

3-11 岡崎共通研究施設（分子科学研究所関連）

岡崎統合バイオサイエンスセンター

青野重利（教授）（2002年5月1日着任）

A-1) 専門領域：生物無機化学

A-2) 研究課題：

- a) 一酸化炭素センサータンパク質 CooA の構造と機能に関する研究
- b) 酸素センサータンパク質 HemAT の構造と機能に関する研究
- c) ヘムを活性中心とする新規な脱水酵素の構造と機能に関する研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) CooA は一酸化炭素（CO）を生理的なエフェクターとする、これまでに例の無い新規な転写調節因子であり、その分子中に CO をセンシングするための活性中心としてヘム（鉄ポルフィリン錯体）を有している。CooA の転写調節機能は CO の有無により制御されており、CooA 分子中のヘムに CO が結合した場合にのみ、標的 DNA に特異的に結合し、支配下遺伝子の転写を活性化することを以前の研究で明らかにした。このように CO が生理的に積極的な意義を有していることを明らかにしたのは、CooA が世界で最初の例である。本研究では CooA の構造機能相関の全貌を明らかにするため、まず CooA の立体構造解明を目的として X 線結晶構造解析を行った。その結果、分子中のヘムにイミダゾールが配位した CooA の構造決定に成功した。本構造は標的 DNA には結合できない不活性型の構造であった。現在、活性型である CO 結合型の構造決定を試みている。
- b) HemAT は、細菌の酸素に対する走化性制御系において酸素センサーとして機能するシグナルトランスデューサータンパク質である。本研究では、HemAT による選択的な酸素センシング機構、ならびに酸素センシングに引き続いておこるシグナル伝達機構の解明を目的として研究を行った。HemAT による選択的な酸素センシング機構を明らかにするため、野生型ならびにヘム周辺のアミノ酸残基に系統的な変異を導入した各種変異体を調製し、共鳴ラマンスペクトルを中心に各種分光学的な測定を行うことで、それらの性質について詳細な検討を行った。また、DNA データベース解析により HemAT ホモログの検索を行い、何種類かの HemAT ホモログを取得することに成功した。得られた HemAT ホモログの性質を比較検討することにより、HemAT の機能発現に必須の要因を明らかにすることを試み、いくつかの必須要因を見いだすことに成功した。
- c) アルドキシム脱水酵素はアルドキシムの脱水反応によりニトリルを生成する反応を触媒する新規なヘム含有酵素である。本研究ではアルドキシム脱水酵素の触媒反応機構の解明を目的とし、*Bacillus* sp. OxB-1 株および *Rhodococcus* sp. N-771 株由来のアセトアルドキシム脱水酵素を対象として研究をおこなった。共鳴ラマンスペクトル、EPR スペクトル、電子吸収スペクトルにより、活性中心であるヘムの性質、局所構造を明らかにするとともに、各種条件下における酵素反応を詳細に解析することにより、本酵素反応の反応機構を明らかにすることに成功した。

B-1) 学術論文

E. PINAKOULAKI, H. YOSHIMURA, V. DASKALAKIS, S. YOSHIOKA, S. AONO and C. VAROTSIS, “Two Ligand Binding Sites in the O₂-Sensing Signal Transducer HemAT: Implication for Ligand Recognition/Discrimination and Signaling,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 14796–14801 (2006).

K. KOBAYASHI, M. KUBO, S. YOSHIOKA, T. KITAGAWA, Y. KATO, Y. ASANO and S. AONO, “Systematic Regulation of the Enzymatic Activity of Phenylacetaldoxime Dehydratase by Exogenous Ligand,” *ChemBioChem* **7**, 2004–2009 (2006).

H. KOMORI, K. SATOMOTO, Y. UEDA, N. SHIBATA, S. INAGAKI, S. YOSHIOKA, S. AONO and Y. HIGUCHI, “Crystallization and Preliminary X-Ray Analysis of CooA from *Carboxydotherrmus hydrogenoformans*,” *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Cryst. Commun.* **62**, 471–473 (2006).

T. ZHANG, I. RUBTSOV, H. NAKAJIMA, S. AONO and K. YOSHIHARA, “Effect of Mutation on the Dissociation and Recombination Dynamics of CO in Transcriptional Regulator CooA: A Picosecond Infrared Transient Absorption Study,” *Biochemistry* **45**, 9246–9253 (2006).

H. YOSHIMURA, S. YOSHIOKA, K. KOBAYASHI, T. OHTA, T. UCHIDA, M. KUBO, T. KITAGAWA and S. AONO, “Specific Hydrogen Bonding Networks Responsible for Selective O₂ Sensing for the Oxygen Sensor Protein HemAT from *Bacillus subtilis*,” *Biochemistry* **45**, 8301–8307 (2006).

E. PINAKOULAKI, H. YOSHIMURA, S. YOSHIOKA, S. AONO and C. VAROTISIS, “Recognition and Discrimination of Gases by the Oxygen-Sensing Signal Transducer Protein HemAT as Revealed by FTIR Spectroscopy,” *Biochemistry* **45**, 7763–7766 (2006).

M. KUBO, S. INAGAKI, S. YOSHIOKA, T. UCHIDA, Y. MIZUTANI, S. AONO and T. KITAGAWA, “Evidence for Displacements of the C-Helix by CO Ligation and DNA Binding to CooA Revealed by UV Resonance Raman Spectroscopy,” *J. Biol. Chem.* **281**, 11271–11278 (2006).

K. KOBAYASHI, B. PAL, S. YOSHIOKA, Y. KATO, Y. ASANO, T. KITAGAWA and S. AONO, “Spectroscopic and Substrate Binding Properties of Heme-Containing Aldoxime Dehydratases, OxdB and OxdRE,” *J. Inorg. Biochem.* **100**, 1069–1074 (2006).

