

分子動力学研究部門

北川 禎 三 (教授)

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

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振動緩和を解明して、反応あるいは機能との関係を明らかにする方向で研究を進めている。扱う物質としては金属タンパク質とそのモデル化合物が主で、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。*The Chemical Records*にそのまとめ論文が採択されている。時間分解紫外共鳴ラマンも同時に調べている。フィトクロムの研究では水谷助手が井上賞を受賞した。1997年には、水谷助手のミオグロビンのヘム冷却過程の研究結果が雑誌*Science*に掲載された。光合成反応中心タンパク等も取り扱っている。これからセンサー蛋白の情報伝達機構の解明に研究を展開する予定である。
- 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。また200 nm付近のレーザー光でラマン散乱を測定できる実験系を製作し、タンパク質高次構造の研究に応用した。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) 生体系における酸素活性化機構： $O_2 \rightarrow H_2O$ を触媒するチトクロム酸化酵素、 $O_2 \rightarrow H_2O + SO$ を触媒するチトクロムP-450、 $H_2O_2 \rightarrow H_2O$ を触媒するペルオキシダーゼ等のヘム環境の特色、その反応中間体である高酸化ヘムの $Fe^{IV}=O$ 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(現東大助教授)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きた廣田君(現名大助手)は井上賞を受賞した。
- 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。ポルフィリンの一重項、三重項励起状態をナノ秒ラマンで調べる一方、金属ポルフィリンダイマーの励起状態 π - π 相互作用をピコ秒ラマンで見つけた。

数ピコ秒で起こる振動エネルギー再分布にモード選択性もみつけている。

- 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を用いたスキャンニング・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。
- 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: キノンの中性形 ,電気還元したアニオン形のラマンスペクトルの溶媒依存性の解明 ,同位体ラベルユビキノンの解析に向かっている。キノンを電子供与体とする呼吸系末端酸化酵素であるチトクロム *bo* についても研究を進めている。
- 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。反応生成物のサイクリックGMPがNOの親和性を制御することを初めて指摘した。この研究を行った院生の富田君は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種類になることがわかった。
- 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。

B-1) 学術論文

T. TOMITA, S. HIROTA, T. OGURA, J. S. OLSON and T. KITAGAWA, “Resonance Raman Investigation of Fe–N–O Structure of Nitrosylheme in Myoglobin and Its Mutants,” *J. Phys. Chem. B* **103**, 7044 (1999).

S. ITOH, M. TAKI, H. KUMEI, S. TAKAYAMA, S. NAGATOMO, T. KITAGAWA, N. SAKURADA, R. ARAKAWA and S. FUKUZUMI, “Model Complexes of the Active Form of Galactose Oxidase. Physicochemical Properties and Reactivity of Cu(II)– and Zn(II)–phenoxy Radical Complexes of the Novel Organic Cofactor,” *Angew. Chem., Intl. Ed. Engl.* **38**, 2775 (1999).

S. ITOH, H. BANDO, S. NAGATOMO, T. KITAGAWA and S. FUKUZUMI, “Aliphatic Hydroxylation by a bis(μ -oxo)dinickel(III) Complex,” *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 8945 (1999).

Y. MIZUTANI, Y. UESUGI and T. KITAGAWA, “Intramolecular Vibrational Energy Redistribution and Intermolecular Energy Transfer in the (d,d) Excited State of Nickel Octaethylporphyrin,” *J. Chem. Phys.* **111**, 8950 (1999).

S. NAKASHIMA, S. TANIGUCHI, T. OKADA, A. OSUKA, Y. MIZUTANI and T. KITAGAWA, “Evidence for π – π Interactions in the S_1 State of Zinc Porphyrin Dimers Revealed by Picosecond Time-Resolved Resonance Raman Spectroscopy,” *J. Phys. Chem. A* **103**, 9184 (1999).

N. SUZUKI, T. HIGUCHI, Y. URANO, K. KIKUCHI, H. UEKUSA, Y. OHASHI, T. UCHIDA, T. KITAGAWA and T. NAGANO, “Novel Iron Porphyrin-Alkanethiolate Complex with Intramolecular NH...S Hydrogen Bond: Synthesis, Spectroscopy, and Reactivity,” *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 11571 (1999).

M. SUGA, J. OKU, H. MASUDA, M. TAKAKI, M. MUKAI and T. KITAGAWA, “Mechanism of the Anionic Cyclopolymerization of Bis(dimethylvinylsilyl)methane,” *Macromolecules* **32**, 1362 (1999).

