

北 川 禎 三 (教授)(分子動力学研究部門兼務)

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 第 1 巻にそのまとめ論文が掲載されている。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(現神戸大助教授)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。水谷博士はその一連の研究が評価されて森野研究奨励賞を受賞した。光合成反応中心タンパク等も取り扱っている。これからは、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。その研究成果が「分子細胞生物学」第4版(H. Lodishら著、野田春彦ら訳、東京化学同人)のような教科書に掲載されるにいたっている。また総研大生でこの仕事をしていた廣田君(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 $\pi-\pi$ 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、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。
- 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（現東北大助手）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。昆虫細胞を用いて本酵素を大量発現させ、その共鳴ラマンスペクトルを調べる方向に研究を展開中。
- 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。高速ミキシングセルを用い、アポミオグロビンのマイクロ秒域のフォルディング中間体を紫外共鳴ラマンで検出する事に初めて成功した。

B-1) 学術論文

Y. KIM, K. SHINZAWA-ITOH, S. YOSHIKAWA and T. KITAGAWA, "Presence of the heme-oxo intermediate in oxygenation of carbon monoxide by cytochrome c oxidase revealed by resonance Raman spectroscopy," *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 757 (2001).

N. HARUTA, M. AKI, S. OZAKI, Y. WATANABE and T. KITAGAWA, "Protein conformation change of myoglobin upon ligand binding probed by ultraviolet resonance Raman spectroscopy," *Biochemistry* **40**, 6956 (2001).

T. EGAWA, D. A. PROSHLYAKOV, H. MIKI, R. MAKINO, T. OGURA, T. KITAGAWA and Y. ISHIMURA, "Effects of a thiolate axial ligand on the $\pi\pi^*$ electronic states of oxoferryl porphyrins: a study of the optical and resonance Raman spectra of compounds I and II of chloroperoxidase," *J. Biol. Inorg. Chem.* **6**, 46 (2001).

Y. MIZUTANI and T. KITAGAWA, "Ultrafast structural relaxation of myoglobin following photodissociation of carbon monoxide probed by time-resolved resonance Raman spectroscopy," *J. Phys. Chem.* **105**, 10992 (2001).

S. ITOH, H. KUMEI, M. TAKI, S. NAGATOMO, T. KITAGAWA and S. FUKUZUMI, "Oxygenation of phenols to catechols by a $(\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo})\text{dicopper(II)}$ complex. Mechanistic insight into the phenolase activity of tyrosinase," *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 6708 (2001).

T. TOMITA, S. OGO, T. EGAWA, N. OKAMOTO, Y. IMAI, Y. WATANABE, Y. ISHIMURA and T. KITAGAWA, "Elucidation of the differences between the 430 and 455-nm absorbing forms of P450-isocyanide adducts by resonance Raman spectroscopy," *J. Biol. Chem.* **276**, 36261 (2001).

- T. TOMITA, N. HARUTA, M. AKI, T. KITAGAWA and M. IKEDA-SAITO**, “UV resonance Raman detection of a ligand vibration on ferric nitrosyl heme proteins,” *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 2666 (2001).
- S. G. KRUGLIK, P. MOJZES, Y. MIZUTANI, T. KITAGAWA and P-Y. TURPIN**, “Time-resolved resonance Raman study of the exciplex formed between excited Cu-porphyrin and DNA,” *J. Phys. Chem.* **105**, 5018 (2001).
- H. OHTSU, S. ITOH, S. NAGATOMO, T. KITAGAWA, S. OGO, Y. WATANABE and S. FUKUZUMI**, “Characterization of imidazolate-bridged dinuclear and mononuclear hydroperoxo complexes,” *Inorg. Chem.* **40**, 3200 (2001).
- N. OKISHIO, T. TANAKA, M. NAGAI, R. FUKUDA, S. NAGATOMO and T. KITAGAWA**, “Identification of tyrosine residues involved in ligand recognition by the phosphatidylinositol 3-kinase Src homology 3 domain: Circular dichroism and UV resonance Raman studies,” *Biochemistry* **40**, 15797 (2001).
- S. ITOH, H. BANDO, M. NAKAGAWA, S. NAGATOMO, T. KITAGAWA, K. D. KARLIN and S. FUKUZUMI**, “Formation, characterization, and reactivity of bis(m-oxo)dinickel(III) complexes supported by a series of bis[2-(2-pyridyl)ethyl]-amine ligands,” *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 11168 (2001).

