

「医療に向けた自己組織化等の分子配列制御による機能性材料・システムの創製」
平成 14 年度採択研究代表者

富永 圭介

(神戸大学分子フォトサイエンス研究センター 教授)

「ナノスケールにおける反応制御の基本原理の構築」

1. 研究実施の概要

本研究では、先端的な分子分光法を開発・製作し、自己組織化された系における反応の高効率性、方向性等を多点における分子間相互作用と動的な揺らぎという観点から解明することを目的とする。研究対象としては、1) 分子会合体や集合体、および水素結合性液体などの会合性液体、及び2) 膜貫通型タンパク質を含むタンパク質を選び、分子間相互作用や揺らぎなどの観点から種々の緩和過程、反応ダイナミクスを調べる。これらの系のサイズは、サブナノから数ナノメートルであり、その意味で、我々は「サブナノから数ナノメートルにおけるサイエンス」の構築を目指すことができる。平成 17 年度までで製作すべき装置類はほぼ完成しており、平成 18 年度には性能向上を図るなどの改良を加え、それらの装置を用いた測定とその解析・解釈に重点を置いた。

平成 17 年 11 月に行われた中間評価会でのコメントを基本として、平成 18 年度以降の研究計画を立案した。すなわち、1. 研究代表者の研究に予算を集中させること、そのためにチームの再編成を行うこと、2. 「自己組織化」というキーワードと「水と生体分子」というキーワードを有機的に連携させて今後の研究を進めること、である。今までアドバイザー的に参加していた斉藤真司研究分担者（分子研）が新たに研究グループを作り、グループ代表者としての研究を開始した。

2. 研究実施内容

富永グループ

研究項目: 新規な時間分解赤外分光法による状態相関と反応の特異性

1. 可視ポンプ赤外プローブ分光法の開発とバクテリオロドプシン光反応初期過程の解明

導入した赤外領域のマルチチャンネル検出器による測定手法を完成し、測定実験を軌道にのせた。これによりプローブ光を用いた過渡赤外スペクトルの測定の測定時間の大幅な短縮、高い S/N 比の達成を実現し、微小信号のスペクトルの高精度測定が可能となった。本年度は今まで使用してきたフィルム状の試料ではなく、溶液状態の試料をその測定対象として研究を開始した。その一つとして、バクテリオロドプシンの類縁タンパク質である

ハロロドプシンの Cl を N_3 に置換し、 N_3 の非対称伸縮振動をプローブとした分光実験を提案した。FTIR 分光器を用いて N_3 の検出を試みたところ、タンパク質の凝集のために、濃度を高くすることができず、観測を行うことができなかった。ハロロドプシンが水溶性タンパク質ではなく、膜タンパク質であることが、濃度を高くすることができなかった理由である。今後は溶液中における可視ポンプの測定に取り組んでいく。

2. 赤外非線形分光による水素結合性液体の揺らぎ、ホスト-ゲスト分子の動的相互作用

サブピコ秒のパルス幅を持つ赤外パルスを用いて非線形分光の一つであるポンプ-プローブ分光を用いて水素結合性液体や錯体の振動ダイナミクスを測定を行った。メタノールの水酸基の振動緩和を測定し、水酸基とメチル基を重水素置換し振動緩和に及ぼす重水素効果を調べそれからエネルギー散逸の経路について議論した。 CH_3 基を CD_3 基に置換することにより OH 伸縮振動の振動緩和速度が遅くなることを見出し、これは OH 基の励起エネルギーが分子内の緩和を経て起こっていることを示している。水素結合性錯体として、安息香酸と溶媒の錯体、および安息香酸の二量体の振動緩和について調べた。振動緩和の溶媒依存性では、水素結合が強くなれば振動緩和が速くなるという結果を得て、これをフェルミの黄金則と対応させ議論した。しかし、もっとも水素結合が強くなる二量体の場合、振動緩和はもっとも遅くなった。この結果については、錯体の対称性や錯体と溶媒との相互作用の観点から検討している。安息香酸の二量体で分子間振動によるビートを過渡信号に観測し (図 1)、このビートをフーリエ変換することにより分子間振動のスペクトルを得た。それを励起波長 (水酸基の波長) に対してプロットし、低振動モード (分子間振動) と高振動モード (分子内振動、水酸基の伸縮振動) の相関を示す 2 次元表示を得た。このような低振動モードと高振動モードの相関図を始めて得ることができた。励起波長の増加に伴い分子間振動のピークの波数が減少することを見出した。この現象の解釈については現在検討している。一つの解釈は、OH 伸縮振動が高波数側に行くと分子間の振動が弱くなる (低波数側へシフト) というものであり、もう一つは、分子間振動の非調和性が観測されているというものである。どちらの解釈にせよ、弱い分子間の相互作用に関する詳細は情報が得られている。さらに、フェノールと種々の塩基との錯体についても同様の測定を行い、水素結合が強くなれば振動緩和が速くなるという結果を得ている。フェノールと種々の塩基については振動緩和の速度にプローブ波長依存性がなかったが、これは水素結合性錯体の揺らぎが振動緩和より速いものであるとして解釈した。また、水溶液中におけるグリシンの振動緩和を調べ、水とグリシンの相互作用とエネルギー散逸の関連について調べた。