B-4) 招待講演

S. AONO, “Activation mechanism of CO-sensing transcriptional activator CooA,” Biochemistry and Molecular Biology of Sensor Enzymes and Proteins, Satellite Meeting of 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Sendai (Japan), June 2006.

S. AONO, S. INAGAKI, S. YOSHIOKA, H. KOMORI and Y. HIGUCHI, “Activation mechanism of the heme-based CO sensor protein CooA revealed by the crystal structure,” 4th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP4), Rome (Italy), July 2006.

B-7) 学会および社会的活動

文部科学省、学術振興会等の役員等

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員 (2005-).

日本学術振興会国際事業委員会書面審査員 (2005-).

学会誌編集委員

J. Biol. Inorg. Chem., Editorial Advisory Board (2002-2004).

B-8) 他大学での講義、客員

東京工業大学大学院理工学研究科, 非常勤講師, 2006年12月 - 2007年3月.

B-9) 学位授与

稲垣さや香, 「Structure and Function of the CO-Sensing Transcriptional Activator CooA from *Carboxydothemus hydrogenoformans*」, 2006年3月, 博士(理学)

B-10) 外部獲得資金

特定領域研究(A)「生体金属分子科学」, 「遷移金属含有型転写調節因子による遺伝子発現調節機構に関する研究」, 青野重利 (1996年-1999年).

住友財団 基礎科学研究助成, 「一酸化炭素をエフェクターとする新規な転写調節因子の生物無機化学的研究」, 青野重利 (1997年).

旭硝子財団 奨励研究助成, 「一酸化炭素による遺伝子発現の調節に関与する新規な転写調節因子 CooA に関する研究」, 青野重利 (1998年).

特定領域研究(A)「標的分子デザイン」, 「一酸化炭素をエフェクターとする転写調節因子の一酸化炭素応答およびDNA認識機構」, 青野重利 (1998年-2000年).

基盤研究(C), 「シグナルセンサーとしてのヘムを有する転写調節因子の構造と機能に関する研究」, 青野重利 (2000年-2001年).

特定領域研究「生体金属センサー」, 「一酸化炭素センサーとして機能する転写調節因子 CooA の構造と機能」, 青野重利 (2000年-2004年).

基盤研究(B), 「ヘムを活性中心とする気体分子センサータンパク質の構造と機能」, 青野重利 (2002年-2003年).

萌芽研究, 「気体分子センサータンパク質の構造機能解析とそのバイオ素子への応用」, 青野重利 (2002年-2003年).

東レ科学技術研究助成金, 「気体分子による生体機能制御のケミカルバイオロジー」, 青野重利 (2003年).

基盤研究(B), 「生体機能制御に関与する気体分子センサータンパク質の構造と機能」, 青野重利 (2004年-2006年).

特定領域研究「配位空間の化学」, 「タンパク質配位空間を利用した気体分子センシングとシグナル伝達」, 青野重利 (2005年-2007年).

内藤記念科学奨励金(研究助成)「気体分子による生体機能制御のケミカルバイオロジー」, 青野重利 (2006年).

C) 研究活動の課題と展望

これまで、一酸化炭素、酸素などの気体分子が生理的なエフェクター分子として機能するセンサータンパク質を主な研究対象として研究を進めてきた。センサータンパク質の機能は、基本的にはエフェクター分子の有無によるセンサータンパク質の分子構造変化により制御されている。したがってこれらセンサータンパク質の構造機能相関を解明するためには、エフェクター分子存在下および非存在下におけるセンサータンパク質の分子構造を解明することが必須である。CooA に関しては、不

活性型の構造決定には成功しているが、活性型の構造決定には至っていない。今後は、活性型CooAならびにHemATの構造決定を目指して研究を行う予定である。また、ヘム以外の金属含有補欠分子族を活性中心とする新規なセンサータンパク質に関する研究にも取り組んでいきたい。

藤 井 浩 (助教授) (1998 年 3 月 1 日着任)

A-1) 専門領域：生物無機化学、磁気共鳴

A-2) 研究課題：

- a) 酸化反応に関与する金属酵素反応中間体モデルの合成
- b) 亜硝酸還元酵素の反応機構の研究
- c) 小分子をプローブとした金属酵素の活性中心の構造と機能の相関
- d) 位置特異的ミュートーションを用いた基質配向制御による酵素機能変換

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 生体内で酸化反応に関与する金属酵素は、その反応中に高酸化状態の反応中間体を生成する。この高酸化状態の反応中間体は、酵素反応を制御するキーとなる中間体であるが、不安定なため詳細が明らかでない。酸化反応に関わる金属酵素の機能制御機構を解明するため、高酸化反応中間体のモデル錯体の合成を行った。非ヘム酵素モデルとして立体障害を導入した新規サレン鉄錯体を合成した。構造解析や電子構造を研究した結果、カテコールジオキシゲナーゼの特異な活性中心の構造が、電子的要因によることを明らかにした。
- b) 地中のバクテリアの中には、嫌気条件で硝酸イオンを窒素に還元する一連の酵素が存在する。これらの過程で、亜硝酸イオンを一酸化窒素に還元する過程を担う酵素が亜硝酸還元酵素である。銅イオンを活性中心にもつ本酵素の反応機構をモデル錯体から研究した。酵素がもつ反応場が酵素機能に果たす役割を解明するため、種々の配位環境をもつモデル錯体を合成した。モデル錯体の合成と構造解析に成功した。モデル錯体は、配位環境によらず窒素原子で配位した構造をとることが明らかになった。
- c) 金属酵素と強く結合する小分子をプローブとした構造・機能測定法の開発を行った。金属酵素の金属イオンに配位した小分子は、配位する金属イオンの種類、配位子、構造によりその電子状態を大きく変化させる。この電子状態の変化を磁気共鳴法により検出し構造や機能との相関を示すことができれば、新規構造・機能測定法になると考える。ヘムに配位したオキシ原子の ^{17}O NMR の測定を行い、酸化活性との相関を研究した。またヘムに配位したシアニドイオンの ^{13}C NMR や ^{15}N NMR が、ヘム近位側、遠位側の水素結合の特性を知るよい手法であることを示した。さらに、銅タンパク質と強く結合する一酸化炭素 (CO) が ^{63}Cu NMR による構造・機能解析のよいプローブになることを見出した。
- d) 酵素は、高い反応選択性を示すことがよく知られている。酵素の活性中心にある基質結合に関わるアミノ酸残基に着目し、基質の中で反応させたい部位が活性サイトに来るような酵素を設計し、作成した。この手法に基づき、反応選択性をもたない特異な酵素を選択性をもつ酵素に変換することに成功した。