B-4) 招待講演

- T. KITAGAWA**, “Infrared Study on Protonmotive Heme-Copper Oxidases,” IUBMB Workshop on Protonmotive Heme-Copper Oxidases, Bari (Italy), March 2001.
- T. KITAGAWA**, “Time-resolved Resonance Raman Study of Reaction Mechanism of Cytochrome c Oxidase,” Japan-Czech Joint Seminar, Okazaki, March 2001.
- T. KITAGAWA**, “Resonance Raman Characterization of a Model Compound of Tyrosine-244 of Bovine Cytochrome c Oxidase,” Et:pcet:HAT:pt: 40 Years of Tunneling in Biology, Philadelphia, May 2001.
- T. KITAGAWA and Y. Mizutani**, (plenary) “Vibrational and Structural Relaxation of Photodissociated Carbonmonoxy Myoglobin,” 10th Intl. Conf. Time-resolved Vibrational Spectroscopy, Okazaki, May 2001.
- T. KITAGAWA**, “Resonance Raman Characterization of Oxygen Intermediate of Cytochrome *bo*: A Possibility of Tyrosine Radical Formation in the P intermediate,” Intl. Conf. Physical Approaches to Biochemical Problems, East Lansing, Michigan (U. S. A.), May 2001.
- T. KITAGAWA**, “Myoglobin: Structural Change upon Ligand Binding, Folding Mechanism, and Ultrafast Dynamics upon CO Photodissociation,” Telluride Academy Summer Research Seminar on Protein Dynamics, Telluride (U. S. A.), August 2001.
- T. KITAGAWA**, “Resonance Raman Evidence for the Presence of Distorted P Intermediate in the Catalytic Cycle of Bovine Cytochrome c Oxidase,” 10th Intern. Conf. Inorganic Biochemistry, Firenze (Italy), August 2001.
- T. KITAGAWA**, (plenary) “Time-resolved Resonance Raman Study on Ultrafast Structural Relaxation and Vibrational Cooling of Photodissociated Carbonmonoxy Myoglobin,” 9th European Conf. Spectroscopy of Biological Molecules, Prague (Czech), September 2001.
- 北川 禎三, 「振動分光法で見る小分子センサー蛋白質の科学」, 第4回岡崎機構セミナー「統合バイオサイエンス」, 岡崎, 2001年2月.
- 北川 禎三, 「チトクロム酸化酵素の反応機構と残された問題点」, 東北大学多元科学研究講演, 仙台, 2001年12月.

水谷泰久, “Vibrational Energy Redistribution in Peripheral Groups of Metalloporphyrins Probed by Picosecond Time-resolved Resonance Raman Spectroscopy,” The Tenth International Conference on Time-resolved Vibrational Spectroscopy, 岡崎, 2001年5月.

水谷泰久, 「溶液とタンパク質: 共通の視点からダイナミクスを眺める」, 分子研研究会「分子科学から見た21世紀の溶液化学」, 分子科学研究所, 2001年5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).

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).

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(1986.4-1991.3).

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(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).

学会の組織委員

International Conference on Raman Spectroscopy, International Steering Committee (1988-1994).

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

11th International Conferens 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).

Co-organization: 10th International Conference on Time-resolved Vibrational Spectroscopy, Okazaki, May 21-25 (2001).

文部科学省、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(1997-1998).

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-).

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).

さきがけ研究専門員(2000-).

学術雑誌編集委員

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-).

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-).

Journal of Inorganic Biochemistry, Editorial Board (2001-).

科研費の班長、研究代表者等

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 Ⅱ「未解明鍵物質」班長(2000-2001).

B-7) 他大学での講義

北川禎三, 京都大学理学研究科化学専攻, 集中講義, 2001年6月.

北川禎三, 名古屋大学工学部, 一般教養, 2001年11月.

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) 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) 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
- 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