型 HO-1, CPR およびホ口型 HO-1 + CPR の濃度勾配曲線

CPR には open 型と closed 型の二種類の conformation があり, CPR のヒンジ領域の一部を切除すると open 型が安定化される。この open 型を安定化した変異 CPR (ΔTGEE)は, ヘム - HO-1 複合体に安定に結合し, ΔTGEE - ヘム - HO-1 複合体の結晶構造解析もなされている。一方, CPR 分子内にジスルフィド結合を強制的に形成させた変異 CPR (147CC514)は安定に closed 型として存在することが知られている。そこで, 分析用超遠心機を用いてヘム-HO-1 複合体と ΔTGEE および 147CC514 との相互作用を検討したところ, ΔTGEE はヘム-HO-1 複合体とサブマイクロ M 程度の解離定数で複合体を形成するのに対し, 147CC514 では複合体形成は見られなかった。

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 5件)

Komatsu, H., Yamamoto, S., Okuda, M., and Sakamoto, H. “Application of the Axial Iron Ligand-Mutant of Heme Oxygenase for Heme-Binding Analysis” Otaka, A. (Ed.) *Peptide Science 2014*, Protein Research Foundation, Osaka, pp. 185-186, 2015. ISBN 978-4-93541-15-3 (査読有)

Koga, S., Yoshihara, S., Bando, H., Yamasaki, K., Higashimoto, Y., Noguchi, M., Sueda, S., Komatsu, H., and Sakamoto, H.* “Development of a Heme Sensor Using Fluorescently Labeled Heme Oxygenase-1.” *Anal. Biochem.* **433**, 2-9, 2013.

DOI: 10.1016/j.ab.2012.10.0023 (査読有)

Kinjo, T., Koseki, Y., Kobayashi, M., Yamada, A., Morita, K., Yamaguchi, K., Tsurusawa, R., Gulten, G., Komatsu, H., Sakamoto, H., Sacchettini, J. C., Kitamura, M., and Aoki, S.* “Identification of Compounds with Potential Antibacterial Activity against Mycobacterium through Structure-Based Drug Screening” *J. Chem. Inf. Model* **53**, 1200-1213, 2013.

DOI: 10.1021/ci300571n3 (査読有)

Wada, S., Fukushima, Y., Higashimoto, Y., Sueda, S., Komatsu, H., and Sakamoto, H. “Surface Plasmon Resonance Analysis of Interaction of Heme Oxygenase-2 and NADPH-Cytochrome P450 Reductase” Nishiuchi, Y., and Teshima, T. (Ed.) *Peptide Science 2013*, Protein Research Foundation, Osaka, pp. 443-444, 2014.

ISBN 978-4-931541-14-63 (査読有)

Tsurusawa, R., Koga, S., Higashimoto, Y., Noguchi, M., and Sakamoto, H. “Functional Analysis of Proline of Heme Regulatory Motifs of Heme Oxygenase-2”, Sugimura, K. (Ed.) *Peptide Science 2012*, Protein Research Foundation, Osaka, pp. 329-330, 2013.

ISBN 978-4-931541-13-93 (査読有)

[学会発表](計 17件)

Hideyuki Komatsu, Shinpei Yamamoto, Masataka Okuda, Hiroshi Sakamoto, “Application of the axial ironligand-mutant heme oxygenase for heme-binding analysis”, 第51回ペプチド討論会(徳島大学大塚講堂)2014年10月22~24日

Junichi Taira, Hiroshi Sakamoto, Yuichiro Higashimoto, “Effect of glycogen synthase kinase 3 on the complex forming between growth factor receptor bound protein 14 and insulin receptor”, 第51回ペプチド討論会(徳島大学大塚講堂)2014年10月22~24日

杉島正一, 小松将大, 坂本 寛, 安永卓生, 佐藤秀明, 東元祐一郎, 原田二郎, 和田啓, 福山恵一, 山本健, 野口正人「NADPH-シトクロム P450 還元酵素とヘム-ヘムオキシゲナーゼ複合体との相互作用および電子伝達機構」第 87 回日本生化学会大会(国立京都国際会館)2014年10月15~18日

S. Koga, Y. Nakashima, Y. Higashimoto, S. Sueda, H. Komatsu, J. Taira, H. Sakamoto, “Development of a heme sensor using fluorescent-labeled heme oxygenase-1” 8th International Conference on Heme Oxygenases, BioIron & Oxidative Stress, Garvan Institute of