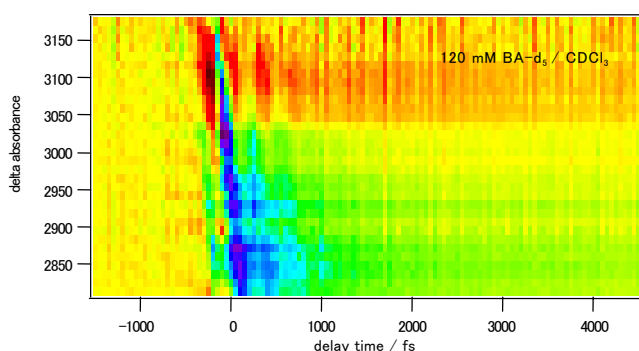


図 1. 四塩化炭素中における安息香酸 - d5 の赤外ポンプ-プローブ信号

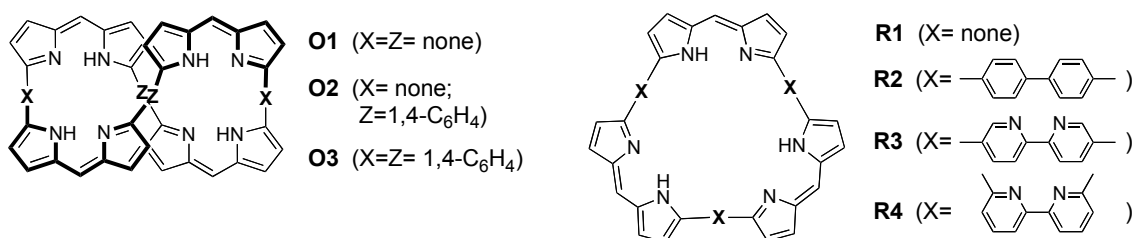
3. テラヘルツ電磁波分光による分子間相互作用と動的揺らぎ

機能を持つ状態でのタンパク質の低振動スペクトルの測定を目指しているが、フィルム状態のバクテリオロドプシンのテラヘルツ分光の実験を行った。均一な試料の作成方法を検討し、グリセロールを少量加え、乾燥窒素雰囲気下でゆっくり乾燥させることにより比較的均一な試料を得ることができた。バクテリオロドプシンの低振動スペクトルは凍結乾燥したシトクロムcなどと異なり、低振動領域での状態密度が周波数の二乗に比例した。これはバクテリオロドプシンの低振動ダイナミクスが結晶中のそれのように振動モード間の非調和性が弱く、調和的に振舞っていることを示している。これは機能に関連していない振動モードを励起しても機能の発現が起こりにくいことを示しており、光駆動のタンパク質に特有の現象であると考えている。熱的に機能を発現するシトクロムcなどとは大きく異なる。また、溶媒と溶質の相互作用の直接観測を目指し、溶液系のテラヘルツスペクトルの解釈を行っており、従来の回転緩和による成分だけでなく、ライブラレーション運動や衝突誘起による成分などを考慮したモデルを提案、構築し、溶媒-溶質系における相互作用の理解を目指している。

4. 大環状化合物の合成と分子認識(担当瀬恒)