B-1) 学術論文

M. KUJIME and H. FUJII, "Spectroscopic Characterization of Reaction Intermediates in Nitrite Reduction of Copper(I) Nitrite Complex as a Reaction Model for Copper Nitrite Reductase," *Angew. Chem., Int. Ed.* **45**, 1089–1092 (2006).

A. TANAKA, H. NAKAMURA, Y. SHIRO and H. FUJII, "Roles of the Heme Distal Residues of FixL in O_2 Sensing: A Single Convergent Structure of the Heme Moiety Is Relevant to the Down-Regulation of Kinase Activity," *Biochemistry* **45**, 2515–2523 (2006).

H. FUJII, T. KURAHASHI, T. TOSHA, T. YOSHIMURA and T. KITAGAWA, “¹⁷O NMR Study of Oxo Metalloporphyrin Complexes: Correlation with Electronic Structure of M=O Moiety,” *J. Inorg. Biochem.* **100**, 533–541 (2006).

H. FUJII and T. YOSHIDA, “¹³C and ¹⁵N NMR Studies of Iron-Bound Cyanides of Heme Proteins and Related Model Complexes: Sensitive Probe for Detecting Hydrogen Bonding Interactions at the Proximal and Distal Sides,” *Inorg. Chem.* **45**, 6816–6827 (2006).

T. KURAHASHI, K. ODA, M. SUGIMOTO, T. OGURA and H. FUJII, “A Trigonal-Bipyramidal Geometry Induced by an External Water Ligand in a Sterically Hindered Iron Salen Complex, Related to the Active Site of Protocatechuate 3,4-Dioxygenase,” *Inorg. Chem.* **45**, 7709–7721 (2006).

B-4) 招待講演

藤井 浩, 「金属酵素の機能発現メカニズムの解明とそれに基づく人工酵素の開発」化学と生物の新融合領域のフロンティア, 札幌, 2006年2月.

H. FUJII, “Spectroscopic Characterization of Reaction Intermediates in a Model for Copper Nitrite Reductase,” Post Hyaishi Symposium “Chemical Biology of Redoxmetalloenzymes,” Hrima (Japan), April 2006.

藤井 浩, 「立体障害を導入した新規サレン錯体による単核非ヘム酵素の構造と機能の研究」分子研研究会「金属機能中心を持つ高性能分子システムの創成——その構造と機能」岡崎, 2006年6月.

H. FUJII, “Control of Regioselectivity of Heme Oxygenase by Reconstruction of Hydrogen-Bonding Interactions between Substrate and Enzyme,” 5th East Asia Biophysics Symposium, Okinawa (Japan), November 2006.

B-10) 外部獲得資金

奨励研究(A), 「ヘム酵素の軸配位子が多様な酵素機能を制御する機構の解明」藤井 浩 (1997年-1999年).

重点領域研究(公募)「生体金属分子科学」 「チトクロームc酸化酵素反応中間体モデル錯体の構築と反応機構の研究」藤井 浩 (1997年-1998年).

上原記念生命科学財団 研究奨励金, 「ヘムオキシゲナーゼにおける反応特異性およびヘム代謝機構の研究」藤井 浩 (1999年).

重点領域研究(公募)「生体金属分子科学」 「¹⁷O-NMRによる銅-酸素錯体の配位した酸素の電子構造と反応性の研究」藤井 浩 (1999年).

内藤財団 科学奨励金, 「ヘムオキシゲナーゼによる位置特異的ヘム代謝機構の解明」藤井 浩 (2000年).

基盤研究(C), 「合成ヘムとミオグロビン変異体による亜硝酸還元酵素モデルの構築と反応機構の研究」藤井 浩 (2000年-2002年).

基盤研究(B), 「単核非ヘム酵素反応中間体としての高酸化オキソ錯体の合成と反応性の研究」藤井 浩 (2002年-2004年).

基盤研究(B), 「立体構造にもとづく基質結合サイトの再構築による酵素反応選択性の制御」藤井 浩 (2004年-2007年).

大幸財団 海外学術交流助成金, 「第3回ポルフィリンとフタロシアニンに関する国際会議での研究発表」藤井 浩 (2004年).

特定領域研究(公募)「配位空間」 「金属酵素のナノ反応空間における基質の配向および反応選択性の制御」藤井 浩 (2005年-2006年).