A. WADA, S. OGO, Y. WATANABE, M. MUKAI, T. KITAGAWA, K. JITSUKAWA, H. MASUDA and H. EINAGA, “Synthesis and Characterization of Novel Alkylperoxy Mononuclear Iron(III) Complexes with a Tripodal Pyridylamine Ligand: A Model for Peroxo Intermediates in Reactions Catalyzed by Non-Heme Iron Enzymes,” *Inorg. Chem.* **38**, 3592 (1999).

- Y. UESUGI, Y. MIZUTANI, S. G. KRUGLIK, A. G. SHVEDKO, V. A. ORLOVICH and T. KITAGAWA**, “Characterization of Stimulated Raman Scattering of Hydrogen and Methane Gases as a Light Source of Picosecond Time-Resolved Raman Spectroscopy,” *J. Raman Spectrosc.* **31**, 339 (2000).
- H. HAYASHI, S. FUJINAMI, S. NAGATOMO, S. OGO, M. SUZUKI, A. UEHARA, Y. WATANABE and T. KITAGAWA**, “A Bis(μ -oxo)dicopper(III) Complex with Aromatic Nitrogen Donors: Structural Characterization and Reversible Conversion between Copper (I) and Bis(μ -oxo)dicopper(III) Species,” *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 2124 (2000).
- N. OKISHIO, R. FUKUDA, M. NAGAI, S. NAGATOMO and T. KITAGAWA**, “Interactions of Phosphatidylinositol 3-kinase SH3 Domain with Its Ligand Peptide Studied by Absorption, Circular Dichroism, and UV Resonance Raman,” *Biopolymers (Biospectroscopy)* **57**, 208 (2000).
- K. YAMAMOTO, Y. MIZUTANI and T. KITAGAWA**, “Nanosecond Temperature Jump and Time-Resolved Raman Study of Thermal Unfolding of Ribonuclease A,” *Biophys. J.* **79**, 485 (2000).
- T. UCHIDA, T. MOGI and T. KITAGAWA**, “Resonance Raman Studies of Oxo Intermediates in the Reaction of Pulsed Cytochrome *bo* with Hydrogen Peroxide,” *Biochemistry* **39**, 6669 (2000).
- T. OGIHARA, S. HIKICHI, M. AKITA, T. UCHIDA, T. KITAGAWA and Y. MOROOKA**, “An Approach to the O₂ Activating Mononuclear Non-Heme Fe Enzymes: Structural Characterization of Fe(II)-Acetato Complex and Formation of Alkylperoxoiron(III) Species with the Highly Hindered Hydrotris(3-tert-butyl-5-isopropyl-1-pyrazolyl)borate,” *Inorg. Chim. Acta* **297**, 162 (2000).
- T. KITAGAWA and Y. MIZUTANI**, “Ultrafast Dynamics of Hemeproteins,” in “Ultrafast Chemical Dynamics” (in Japanese) *KIKAN KAGAKU SOSETSU* **44**, 162-175 (2000).
- T. KITAGAWA**, “Progress Report on Molecular Biometallics(1996-2000), A Project of the Priority Areas for Research under the Auspices of the Japanese Government,” *JBIC* **5**, 410-415 (2000).

B-4) 招待講演

- T. KITAGAWA**, “Structures of reaction intermediates of terminal oxidases: Comparison between bovine cytochrome *c* oxidase and *E. coli* cytochrome *bo*,” Wenner-Gren Foundations International Symposium on “Energy Transduction in Terminal Oxidases and Related Systems,” Stockholm (Sweden), May 2000.
- T. KITAGAWA**, “Resonance Raman spectroscopy of haem-copper oxidases,” The 18th Sigrid Juselius International Symposium “Currents of Life,” Espoo (Finland), June 2000.
- T. KITAGAWA** “A third generation system for UV Raman measurements of giant proteins and its application to cytochrome *c* oxidase,” XVIIth Intl. Conf. Raman Spectrosc. I-11, Beijing (China), August 2000.
- T. KITAGAWA**, “Resonance Raman Studies on Heme Structures of Reaction Intermediates of Terminal Oxidases,” Intl. Conf. On “Laser Application to Life Science,” Tokyo (Japan), August 2000.
- T. KITAGAWA**, “Structures of reaction intermediates of bovine cytochrome *c* oxidase probed by time-resolved vibrational spectroscopy,” The IIIrd Intl. Conf. on Oxygen and Life, Kyoto (Japan), November 2000.
- T. KITAGAWA and Y. Mizutani**, “Vibrational relaxation of metalloporphyrins in solutions,” Pacificchem2000, PHYS.161, Honolulu, (U. S. A.), December 2000.