拡張ポルフィリンの誘導体を合成し、生体関連物質のバインディングに関する検討を行った。ピロール8個からなるオクタフィリン **O1** は光学活性カルボン酸と強く結合し、8の字状に捩れた π 電子系に基づく不斉構造が誘起されるが、N-アシル置換アミノ酸誘導体との錯体形成は殆ど見られない。**O1** と類似した8の字型の立体構造とより大きな分子内空洞を有する誘導体として、ベンゼン環をスペーサーとして2つ、および4つ導入したオクタフィリン **O2**、**O3** を新規に合成した。**O2**、**O3** 共に N-アシル置換アミノ酸誘導体との錯体形成が観測されたが、**O3** に比べて **O2** が格段に強い誘起CDスペクトルを与えた。**O2** とL体の20種のアミノ酸誘導体の錯体については、780nm付近に現れる1stコットン効果のシグナルがマイナス側に現れた。一方、測定したD体の4種のアミノ酸誘導体による誘起CDではすべてプラス側に1stコットンが現れた。このことはアミノ酸やペプチドとの錯体形成に環サイズの大きなオクタフィリン誘導体が有用であり、それらの不斉構造のプローブとしても利用できることを示唆している。

ピロール6個からなる拡張ポルフィリンであるロザリン **R1** は分子内空洞が小さく、生体関連分子にたいするホスト分子としては不適當であるが、ロザリンに特有のトリゴナルあるいはヘキサゴナルな立体構造を生かして、糖の錯体形成に展開できる可能性がある。大きな分子内空洞を有する誘導体として 4,4'-ビフェニレン基、5,5'-(2,2'-ビピリジル)基、あるいは 6,6'-(2,2'-ビピリジル)基をスペーサーとして3つずつ導入したロザリン誘導体 **R2**、**R3**、**R4** を合成した。これらのロザリン誘導体とベンゼン-1,3,5-トリカルボン酸およびシクロヘキサンポリカルボン酸との錯体形成について検討した。ベンゼン-1,3,5-トリカルボン酸はロザリンの内部空洞に適合した形状を有しており、同程度の酸性度を持つ p-ニトロ安息香酸と比べても、ロザリン誘導体に対して極めて高い錯体形成定数を示すことを見いだした。



5. 機能発現における水とタンパク質の動的相関 (担当: 水谷、佐藤)

(1) ミオグロビンのリガンド脱離に伴うタンパク質構造変化

ミオグロビン (**Mb**) のリガンド脱離に伴う構造変化を、ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光法を用いて調べた。チロシンおよびトリプトファン残基のスペクトル変化を詳細に調べ、各残基の構造変化の速度を求めた。この結果から、ヘムをはさむようにして存在する2本のヘリックスが、ヘムからのリガンド脱離に伴い、一方はサブピコ秒で、もう一方は約2ピコ秒の応答時間をもって変位することが明らかになった。以上の成果は、フルペーパーとしてまとめ現在投稿中である。

(2) ヘモグロビンのリガンド脱離に伴うタンパク質構造変化

ヘモグロビン (**Hb**) のリガンド脱離に伴う構造変化を、ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光法を用いて調べた。ミオグロビンの結果と比較したところ、ピコ秒領域におけるスペクトル変化は非常に小さいことがわかった。リガンド脱離後10ナノ秒においては大きな変化が観測されることから、タンパク質の構造変化の初期過程はミオグロビンに比べ遅い時間帯に存在することが示唆された。

(3) イエロープロテインの発色団異性化に伴うタンパク質構造変化

イエロープロテイン (**PYP**) の発色団異性化に伴う構造変化を、ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光法を用いて調べた。PYP 試料は徳永史生教授 (大阪大学大学院理学研究科) のグループから提供していただいた。パルス光照射によってタンパク質試料の劣化が起きることがわかったので、試料溶液を測定中に循環するシステムを製作した。これを用いると1回の測定に約5mlの試料溶液を流すことができるため、パルス光によって損傷を受けた分

子の蓄積濃度を低く抑えることができる。また、このシステムでは金属ワイヤをガイドとして試料溶液のフィルムを形成する。石英セルを用いないため、スペクトル中に石英によるラマンバンドが含まれず、高い S/N 比のスペクトルが得られるようになった。得られたピコ秒時間分解紫外共鳴ラマンスペクトルから、発色団に水素結合しているチロシン残基が、発色団の異性化による構造変化に対してやや遅れて応答すること、またタンパク質の初期の構造変化は発色団から 12 Å 離れた位置までおよぶ大域的な変化であることが明らかになった。以上の成果は、速報としてまとめ現在投稿中である。