C) 研究活動の課題と展望

生体内の金属酵素の構造と機能の関わりを、酵素反応中間体の電子構造から研究している。金属酵素の機能をより深く理解するためには、反応中間体の電子状態だけでなく、それを取り囲むタンパク質の反応場の機能を解明することも重要であると考え。これまでの基礎研究で取得した知見や手法をさらに発展させて、酵素、タンパクのつくる反応場の特質と反応性の関係を解明していきたいと考える。また、これらの研究を通して得られた知見を基に、酵素機能変換法の新概念を確立できるよう研究を進めたいと考える。

北川 禎 三 (教授) (1983年4月1日 ~ 2006年3月31日) *

A-1) 専門領域：振動分光学、生物物理化学

A-2) 研究課題：

- a) 蛋白質の超高速ダイナミクス
- b) タンパク質高次構造による機能制御と紫外共鳴ラマン分光
- c) 生体系における酸素活性化機構
- d) 金属ポルフィリン励起状態の振動緩和及び構造緩和
- e) 振動分光学の新技术の開発
- f) 呼吸系及び光合成反応中心における電子移動/プロトン輸送のカップリング機構
- g) NO レセプター蛋白の構造と機能
- h) タンパク質のフォルディング/アンフォルディングの初期過程
- i) センサーヘム蛋白質のセンシング及び情報伝達機構
- j) DNA フォトリアーゼの DNA 修復機構の解明
- k) β_2 ミクログロブリンのアミロイド形成機構の解明

A-3) 研究活動の概略と主な成果

時間分解共鳴ラマン分光法と赤外分光法を主たる実験手法とし、反応中間体や励起状態のように寿命の短い分子種或いは顕微鏡サイズの蛋白質構造体の振動スペクトルを観測することにより、反応する分子の動的構造や会合による高次構造変化を解明して、構造と機能との関係を明らかにする研究を進めている。扱う物質としては金属タンパク質とアミロイド化蛋白質が主で、次のように分類される。

- a) ピコ秒時間分解ラマンによるタンパク質超高速ダイナミクス。ミオグロビン CO 付加体の光解離・再結合過程をピコ秒可視ラマン分光で追跡した。サブナノ秒時間分解紫外共鳴ラマンも同時に調べている。1997年には、水谷助手（現大阪大教授）のミオグロビンのヘム冷却過程の研究成果が雑誌 *Science* に掲載された。水谷博士はその一連の研究が評価されて井上研究奨励賞と森野研究奨励賞を受賞。現在は、小分子を検出するセンサー蛋白のセンシング及びシグナリング機構の解明の研究にもこの方法を応用。
- b) タンパク質高次構造による機能制御と紫外共鳴ラマン分光。ヘモグロビンの4次構造を反映するラマン線を見つけ帰属した。1分子が約300残基からなるタンパク分子中の1個のチロシンやトリプトファンのラマンスペクトルの抽出に成功し、それが4次構造変化の際にどのように変化しているかを明らかにした。
- c) ヘム酵素による酸素活性化機構の解明。その反応中間体である高酸化ヘムの $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ 伸縮振動の検出等、この分野の国際的フロンティアをつくっている。小倉助手（現兵庫県立大教授）のチトクロム酸化酵素による O_2 還元機構の研究は1993年の化学会進歩賞受賞の荣誉に輝いた。また総研大生でこの仕事をしていた廣田俊君（2007年4月より奈良先端大教授）はその学位論文に対し井上研究奨励賞を受賞した。
- d) 金属ポルフィリン励起状態のダイナミクス。ピコ秒時間分解ラマンが現在の仕事の中心、振動緩和の測定で振動エネルギー再分配に新しい発見をして1999年に *J. Chem. Phys.* に印刷された。数ピコ秒で起こる振動エネルギー再分配にモード選択性もみつけて、BCSJのAccount論文として掲載されるにいたっている。

- e) 新しい原理を用いたフーリエ変換ラマン分光計の試作，及び CCD を用いたスキャニング・マルチチャンネルラマン分光器の試作，紫外共鳴ラマン用回転セル，酵素反応中間体測定用フローラマン装置の製作，ナノ秒温度ジャンプ装置の製作，ダイオードレーザーを光源とする高感度赤外分光法の開発，高分子量蛋白質の高分解能紫外共鳴ラマンスペクトル測定装置の製作，サブナノ秒時間分解紫外共鳴ラマン測定系の製作等。これらに参加した総研大生の高橋聡君（現阪大助教授）は，最近森野研究奨励賞を受賞。
- f) 有機溶媒中のキノン，及びその還元体の紫外共鳴ラマン分光とバクテリア光合成反応中心タンパク中のキノン A，B の共鳴ラマンスペクトルの観測。
- g) ウシ肺から可溶性グアニレートシクラーゼを単離・精製し，その共鳴ラマンスペクトルを観測した。この研究を行った院生の富田君（東北大助手を経て，現在 NIH 研究員）は 1997 年度の総研大長倉賞，及び 1998 年度井上賞を受賞した。CO 結合体に 2 種の分子形があり，YC-1 のようなエフェクターを入れると分子形は 1 種類になって，活性は 200 倍近くなる。CO と YC-1 に協同効果がある。
- h) ナノ秒温度ジャンプ法を用いてウシのリボヌクレアーゼ A の熱アンフォルディングのナノ秒時間分解ラマンの測定に成功。タンパク質のナノ秒温度ジャンプでは世界で初めてのデータである。
- i) 環境因子として CO，NO，O₂ 等の 2 原子分子を特異的に検出し，合目的の生理的応答をつくり出すセンサーヘム蛋白質の共鳴ラマン分光。各蛋白質が 2 原子分子を識別するメカニズム，検出後にそれを機能発現部位に伝達するメカニズムを時分割紫外共鳴ラマン分光法を用いて明らかにする。O₂ センサーについては，大腸菌の Dos，細菌の HemAT について，CO については脳の NPAS2，細菌の CooA 等。
- j) DNA の損傷を受けた部分を光の作用で修復する酵素の共鳴ラマン分光。その酵素を大腸菌で大量発現し，それに FAD や MTHF を結合させた時，或は青色光照射による修復中間体の蛋白質の構造変化を紫外共鳴ラマン法で検出する。
- k) 免疫蛋白質の抗原結合部位に相当する β_2 ミクログロブリンは透析治療を長く続けた患者の血液中に濃縮され，突然アミロイド線維を形成して痛みを与える。そのアミロイド線維の顕微偏光赤外スペクトルを測定して，線維中の蛋白質の構造を論じる。この蛋白質の # 11-21 残基で作った線維の IR を JACS に報告した。

