

戦略的創造研究推進事業
ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ

研究領域「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」

研究課題「ナノスケールにおける反応制御の基本
原理の構築」

研究終了報告書

研究期間 平成14年11月～平成20年3月

研究代表者：富永圭介

(神戸大学自然科学系先端融合研究環分子フォトサイエンス研究センター、教授)

1 研究実施の概要

自己組織化された系では、水素結合や電荷移動相互作用等の分子間力、すなわちその大きさが熱エネルギー程度の弱い相互作用により分子や高分子が結合・会合している。そのような系では、特徴的な構造を形成するという“かたさ”と、その構造を熱揺らぎなどに由来して変化させるという“やわらかさ”を持ち合わせている。タンパク質などの生体高分子では、このかたさとやわらかさの微妙なバランスを巧みに活用することにより、ランダムな熱的揺らぎを源として、ある一方向の反応を効率良く実現している。本研究では、自己組織化された系における反応の高効率性、選択性、方向性等を、先端的な分子分光法を開発・製作することにより、多点における弱い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。

本研究では、大きく分けて以下の2つの観点から研究を進める。一つは、生体高分子において、空間的・時間的に隔絶した部位や状態に確実に情報を伝達するためには、複数の状態間の相関が必要であり、それを実験的に如何にして検出するかということである。この状態相関という概念は、生体高分子だけでなく、水素結合性錯体などの分子会合体においても自己組織化の機構を理解するうえで、きわめて重要である。例えば、アロステリック効果は相互作用の伝達ということができ、このような現象の分子論的な解明は生体高分子における情報伝達の理解の基礎となりうる。もう一つは、動的な揺らぎの検出である。特に、凝縮相における多くの揺らぎの中で「反応に重要な揺らぎは何か」という問いに実験的に答えることである。そのため、研究対象としては、1) 膜貫通型タンパク質を含むタンパク質、及び2) 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等を選び、分子間相互作用や揺らぎ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」の構築を目指すということができる。

本研究において、開発した分子分光法としては、赤外非線形分光(3-パルスフォトンエコー法)、波数分解可視ポンプ-赤外プローブ分光、波数分解赤外ポンプ-プローブ分光、時間領域テラヘルツ分光、気相中の生体分子の構造を解析する生体分子分光解析装置、単一分子分光、紫外共鳴ピコ秒時間分解ラマン分光などである。これらの手法を分子会合体や会合性液体における動的揺らぎや相互作用、また化学反応ダイナミクス、さらにタンパク質などの高次構造揺らぎや機能発現等に応用した。その結果、水素結合性液体の揺らぎの解明や、水素結合性錯体の水素結合における状態相関の観測、テラヘルツ電磁波による生体高分子の構造揺らぎの検出、タンパク質の残基レベルでのダイナミクスの解明、プロトンポンプタンパク質のポンプ機能の解明など、分子間相互作用、揺らぎ、生体高分子の反応、機能発現に関する分子レベルの研究を行った。また、アロステリック効果の機能を持つ分子の合成に成功したことも特筆すべきことである。

以下、各グループの概要を述べる。

《富永グループ》

本研究では、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、フェムト秒レーザーを用いた先端的な分子分光法を開発し、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。赤外非線形分光(3-パルスフォトンエコー法)、波数分解可視ポンプ-赤外プローブ分光、波数分解赤外ポンプ-プローブ分光、時間領域テラヘルツ分光などを開発し、自己組織化の基礎となる、水素結合を基礎とした分子会合体の分子間相互作用における状態相関、水素結合性液体における揺らぎ、生体高分子の構造揺らぎなどを明らかにしてきた。また、ナノメートルのサイズを持つ逆ミセル内のウォータープールにおける水のダイナミクスや反応ダイナミクスを明らかにした。

富永グループの研究は、「水素結合における状態相関と動的揺らぎ」と一言で表現することができる。水素結合性液体では、水素結合により数個から数十個の分子がネットワーク構造を形成し、ネットワーク構造の構造揺らぎ、水素結合の生成・解裂を繰り返している。

このような分子集合体は、サイズとして数ナノメートルのオーダーであり、巨視的ではない、中間的なサイズの集団運動としての特徴を示す。このようなマイクロでもない、またマクロでもない、中間的なサイズのダイナミクスをどのように特徴づけるか、またこのような運動が溶質の緩和や化学反応にどのような影響を及ぼすか、そのような問いに答えることが本研究の目的である。また、生体高分子も構成アミノ酸が数個から数十個結合し、マイクロでもなく、マクロでもない、特徴的な集団運動としての個性を現す。水素結合性液体における揺らぎの研究から、溶質の揺らぎは溶質の性質にはよらず溶媒のみによって決まること、それらは溶質を取り囲む近距離の溶媒分子によって決定していることなどを明らかにした。また、状態相関に関しては、水素結合性錯体の低振動の分子間振動と分子内の高振動の相関を調べる新しい手法を開発した。