富宅グループ

研究項目：金属イオンを含むクラスター・生体分子の電子状態及び構造の多様性

(1) 生体分子分光解析装置の開発と紫外・赤外分光研究

ポリペプチド、アミノ酸クラスターの構造形成と水和効果の役割を調べるために、新たに温度制御が可能なイオントラップを備えた生体分子分光解析装置の製作と分光測定を進めている。平成 18 年度は装置製作を完了し、温度可変性等の基礎的性能を調べ、実用化を検討した。この結果、室温から 22K 付近まで捕捉イオンの冷却が可能なことを確認した。また、この装置を用いて紫外および赤外波長領域で以下の研究を進めた。

1. 構造が実験的に未知なプロトン化したトリプトファン($\text{Trp} \cdot \text{H}^+$)について、室温と 22 K で紫外光解離分光を行った。また室温での赤外分光を行い構造に関する新しい知見を得た。構造の特定の目的で、現在、赤外多光子解離スペクトルの検討を進めている。
2. ペプチドの構造形成とプロトン電荷の関係を調べるために、 $(\text{Ala}-\text{Trp}) \cdot \text{H}^+$ と $(\text{Trp}-\text{Gly}) \cdot \text{H}^+$ の紫外および赤外光解離スペクトルを検討した。この結果、 $(\text{Ala}-\text{Trp}) \cdot \text{H}^+$ では、プロトン化に伴う紫外スペクトルの大きな変化が見いだされ、インドール環と N 末端のアミノ基の相互作用が大きいことが明らかになった。この系についても、構造の理解をさらに深めるため、赤外分光実験を進めている。

これらの開発と並行して、レーザーアブレーションを用いたポリペプチドイオンの生成源の開発を行い、光電子分光を用いたポリペプチドの構造異性化の研究を進めている。

2. 溶媒和金属イオンクラスターの構造と反応性

溶媒和電子生成と関連して水クラスター内の金属クラスターの安定性を調べるために、ナトリウム二量体を含む水クラスター $[\text{Na}_2^-(\text{H}_2\text{O})_n]$ の光電子分光実験を行うとともに、理論計算による解析を行った。この結果、水分子 3 個以上が付加すると Na_2^- から水への電子の移動が起こるとともに、Na 原子間に水分子が挿入した構造が安定になり、二量体の溶解過程が始まることを明らかにした。

鏝木グループ

研究項目：膜貫通型タンパク質における電子伝達系の構造・機能解析と生理機構

(1) 植物トウモロコシ (*Zea mays*) に由来するチトクロム b_{561} の安定な大量発現系(野生型と His-tag 付き)を酵母 *Pichia pastoris* において構築し、発現したタンパク質の高純度精製方法の確立に成功した。野生型の EPR スペクトル解析した結果、2種類の異なる low-spin 形へムを含むことが確認された。またパルスラジオリシス実験によりモノデヒドロアスコルビン酸を電子受容体とする電子伝達反応を行うことが分かった。DEPC 処理に伴いアスコルビン酸由来の電子伝達阻害を強く受け、その化学修飾部位の MALDI-TOF-MS 解析により、動物チトクロム b_{561} と同様な機構に基づくアスコルビン酸由来の電子伝達反応が働いていることが推定された。

(2) *Zea mays* 由来チトクロム b_{561} 細胞質側に位置しアスコルビン酸との相互作用に関与していると思われる保存性アミノ酸残基(Lys83, Arg72, Tyr71)の部位特異的変異体(K83A, K83E, R72A, Y71A, Y71F)の発現と精製に成功した。これらの変異の導入はへム部位には殆ど影響を及ぼさないが、アスコルビン酸からの電子受容には顕著な遅延、阻害が見られることが分かった。現在、小胞内側でモノデヒドロアスコルビン酸との相互作用に関与していると思われる部位の変異体の作製に取り組んでいる。