B-1) 学術論文

T. OHTA, B. PAL and T. KITAGAWA, "Excited State Property of Hardly Photodissociable Heme-CO Adduct Studied by Time-Dependent Density Functional Theory," *J. Phys. Chem. B* **109**, 21110–21117 (2005).

T. OSAKO, S. NAGATOMO, T. KITAGAWA, C. J. CRAMER and S. ITOH, "Kinetics and DFT Studies on the Reaction of Copper(II) Complexes and H₂O₂," *J. Biol. Inorg. Chem.* **10**, 581–590 (2005).

E. PINAKOULAKI, T. OHTA, T. SOULIMANE, T. KITAGAWA and C. VAROTSIS, "Detection of the His-Heme Fe²⁺-NO Species in the Reduction of NO to N₂O by *ba*₃-Oxidase from *Thermus thermophilus*," *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 15161–15167 (2005).

C. V. SASTRI, M. J. PARK, T. OHTA, T. A. JACKSON, A. STUBNA, M. S. SEO, J. LEE, J. KIM, T. KITAGAWA, E. MUNCK, L. QUE, Jr. and W. NAM, "Axial Ligand Substituted Nonheme Fe^{IV}=O Complexes: Observation of New near UV LMCT Bands and Fe=O Raman Vibrations," *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 12494–12495 (2005).

- J. KARDOS, D. OKUNO, T. KAWAI, Y. HAGIHAWA, N. YUMOTO, T. KITAGAWA, P. ZAVODSZKY, H. NAIKI and Y. GOTO**, “Structural Studies Reveal that the Diverse Morphology of β_2 -Microglobulin Aggregates is a Reflection of Different Molecular Architectures,” *Biochim. Biophys. Acta* **1753**, 108–120 (2005).
- T. OSAKO, S. TERADA, T. TOSHA, S. NAGATOMO, H. FURUTACHI, S. FUJINAMI, T. KITAGAWA, M. SUZUKI and S. ITOH**, “Structure and Dioxygen-Reactivity of Copper(I) Complexes Supported by Bis(6-methylpyridin-2-yl-methyl)amine Tridentate Ligands,” *Dalton Trans.* 3514–3521 (2005).
- T. KURAHASHI, Y. KOBAYASHI, S. NAGATOMO, T. TOSHA, T. KITAGAWA and H. FUJII**, “Oxidizing Intermediates from the Sterically Hindered Iron Salen Complexes Related to the Oxygen Activation by Nonheme Iron Enzymes,” *Inorg. Chem.* **44**, 8156–8166 (2005).
- H. SAWAI, M. MAKINO, Y. MIZUTANI, T. OHTA, H. SUGIMOTO, T. UNO, N. KAWADA, K. YOSHIZATO, T. KITAGAWA and Y. SHIRO**, “Structural Characterization of the Proximal and Distal Histidine Environment of Cytochrome c and Neuroglobin,” *Biochemistry* **44**, 13257–13265 (2005).
- S. YOSHIOKA, K. KOBAYASHI, H. YOSHIMURA, T. UCHIDA, T. KITAGAWA and S. AONO**, “Biophysical Properties of a c-Type Heme in Chemotaxis Signal Transducer Protein DcrA,” *Biochemistry* **44**, 15406–15413 (2005).
- K. KONISHI, T. OHTA, K. OINUMA, Y. HASHIMOTO, T. KITAGAWA and M. KOBAYASHI**, “Discovery of a Reaction Intermediate of Aliphatic Aldoxime Dehydratase Involving Heme as an Active Center,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**, 564–568 (2006).
- T. MATSUMOTO, H. FURUTACHI, M. KOBINO, M. TOMII, S. NAGATOMO, T. TOSHA, T. OSAKO, S. FUJINAMI, S. ITOH, T. KITAGAWA and M. SUZUKI**, “Intramolecular Arene Hydroxylation versus Intermolecular Olefin Epoxidation by (μ - η^2 : η^2 -Peroxo)dnicopper(II) Complex Supported by Dinucleating Ligand,” *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 3874–3875 (2006).
- J. M. STEVENS, T. UCHIDA, O. DALTRUP, T. KITAGAWA and S. J. FERGUSON**, “Dynamic Ligation Properties of the *Escherichia coli* Heme Chaperone CcmE to Non-Covalently Bound Heme,” *J. Biol. Chem.* **281**, 6144–6151 (2006).
- S. NEYA, K. IMAI, Y. HIRAMATSU, T. KITAGAWA, T. HOSHINO, M. HATA and N. FUNASAKI**, “Significance of the Molecular Shape of Iron Corrophycene in a Protein Pocket,” *Inorg. Chem.* **45**, 4238–4242 (2006).
- J. CHO, H. FURUTACHI, S. FUJINAMI, T. TOSHA, H. OHTSU, O. IKEDA, A. SUZUKI, M. NOMURA, T. URUGA, H. TANIDA, T. KAWAI, K. TANAKA, T. KITAGAWA and M. SUZUKI**, “Sequential Reaction Intermediates in Aliphatic C–H Bond Functionalization Initiated by a Bis(μ -oxo)dinickel(III) Complex,” *Inorg. Chem.* **45**, 2873–2885 (2006).
- H. FUJII, T. KURAHASHI, T. TOSHA, T. YOSHIMURA and T. KITAGAWA**, “ ^{17}O NMR Study of Oxo Metalloporphyrin Complexes: Correlation with Electronic Structure of M=O Moiety,” *J. Inorg. Biochem.* **100**, 533–541 (2006).
- Y. SUH, M. S. SEO, K. M. KIM, Y. S. KIM, H. G. JANG, T. TOSHA, T. KITAGAWA, J. KIM and W. NAM**, “Nonheme Iron(II) Complexes of Macrocyclic Ligands in the Generation of Oxoiron(IV) Complexes and the Catalytic Epoxidation of Olefins,” *J. Inorg. Biochem.* **100**, 627–633 (2006).
- P. M. KOZLOWSKI, J. KUTTA, T. OHTA and T. KITAGAWA**, “Resonance Raman Enhancement of $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ Stretch in High-Valent Iron Porphyrins: An Insight from TD-DFT Calculations,” *J. Inorg. Biochem.* **100**, 744–750 (2006).
- K. KOBAYASHI, B. PAL, S. YOSHIOKA, Y. KATO, Y. ASANO, T. KITAGAWA and S. AONO**, “Spectroscopic and Substrate Binding Properties of Heme-Containing Aldoxime Dehydratases, OxdB and OxdRe,” *J. Inorg. Biochem.* **100**, 1069–1074 (2006).