Medical Research, Sydney, Australia, 2014 年 10 月 8 ~ 11 日

吉元瑛祐, 中島幸徳, 小松英幸, 坂本寛「ヘムセンサーとしての青色蛍光蛋白質融合型ヘムオキシゲナーゼ-1 の発現系構築」第 51 回化学関連支部合同九州大会(北九州国際会議場) 2014 年 6 月 28 日

Shota Wada, Yuya Fukushima, Yuichiro Higashimoto, Shinji Sueda, Hideyuki Komatsu, Hiroshi Sakamoto, "Surface Plasmon Resonance Analysis of Interaction of Heme Oxygenase-2 and NADPH-Cytochrome P450 Reductase", 4th Asia-Pacific International Peptide Symposium/50th Japanese Peptide Symposium Osaka, 2013 年 11 月 6 ~ 8 日

和田翔太, 東元祐一郎, 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 還元酵素の相互作用におけるピリベルジンの影響」第 86 回日本生化学会大会(パシフィコ横浜) 2013 年 9 月 11 ~ 13 日

小松英幸, 奥田真孝, 山本真平, 東元祐一郎, 坂本寛「ヘムオキシゲナーゼのヘム結合のエネルギー論」第 86 回日本生化学会大会(パシフィコ横浜) 2013 年 9 月 11 ~ 13 日

中島幸徳, 古賀真也, 東元祐一郎, 末田慎二, 小松英幸, 坂本寛「ヘムセンサーとしての青色蛍光タンパク質融合型 heme oxygenase-1 の作製」平成 25 年度日本生化学会九州支部例会(佐賀大学本庄キャンパス農学部) 2013 年 5 月 18 ~ 19 日

小松英幸, 奥田真孝, 山本真平, 東元祐一郎, 末田慎二, 坂本寛「ヘムオキシゲナーゼのヘム結合の置換等温滴定熱測定による熱力学的解析」平成 25 年度日本生化学会九州支部例会(佐賀大学本庄キャンパス農学部) 2013 年 5 月 18 ~ 19 日

和田翔太, 東元祐一郎, 野口正人, 末田慎二, 小松英幸, 坂本寛「表面プラズモン共鳴法によるヘムオキシゲナーゼ-2 とシトクロム P450 還元酵素の相互作用機構の検討」第 85 回日本生化学会大会(福岡国際会議場) 2012 年 12 月 14 ~ 16 日

小松英幸, 奥田真孝, 山本真平, 東元祐一郎, 野口正人, 坂本寛「ヘムオキシゲナーゼのヘム結合の熱力学: 置換等温滴定熱測定による精密解析」第 85 回日本生化学会大会(福岡国際会議場) 2012 年 12 月 14 ~ 16 日

鶴澤怜也, 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-2 由来 HRM ペプチドの Pro 残基における機能解析」第 49 回ペプチド討論会(鹿児島県民交流センター) 2012 年 11 月 7 ~ 9 日

坂東大輝, 古賀真也, 山崎一樹, 東元祐一郎, 野口正人, 小松英幸, 坂本寛「ヘム

定量に用いるセンサー蛋白質における蛍光色素の選定および導入箇所の検討」第 49 回化学関連支部合同九州大会(北九州国際会議場) 2012 年 6 月 30 日

藤井涼, 古賀真也, 山崎一樹, 東元祐一郎, 野口正人, 小松英幸, 坂本寛「蛍光共鳴エネルギー移動によるヘムオキシゲナーゼ-1 とシトクロム P450 還元酵素間の親和性解析」第 49 回化学関連支部合同九州大会(北九州国際会議場) 2012 年 06 月 30 日

和田翔太, 福嶋祐也, 東元祐一郎, 野口正人, 末田慎二, 小松英幸, 坂本寛「表面プラズモン共鳴法を用いたヘムオキシゲナーゼ-2 変異体とシトクロム P450 還元酵素との相互作用解析」平成 24 年度日本生化学会九州支部例会(福岡大学七隈キャンパス) 2012 年 5 月 26 ~ 27 日

山本真平, 奥田真孝, 山下耕平, 東元祐一郎, 野口正人, 小松英幸, 坂本寛「ヘムオキシゲナーゼ-1 とヘムとの結合における静電的相互作用の熱力学的解析」平成 24 年度日本生化学会九州支部例会(福岡大学七隈キャンパス) 2012 年 5 月 26 ~ 27 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ
<http://www.bio.kyutech.ac.jp/lab>

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・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

小松 英幸 (KOMATSU, Hideyuki)
九州工業大学・大学院情報工学研究院・助教
研究者番号: 90253567

(3) 連携研究者

野口 正人 (NOGUCHI, Masato)
久留米大学・医学部・教授
研究者番号: 10124611