(3) Blue-Native PAGE の手法を利用した二次元電気泳動、免疫化学的手法、及び MALDI-TOF-MS を中心としたタンパク質化学解析により、ウシクロマフィン小胞に存在するタンパク質間相互作用の詳細な解析を行い、チトクロム b_{561} のC末端親水性部分が相互作用に重要な役割を果たしていることが推定された。融合タンパク質として大腸菌で発現させたこのC末端部分をリガンドとしたアフィニティクロマトグラフィー法により、相互作用しているタンパク質を分離・同定しようとしている。

(4) 大腸菌大量発現系により得られた膜結合型ヒトチトクロム b_5 の人工リポソーム膜への結合・埋込みの条件を解析した。チトクロム b_5 は他の膜タンパク質とは異なり、細胞質の遊離型リポソームでのタンパク合成終了後にそのC末端の疎水性 TA-ドメインが単独で ER 膜に入り込み、膜貫通することが明らかにされている。今回、リポソーム膜に再構成させたチトクロム b_5 が細胞内 ER 膜に結合しているチトクロム b_5 と同一のトポロジーを持つことを確認した。この場合、自動的なリポソーム膜への結合と引き続くC末端部分の膜貫通移動が起こっていることになる。さらに His-tag 付き膜結合形チトクロム b_5 の大量発現と精製法の確立を試みている。

(5) ミトコンドリア外膜に存在し、細胞質でのモノデヒドロアスコルビン酸ラジカルの還元酵素として機能していると思われる、NADH-チトクロム b_5 還元酵素の機能解析を大腸菌での大量発現・精製・反応速度論の手法を用いて開始した。NADH の結合部位に存在する高度保存性 Pro 残基に注目した部位特異的変異体を発現・精製し、電子伝達機能に与える影響を解析した。その結果3つの連続する Pro 残基が NADH との結合において受け皿的な役割

をしていることがわかった。

松下グループ

研究項目：単一分子分光による酵素タンパク質の構造揺らぎと機能

液体ヘリウム温度における近赤外領域の蛍光励起スペクトル測定を用いた光合成アンテナ複合体の単一分子分光では、二つのテーマについて研究を行った。

膜タンパク質であるアンテナ複合体について、界面活性剤のミセルとなっている場合と脂質二重膜中にある場合との構造の違いについては、アンテナ複合体を一個しか含まない脂質膜断片が最も多くできるように試料の調製条件を最適化し、蛍光励起スペクトルの励起偏光依存性のデータからスペクトルを抽出する過程に特異値解析を用いて曖昧さを可能な限り排除した。ミセルと脂質膜中、それぞれ 70 個以上の複合体を測定し、統計処理に十分な標本数を揃えた。これまで結果が二転三転していたが、最終的にミセル中と脂質膜中とでは構造が異なり、脂質膜中ではより円に近く歪が小さいという結論を得た。光化学的な性質も異なり、脂質膜中の方が約 5 倍光酸化されにくいことを見出した。今後、脂質膜中で複合体が自己会合した系におけるエネルギー移動を調べる予定である(投稿準備中)。

タンパク質に無数に存在する局所安定構造を表すポテンシャル面上の井戸について知るために、一個のタンパク質の熱による自発的な構造変化の温度依存性を調べる実験では、5 K から 30 K の温度範囲において、一個のタンパク質における温度による変化よりも、同じ温度でのタンパク質の個体差の方が大きいことが分かった。このことは、局所安定構造まわりの多次元のポテンシャル井戸の一番低い障壁の高さが井戸によって大いにばらつきがあり、そのばらつきは少なくとも今回測定した温度範囲に対応する 6 倍程度はあることを意味している。今後スペクトルの時間変化からより多くの情報を引き出すため、光を吸収している遷移双極子の配向の同時測定ができるよう、またより長時間の測定で一個のタンパク質についてより広い温度領域での挙動を調べられるよう、装置に手を加える予定である(投稿準備中)。

平成 16 年度に導入したフェムト秒近赤外レーザーを光源とした紫外・可視領域の多光子蛍光顕微分光装置が立ち上がり、液体ヘリウム温度で色素一分子の二光子蛍光スペクトルが測定できるようになった。今後、青色光受容体であると同時に信号伝達物質産生に関わる酵素でもある Photoactivated Adenylate Cyclase (PAC) をとりあげ、補因子として含まれているフラビン色素を使って、四量体を形成しているとされるこのタンパク質の構造と機能を探る。