- Y. MUKAIYAMA, T. UCHIDA, E. SATO, A. SASAKI, Y. SATO, J. IGARASHI, H. KUROKAWA, I. SAGAMI, T. KITAGAWA and T. SHIMIZU**, “Spectroscopic and DNA-Binding Characterization of the Isolated Heme-Bound Basic Helix-Loop-Helix-PAS-A Domain of Neuronal PAS Protein 2 (NPAS2), a Transcription Activator Protein Associated with Circadian Rhythms,” *FEBS J.* **273**, 2528–2539 (2006).
- H. YOSHIMURA, S. YOSHIOKA, K. KOBAYASHI, T. OHTA, T. UCHIDA, M. KUBO, T. KITAGAWA and S. AONO**, “Specific Hydrogen-Bonding Networks Responsible for Selective O₂ Sensing of the Oxygen Sensor Protein HemAT from *Bacillus Subtilis*,” *Biochemistry* **45**, 8301–8307 (2006).
- T. TOSHA, N. KAGAWA, T. OHTA, S. YOSHIOKA, M. R. WATERMAN and T. KITAGAWA**, “Raman Evidence for Specific Substrate-Induced Structural Changes in the Heme Pocket of Human Cytochrome P450 Aromatase during the Three Consecutive Oxygen Activation Steps,” *Biochemistry* **45**, 5631–5640 (2006).
- M. KUBO, S. INAGAKI, S. YOSHIOKA, T. UCHIDA, Y. MIZUTANI, S. AONO and T. KITAGAWA**, “Evidence for Displacement of the C-Helix by CO Ligation and DNA Binding to CooA Revealed by UV Resonance Raman Spectroscopy,” *J. Biol. Chem.* **281**, 11271–11278 (2006).
- T. TOSHA, T. UCHIDA, A. R. BRASH and T. KITAGAWA**, “On the Relationship of Coral Allene Oxide Synthase to Catalase: A Single Active Site Mutation That Induces Catalase Activity in Coral Allene Oxide Synthase,” *J. Biol. Chem.* **281**, 12610–12617 (2006).
- J. LI, T. UCHIDA, T. TODO and T. KITAGAWA**, “Similarities and Differences between Cyclobutane Pyrimidine Dimer (CPD) Photolyase and (6-4) Photolyase as Revealed by Resonance Raman Spectroscopy: Electron Transfer from the FAD Cofactor to UV-Damaged DNA,” *J. Biol. Chem.* **281**, 25551–25559 (2006).
- M. LU, H. HIRAMATSU, Y. GOTO and T. KITAGAWA**, “Structure of Interacting Segments in the Growing Amyloid Fibril of β_2 -Microglobulin Probed with IR Spectroscopy,” *J. Mol. Biol.* **362**, 355–364 (2006).
- Y. GAO, S. F. EL-MASHTOLY, B. PAL, T. HAYASHI, K. HARADA and T. KITAGAWA**, “Pathway of Information Transmission from Heme to Protein Upon Ligand Binding/Dissociation in Myoglobin Revealed by UV Resonance Raman Spectroscopy,” *J. Biol. Chem.* **281**, 24637–24646 (2006).
- J. LI, T. UCHIDA, T. OHTA, T. TODO and T. KITAGAWA**, “Characteristic Structure and Environment in FAD Cofactor of (6-4) Photolyase along Function Revealed by Resonance Raman Spectroscopy,” *J. Phys. Chem. B* **110**, 16724–16732 (2006).
- Y. GAO, M. KOYAMA, S. F. EL-MASHTOLY, T. HAYASHI, K. HARADA, Y. MIZUTANI and T. KITAGAWA**, “Time-Resolved Raman Evidence for Energy Funneling through Propionate Side Chains in Heme Cooling Upon Photolysis of Carbonmonoxy Myoglobin,” *Chem. Phys. Lett.* **429**, 239–243 (2006).
- Y. NAGANO, J. -G. LIU, Y. NARUTA, T. IKOMA, S. TERO-KUBOTA and T. KITAGAWA**, “Characterization of the Phenoxy Radical in Model Complexes for the Cu_B Site of Cytochrome *c* Oxidase: Steady-State and Transient Absorption Measurements, UV Resonance Raman Spectroscopy, ESR Spectroscopy, and DFT Calculations for MII-BIAIP,” *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 14560–14570 (2006).