T. KITAGAWA, M. AKI, and T. OGURA, "New instrumentation for UV resonance Raman spectroscopy of giant proteins and its successful applications," Pacificchem2000, ANYL.294, Honolulu (U. S. A.), December 2000.

北川禎三,「ヘムタンパク質および金属ポルフィリン溶液の振動緩和」,第23回溶液化学シンポジウム,岡崎,2000年11月.

北川禎三,「私たちの生活と金属イオン」,第15回「大学と科学」公開シンポジウム「生物と金属」(主催者および講演)東京,2000年10月.

北川禎三,「可溶性グアニレートシクラーゼ」,豊田理研シンポジウム,岡崎,2000年11月.

北川禎三,「これからの生物無機化学」,生物無機化学若手夏の学校,箕面市,2000年7月.

北川禎三,第3回岡崎機構セミナー,「生体NOの化学と生理機能」,企画,岡崎,2000年2月.

水谷泰久,「共鳴ラマン分光・振動緩和・ヘムタンパク質」,分子研研究会「凝縮相ダイナミクス研究の現状と将来」,分子科学研究所,2000年5月.

水谷泰久,「媒質としてのタンパク質の動き - ミオグロビンを例にあげて - 」,分子研研究会タンパク質の振動分光」,分子科学研究所,2000年6月.

水谷泰久,“Ultrafast Protein Dynamics of Myoglobin Induced by Ligand Photodissociation at the Metal Site: Rolling on a Rugged Potential Surface,” 第12回名古屋コンファレンス「タンパク質フォールディングの諸問題」,岡崎,2000年10月.

水谷泰久,「タンパク質の動きについて最近考えていること」,研究会「複雑な多谷ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題 力学的決定性と統計性の中間領域を探る 第1回」,奈良,2000年11月.

B-5) 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).

富田毅,総研大長倉賞(1997).

富田毅,井上研究奨励賞(1998).

B-6) 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(1986.4-91.3).

日本分光学会評議員(1987-).

日本化学会東海支部代議員(1986-88).

日本化学会東海支部幹事(1988-90).

日本化学会化学展92 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(99).

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).

学会の組織委員

International Conference on Raman Spectroscopy, International Steering Committee (1988-94).

International Conference on Time Resolved Vibrational Spectroscopy, International Organizing Committees (1989-).

11th International Conference on Photobiology, Symposium organizer (1992).

Vth Intr1. Conf. on Time-resolved Vibrational Spectroscopy (Tokyo), Local Organizing Committee (1991).

Symposium on Recent Developments in Vibrational Spectroscopy, International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (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).

文部省・学振等の委員会

文部省学術審議会科研費分科会理工系小委員会委員(1997-98).

日本学術会議化学研究連絡委員会委員(1997-99).

文部省学術審議会専門委員会科研費審査委員(1991-93, 95-).

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員(1992-93, 94-95, 96-97, 98-99, 2000-).

日本学術振興会国際科学協力委員会委員(1998-).

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-).

科学技術庁研究開発局評価委員(1994).

学術雑誌編集委員

Journal of Physical Chemistry, Advisory Board (1993-97).

Chemical Physics, Advisory Board (1993-).

Journal of Molecular Liquids, Editorial Board (1993-).

Asian Journal of Physics, Advisory Board (1991-).

Biospectroscopy, Editorial Board (1993-).

Journal of Raman Spectroscopy, Advisory Board (1995-).

Journal of Biological Inorganic Chemistry, Advisory Board (1995-).

Journal of Inorganic Biochemistry, Editorial Board (1999-).

科研費の班長 研究代表者等

重点研究「生物無機」班長(1991-93).

総合研究(B)班長(1994, 95).

重点研究「生体金属分子科学」領域代表者(1996-99).

B-7) 他大学での講義

北川禎三、神戸大学理学部化学専攻、集中講義、2000年7月.

C) 研究活動の課題と展望

- a) タンパク質の速いダイナミクスとそれに対するアミノ酸置換の効果: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) 光合成反応中心タンパク質のキノンBにおける電子移動/プロトン輸送のカップリング: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
 - f) 金属ポルフィリン電子励起状態における振動緩和:ピコ秒時間分解共鳴ラマン分光
 - g) ナノ秒温度ジャンプ装置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
- 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行きたい。
- h) タンパク質の高感度赤外分光