神取グループ

研究項目：水素結合ネットワークを介した光駆動プロトンポンプの解明

本研究では、バクテリオロドプシンなどのレチナール蛋白質を対象として、水素結合ネットワークを介した光駆動ポンプ機構を赤外分光により解明し、将来的には、水溶液中に

おける情報伝達を活用した機能性材料などのナノソフトマシン創製の設計指針を与えることを目指している。前年度までに、低温偏光赤外分光を光駆動プロトンポンプであるバクテリオロドプシンに適用し、蛋白質内部でのプロトン移動にとって中心的な役割を演じる水分子やレチナルシッフ塩基、アルギニン側鎖などの水素結合変化を明らかにしている。平成18年度については以下の研究成果が得られた。

バクテリオロドプシンなどの古細菌型ロドプシンには、分子ポンプとして光をエネルギーに変換するものと光を情報へと変換するものが存在するが、両者の機能を分けている要因は、アミノ酸配列からも立体構造からもよくわかっていなかった。このような現状において、我々は低温赤外分光法によって水分子の水素結合を実験的に捉えたところ、バクテリオロドプシンなどのプロトンポンプ蛋白質には必ず強い水素結合を形成した水分子が存在することがわかった。この法則の発見は、古細菌のロドプシンだけでなく、新たに真正細菌や真核生物から発見された古細菌型ロドプシン、さらには機能を転換したバクテリオロドプシンやハロロドプシンについてもあてはまっていた。選択的で効率のよい反応機構を行う複雑な生体系において、機能を決定する構造要因はわずか1個の水分子である可能性が明らかになったのである。

齊藤グループ

研究項目：分子動力学計算による水の多様性と非線形分光の理論および生体高分子系の構造変化と機能発現

水の集団的な運動や揺らぎを解析する手法の確立をめざし、非平衡分子動力学法に基づく水の2次元赤外分光法の解析を行った。図1に室温状態の水の2次元赤外分光法の 'population time' t_2 依存性を示す。水の平衡運動に由来する2次元赤外分光応答

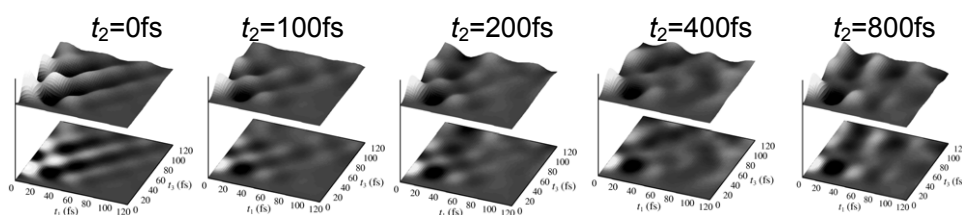


図1. 水の2次元赤外分光法の population time (t_2)依存性

の最大値が $(t_1, t_3) = (0\text{fs}, \sim 28\text{fs})$ に見られる。このピーク強度は、 $t_2 < 20\text{fs}$ の非常に速い減衰振動の後に遅い過減衰が起こり、 100fs 程度でほぼ一定値に達するもので、振動基底および励起状態における平衡運動と並進運動による双極子モーメントの大きさの高速な減衰に由来するものである分かった。また、 $t_2 = 0\text{fs}$ の対角線 ($t_1 \sim t_3$) 上には、 $t = 0$ と t_1 のパルスにより誘起される運動と $t = t_1 + t_2$ と $t_1 + t_2 + t_3$ のパルスにより誘起される運動のコヒーレンスによる明確なシグナルが見られる。一方 $t_2 > 800\text{fs}$ では、対角的なシグナルは非常に弱く t_1, t_3 軸に並行なシグナルへと変化しており、2つの時間の運動のコヒーレンスの消失を示している。この時間スケールは水素結合ネットワークの組み替えが起きる程度のものであ