B-4) 招待講演

北川禎三, 「ヘム蛋白質における情報伝達と動的構造」金沢大学理学研究科特別講演会, 2006年2月.

北川禎三, 「ミオグロビンの超高速構造変化、ヘム - 蛋白情報伝達の道筋、及びガスセンサーヘムタンパクの作用機作」山手イブニングセミナー, 岡崎統合バイオサイエンスセンター, 2006年3月.

T. KITAGAWA, “Structure of the Fe_{a3}-Cu_B Binuclear Center of the High Oxidation State (Fe^V Level) Intermediate of Cytochrome *c* Oxidase Revealed by Time-resolved Resonance Raman Spectroscopy,” Satellite Symp. of XIIth Intl. Congr. Quan. Chem., “Material Oriented Quantum Chemistry,” Senri Life Science Center, Osaka (Japan), May 2006.

北川禎三, 「NO センサー蛋白、グアニレートシクラーゼがCO に鋭敏になるときの構造化学」第22回化学反応討論会, 岡崎コンファレンスセンター, 2006年6月.

T. KITAGAWA, “Information Transduction Mechanisms from Heme to Protein in Myoglobin and Gas Sensor Proteins,” Intl. Symp. on “Biochemistry and Molecular Biology of Sensor Enzymes and Proteins,” Inst. Multidisciplinary Res. for Advanced Materials, Sendai (Japan), June 2006.

Y. GAO, S. F. EL-MASHTOLY, B. PAL, T. HAYASHI, K. HARADA and T. KITAGAWA, “Signal Transfer Mechanisms from Heme to Protein in Myoglobin,” Intl. Conf. Porphyrin and Phtalocyanine, Rome (Italy), July 2006.

T. KITAGAWA, S. F. EL-MASHTOLY, Y. GAO, M. KUBO, T. UCHIDA and S. AONO, “Reaction Mechanism of Gas Sensor Heme Proteins Revealed by UV and Visible Resonance Raman Spectroscopy,” IUPAC Conference, Kyoto (Japan), July 2006.

T. KITAGAWA, “Resonance Raman Investigation of Intramolecular Sinaling Mechanism of Gas Sensor Proteins,” Intl. Conf. Raman Sectrosc., Yokohama (Japan), August 2006.

北川禎三, 「蛋白質の速い構造変化と情報伝達におけるその役割: 時間分解及び紫外共鳴ラマン分光法による研究」さきがけ研究(光と制御)特別講演, 支笏湖, 2006年9月.

T. KITAGAWA, “Structure of Heme in High Activity CO Adduct of Soluble Guanylate Cyclase Revealed by Resonance Raman Spectroscopy,” 3rd AsBIC, Nanjin (China), October 2006.

T. KITAGAWA, “Resonance Raman Study on Structural Mechanism of the Conversion from an NO Sensor to CO Sensor in Soluble Guanylate Cyclase,” East Asian Biophyscis Congress, Naha Conv. Center (Japan), November 2006.

B-6) 受賞、表彰

北川禎三, 日本化学会学術賞 (1988).

小倉尚志, 日本化学会進歩賞 (1993).

水谷泰久, 井上研究奨励賞 (1995).

廣田 俊, 井上研究奨励賞 (1996).

北川禎三, 日本分光学会賞 (1996).

富田 毅, 総研大長倉賞 (1997).

富田 毅, 井上研究奨励賞 (1998).

水谷泰久, 森野研究奨励賞 (2001).

北川禎三, 日本化学会賞 (2002).

平松弘嗣, William F. Meggers Award (2005).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員、委員

IUPAC Associate Members of Commission on Biophysical Chemistry (1996. 1-).

日本分光学会東海支部幹事 (1986.4-1991.3).
日本分光学会評議員 (1987-).
日本化学会東海支部代議員 (1986-1988).
日本化学会東海支部幹事 (1988-1990).
日本化学会化学展9 2 企画委員会副委員長 (1991).
日本化学会賞推薦委員 (1994).
日本化学会学会賞選考委員 (1998), 委員長 (1999).
日本生化学会評議員.
日本化学会東海支部副支部長 (1999).
日本化学会東海支部支部長 (2000).
中部化学連合討論会実行委員長 (2000).
日本化学会東海支部監査役 (2001-2002).
日本化学会理事 (2002-2003).
日本化学会副会長 (2003-2004).

学会の組織委員

Internatinal Conference on Raman Spectroscopy, International Steering Commitee (1988-1994).
International Conference on Time Resolved Vibrational Spectroscopy, International Organizing Commitees (1989-).
11th Internatinal Conferens on Photobiology, Symposium organizer (1992).
Vth Intrl. Conf. on Time-resolved Vibrational Spectroscopy(Tokyo), Local Organizing Committee (1991).
Symposium on Recent Developments in Vibrational Spectroscopy, International Chemical Congress of Pacific Basin Societes (one of organizers).
Co-organization: US-Japan Symposium on “Ligand Binding to Myoglobin and Hemoglobin” Rice University, Houston, March, 1-5 (1997).
Co-organization: US-Japan Symposium on “Proton Coupled Electron Transfer” Kona,Hawaii, Nov. 11-15 (1998).
Co-organization: Symposium in International Chemical Congress of Pacific Basin Societies “Raman Spectroscopy: Coming Age in the New Millennium” Hawaii, Dec 14-18 (2000).
Co-organization: 10th International Conference on Time-resolved Vibrational Spectroscopy, Okazaki, May 21-25 (2001).
Organizer: 2002 IMS COE Conference “Dynamical Structures and Molecular Design of Metalloproteins,” Nov. 18-21 (2002).
Organizer: AsBIC-1 “The First Asian Meeting of Bioinorganic Chemistry,” Okazaki, March 7-10 (2003).
Chairman of International Steering Committee of “Asian Conference on Biological Inorganic Chemistry.”