り、水素結合ネットワークの組み替えにより、異なる時間の分子間運動のコヒーレンスが消失していく様相が、今回の計算により明らかになった。

生体系における反応機構の解明として、細胞増殖に関わる Ras における GTP 加水分解反応での構造の揺らぎおよび水素結合ネットワーク構造の影響について分子動力学計算を用いた解析を行った。活性型、不活性型、GAP 結合型の各状態での主鎖二面角の解析を行った。加水分解反応の前駆体である GAP 結合型では、Ras の全体的な揺らぎ、特に加水分解反応を妨げる揺らぎが抑制されており、揺らぎと反応の関わりが明らかになってきた。また、不活性型と活性型および GAP 結合型との間で、スイッチ II の領域の揺らぎに顕著な違いが見られた。これらの結果は、GTP/GDP または GAP との配位の状態が加水分解反応段階で大きく変化することに対応している。また、GTP/GDP 周辺の水素結合ネットワークの様相を解析した。これまでに構造解析が行われた GDP と AlF_3 を用いた GAP 結合型は加水分解の TS 状態に近いと考えられてきたが、今回の GTP を用いた GAP 結合型の構造からは別の TS 状態を通ることが示唆される結果が得られた。現在、電子状態計算 (QM/MM 法) を用い、加水分解反応がどのような反応経路を通り進行するのか、また加水分解反応後どのように P_i が解離するのかなど反応機構の解明を進めている。

生体系における反応機構の解明として、モデルイオンチャネルのイオン透過機構の解析、photoactive yellow protein (PYP) の光異性化後の構造変化の解析を行い、ともに J. Phys. Chem. B に発表した。

3. 研究実施体制

富永グループ

①研究者名

富永 圭介(神戸大学 教授)

②研究項目

- ・新規な時間分解赤外分光法による状態相関と反応の特異性

富宅グループ

①研究者名

富宅 喜代一(神戸大学 教授)

②研究項目

- ・金属イオンを含むクラスター・生体分子の電子状態及び構造の多様性

鰐木グループ

①研究者名

鰐木 基成(神戸大学 教授)

②研究項目

- ・膜貫通型タンパク質における電子伝達系の構造・機能解析と生理機構

神取グループ

①研究者名

神取 秀樹(名古屋工業大学 教授)

②研究項目

- ・水素結合ネットワークを介した光駆動プロトンポンプの解明

松下グループ

①研究者名

松下 道雄(東京工業大学 助教授)

②研究項目

- ・単一分子分光による酵素タンパク質の構造揺らぎと機能

斉藤グループ

①研究者名

斉藤 真司(分子科学研究所 教授)

②研究項目

- ・分子動力学計算による水の多様性と非線形分光の理論および生体高分子系の構造変化と機能発現

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- Jun-ichiro Setsune*, Aya Tanabe, Junko Watanabe, and Satoshi Maeda, "Synthesis of Bis(azafulvene)s by Dehydration of Hydroxymethylpyrrole Derivatives", *Org. Biomol. Chem.*, 2006, **4**, 2247-2252.
- Minoru Kubo, Sayaka Inagaki, Takeshi Uchida, Yasuhisa Mizutani, Shigetoshi Aono, and Teizo Kitagawa, "Evidence for Displacements of C-Helix by CO Ligation and DNA Binding to CooA Revealed by UV Resonance Raman Spectroscopy", *J. Biol. Chem.*, **281**, 11271-11278 (2006).
- Y. Furutani, D. Ikeda, M. Shibata and H. Kandori, "Strongly Hydrogen-Bonded Water Molecule is Observed only in the Alkaline Form of Proteorhodopsin", *Chem. Phys.* **324**, 705-708 (2006).
- V. A. Lorenz-Fonfria and H. Kandori, "Transformation of Time-Resolved Spectra to Lifetime-Resolved Spectra by Maximum Entropy Inversion of the Laplace Transform." *Appl. Spectrosc.* **60**, 407-416 (2006).
- N. Muneda, M. Shibata, M. Demura and H. Kandori, "Internal Water Molecules of the Proton-Pumping Halorhodopsin in the Presence of Azide" *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 6294-6295

(2006).