文部科学省、学術振興会等の役員等

文部省学術審議会科研費分科会理工系小委員会委員 (1997-1998).
日本学術会議化学研究連絡委員会委員 (1997-1999).
文部省学術審議会専門委員会科研費審査委員 (1991-1993, 1995-1998, 2000-).
日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員 (1992-1993, 1994-1995, 1996-1997, 1998-1999, 2000-2001).
日本学術振興会国際科学協力委員会委員 (1998-2000).

日本学術振興会未来開拓事業委員会複合領域専門委員 (1998-2001).
科学技術庁研究開発局評価委員 (1994).
さきがけ研究アドバイザー (生体分子の形と機能 : 2000- , 光と制御 : 2003-).
大学評価 工学部評価専門委員 (2002-2003).
文部科学省21世紀教育・研究COE 選考委員(化学・材料部門)(2002-2004).
日本学術会議第20期会員 (2005-2008).
日本学術振興会理工系科研費審査委員会 (2006).

学会誌編集委員

Journal of Physical Chemistry, Advisory Board (1993-1997).
Chemical Physics, Advisory Board (1993-).
Journal of Molecular Liquids, Editorial Board (1993-).
Asian Journal of Physics, Advisory Board (1991-).
J. Polymer Science, Biospectroscopy, Editorial Board (1993-).
Journal of Raman Spectroscopy, Advisory Board (1995-).
Journal of Biological Inorganic Chemistry, Advisory Board (1995-1997).
Journal of Biological Inorganic Chemistry, Editorial Board (1999-2002).
Journal of Inorganic Biochemistry, Editorial Board (2001-2004).
Chemistry Letters, 編集委員 (2003-2004).
Bulletin of Chemical Society of Japan, Advisory Board (2005-).

科学研究費の研究代表者、班長等

重点研究「生物無機」班長 (1991-1993).
総合研究(B) 班長 (1994, 1995).
重点研究「生体金属分子科学」領域代表者 (1996-1999).
特定領域研究(A)「未解明鍵物質」班長 (2000-2002).

B-9) 学位授与

GAO, Ying, 「Resonance Raman Investigation of Protein Dynamics Studies on Myoglobin: Information Transmission and Energy Funneling Mechanisms」 2006年9月, 博士(理学)
LI, Jiang, 「Resonance Raman Studies on Reaction Mechanism of Photolyases: Structural Characteristics of the Active Site and Photo-repair Mechanism of UV-damaged DNA」 2006年9月, 博士(理学)
LU, Ming, 「Structural Studies of Amyloid Fibril of β_2 -Microglobulin: Application of IR Micro-spectroscopy」 2006年9月, 博士(理学)

B-10) 外部獲得資金

基盤研究(B), 「振動分光学による生体NO作用機能の解明」北川禎三 (1995年-1996年).
基盤研究(B), 「ナノ秒ジャンプ法を用いた蛋白質高次構造変化の時間振動分光学的研究」北川禎三 (1997年-1999年).
特定領域研究(A), 「生体機能における金属イオンの特異的作用の分子科学」北川禎三 (1996年-1999年).

研究成果公開促進費 第15回大学と科学シンポジウム,「生物と金属」北川禎三(2000年).

特定領域研究(A),「未解明生物現象を司る鍵化学物質」北川禎三(2000年-2002年).

基盤研究(A),「時間分解振動分光法による蛋白質高次構造変化の機能に果す役割」北川禎三(2001年).

基盤研究(S),「時間分解紫外共鳴ラマン法によるセンサー蛋白質の環境感知,情報伝達及び機能発現機能の解明」北川禎三(2002年).

特別推進研究,「蛋白質動的高次構造検出法の開発及びそれを用いた蛋白質構造・機能相関の解明」北川禎三(2002年-2006年).

C) 研究活動の課題と展望

- a) タンパク質高次構造の速いダイナミクスとそのセンサー蛋白質における重要性：時間分解共鳴ラマン分光
- b) 生体 NO の合成及び反応機構：時間分解赤外分光
- c) 蛋白質の分子内情報伝達機構の構造化学：紫外共鳴ラマン分光
- d) チトクロム酸化酵素における電子移動とプロトン輸送とのカップリング機構の解明
- e) 生体における酸素活性化機構：高酸化状態中間体の構造決定
- f) ヘムを含むセンサー蛋白のセンシングと機能実行メカニズム
- g) ナノ秒温度ジャンプ装置の制作とそれを用いた蛋白質フォールディング/アンフォールディングの追跡
- h) タンパク質の高感度顕微赤外分光： β_2 ミクログロブリンを材料とし、アミロイド化による配向フィブリルの偏光赤外測定により、蛋白の2次構造を明らかにすると共にフィブリル化のきっかけをつくるシード効果を調べる。
- i) DNA フォトリアーゼによる DNA 修復機構：大腸菌のフォトリアーゼをクローニングし、その蛋白を大腸菌で作らせて、紫外共鳴ラマンスペクトルを調べる。補酵素結合による蛋白の構造変化, DNA との結合様式, 青色光照射による光修復機構の解明を目指す。

以上のテーマを中心に時間分解振動分光の手法をシャープに生かした研究を進めていきたい。

*) 2006年4月1日豊田理化学研究所フェロー