- P. Sen, S. Ghosh, S. Kumar Mondal, K. Sahu, D. Roy, K. Bhattacharyya, and K. Tominaga, “A Femtosecond Study of Excitation Wavelength Dependence of Solvation Dynamics in a Vesicle”, *Chem. Asian. J.* **1**, No. 2, 188 – 194 (2006).
- J. M. Lintuluoto, K. Nakayama, and J. Setsune, “Direct determination of absolute configuration of carboxylic acids by cyclooctapyrrole”, *Chem. Commun.*, 2006, 3492-3494.
- M. Shibata, K. Ihara and H. Kandori, “Hydrogen-bonding interaction of the protonated Schiff base with halides in a chloride-pumping bacteriorhodopsin mutant”, *Biochemistry* **45**, 10633-10640 (2006).
- N. Mizuide, M. Shibata, N. Friedman, M. Sheves, M. Belenky, J. Herzfeld and H. Kandori, “Structural changes in bacteriorhodopsin following retinal photoisomerization from the 13-cis form”, *Biochemistry* **45**, 10674-10681 (2006).
- S. Saito and I. Ohmine, 'Fifth-order two-dimensional Raman spectroscopy of liquid water, crystalline Ice Ih and amorphous ices: Sensitivity to anharmonic dynamics and local hydrogen bond network structure,' *J. Chem. Phys.* **125**, 084506 (2006).
- Ying Gao, Mai Koyama, Samir F. El-Mashtoly, Takashi Hayashi, Katsuyoshi Harada, Yasuhisa Mizutani, Teizo Kitagawa, “Time-resolved Raman evidence for energy ‘funneling’ through propionate side chains in heme ‘cooling’ upon photolysis of carbonmonoxy myoglobin”, *Chemical Physics Letters* **429** (2006) 239–243.
- K. Ohta and K. Tominaga, “Vibrational Population Relaxation of Thiocyanate Ion in Polar Solvents Studied by Ultrafast Infrared Spectroscopy”, *Chem. Phys. Lett.* **429**, No. 1-3, 136-140 (2006).
- J. Setsune, M. Toda, K. Watanabe, P. K. Panda, and T. Yoshida, “Synthesis of bis(pyrrol-2-yl)arenes by Pd-catalyzed cross coupling”, *Tetrahedron Lett.*, **47**, 7541-7544 (2006).
- K. Zikihara, T. Iwata, D. Matsuoka, H. Kandori, Takeshi Todo, and Satoru Tokutomi, “Photoreaction Cycle of the Light, Oxygen, and Voltage Domain in FKF1 Determined by Low-Temperature Absorption Spectroscopy”, *Biochemistry*, **45**, 10828-10837 (2006)
- M. Shibata, Y. Saito, M. Demura and H. Kandori, “Deprotonation of Glu234 during the photocycle of *Natronomonas pharaonis* halorhodopsin”, *Chem. Phys. Lett.*, **432**, 545-547 (2006).
- T. Iwata, D. Nozaki, Y. Sato, K. Sato, Y. Nishina, K. Shiga, S. Tokutomi and H. Kandori, “Identification of the C=O Stretching Vibrations of FMN and Peptide Backbone by ¹³C-Labeling of the LOV2 domain of *Adiantum* Phytochrome3”, *Biochemistry*, **45**, 15384-15391 (2006).
- T. Sumikama, S. Saito, and I. Ohmine, “Mechanism of ion permeation in model channel; Free energy surface and dynamics of K⁺ ion transport in anion-doped carbon nanotube”, *J. Phys.*

Chem. B, **110**, 20671-20677 (2006).

- Mai Koyama, Saburo Neya and Yasuhisa Mizutani, "Role of heme propionates of myoglobin in vibrational energy relaxation", *Chem. Phys. Lett.*, **430**, 404-408 (2006).
- J. Setsune, M. Mori, T. Okawa, S. Maeda, and J. M. Lintuluoto, "Synthesis and structures of Co(II) complexes of meso-tetraphenyloctaphyrin-(1.0.1.0.1.0.1.0)s", *J. Organometal. Chem.* **692**, 166-174, 2007.
- M. Mori, J. Setsune, "Regioselective metallation of Octaphyrin(1.0.1.0.1.0.1.0) with Mixed Bipyrrrole Units", *Chem. Lett.* **36**, 244-245, 2007.
- J. Setsune, A. Tsukajima, and J. Watanabe, "Synthesis and Chiroptical Property of C₂-Symmetric Cyclohexapyrrole", *Tetrahedron Lett.* **48**, 1531-1534, 2007.
- M. Kamiya, S. Saito, and Ohmine, "Proton Transfer and Associated Molecular Rearrangements in Photocycle of Photoactive Yellow Protein; Role of Water Molecular Migration on Proton Transfer Reaction", *J. Phys. Chem. B*, **111**, 2948-2956 (2007).