また、瀬恒らのグループでは、ピロールを構成要素とする巨大環状化合物である環拡大ポルフィリンの開発に成功した (*J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8957; **2000**, *122*, 12405)。巨大分子は溶液中でコンフォメーション変化を起こしているが、その動的分子構造を解明し、これに起因する分子機能を開発することが出来れば、従来にない新しい機能分子システムを創出することができる。環拡大ポルフィリンではピロールの酸性NHプロトンと塩基性イミン窒素が関与する水素結合を利用すれば、生体関連物質のバインディングが可能と考えられる。水や生体分子のカルボキシル基あるいは水酸基が関わる水素結合は本研究プロジェクトの重要項目であるが、ここでは基質との特徴ある水素結合ネットワークを構築することを念頭に置いた分子デザインに基づいてポルフィリノイド分子を合成し、これを用いて光学活性カルボン酸やアミノ酸誘導体との特徴ある錯体形成を実現した。まず、8つのピロールを有する大環状化合物であるオクタフィリンを合成し、その8の字型の不斉構造反転のメカニズムについて明らかにした。これに基づいて、光学活性カルボン酸との錯体形成について研究を行い、基質の不斉がオクタフィリンの分子不斉に可逆的に転写されることを見いだした。さらに、N-Boc アミノ酸の不斉を転写できるサイズの大きなオクタフィリンの開発にも成功した。これらの研究成果は光学活性カルボン酸の絶対配置の簡便な決定法の開発につながるものである。次に、J. M. Lehn によって開発されたクリプタン分子を参考として、 C_{3h} 対称性を持つ2環性ポルフィリノイドを合成することに成功した。この分子は電子的に共役した3つのバインディングサイトを有し、カルボキシル基および水酸基を捕捉する。蛍光および吸収スペクトルを用いたカルボン酸の滴定曲線は正のアロステリック効果に特有のシグモイダルな形状を示し、X線結晶構造解析およびNMRによる滴定実験によって、その構造機能相関を明らかにすることができた。4つのサブユニットからなるヘモグロビンの酸素吸収に於いては一つ目の酸素が吸着すると、第二、第三の酸素吸着が加速されることがよく知られているが、このような正のアロステリック効果を人工分子で実現することは容易ではなく、超分子化学分野における最も重要な研究目標の一つとされている。本研究でこれを達成できたことは特筆すべき成果の一つである。

《富宅グループ》

本研究では、生命現象と深く関係したアミノ酸分子やペプチドの自己集積化過程で基本となる分子間相互作用と溶媒和相互作用を、系がより簡単に詳しい研究が可能な気相において、種々の分光学的手段を用いて研究することを目的としている。

またこれらの凝集体の中で起こる化学反応を詳細に調べ、その指向性の発現と構造との関係が生体内での機能発現に如何に結びつくかを分子レベルで明らかにすることを目指した検討を行った。また、金属イオンは生体分子の構造形成に重要な役割を果たしている。ここでは、その役割を微視的に明らかにするため、金属イオンを含むクラスターについての詳細な分光実験を進めた。溶媒分子数が数個から数十個に限定されたクラスター内やポルフィリン配位子内で、金属(錯体)イオンの電子構造がどのように変化するかを調べた。また電子構造の変化に伴って、電子移動過程や酸化還元過程がどのように影響を受けるかを分子論的に明らかにすることを目指した。これらの研究を推進するために、新たに生体分子に適用できる分光解析装置を開発し、以下の研究を行った。

- I. 生体分子分光解析装置の試作、開発
- II. 鉄-プロトポルフィリンの電子状態と反応性の研究
- III. アミノ酸、ペプチドの水和相互作用
- IV. 生体関連分子の紫外・赤外分光研究
- V. ペプチド類の解離過程の基礎研究
- VI. 溶媒と金属イオンクラスターの構造と反応性

《鏝木グループ》

鏝木グループでは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を明らかにすることを第一の目的として研究を進めてきた。一連の研究において主要なターゲットとして追求した膜タンパク質がチトクロム b561 である。またこのチトクロム b561 に関連するタンパク質についても研究を進めてきた。高等動物の神経内分泌に携わる神経線維の末端部には、神経伝達物質の合成・貯蔵・放出に携わる小胞が存在する。この小胞膜には膜貫通型チトクロム b561 を中心とする脳神経系内分泌組織特異的な電子伝達系が存在し、細胞質のアスコルビン酸から電子を受け取り、小胞内腔に存在する銅含有酸素添加酵素への電子伝達反応を媒介する。

主な具体的研究テーマは次の4つである。

- A. 動物クロマフィン小胞膜に存在するチトクロム b561 に関する研究
- B. 膜貫通型タンパク質のプロトタイプとしてのチトクロム b5 に関する研究
- C. 植物トウモロコシ (*Zea mays*) チトクロム b561 に関する研究
- D. チトクロム b561 に密接に関連するタンパク質に関する研究

いずれの研究においても、分子生物学的手法と生化学的、生物物理学的手法を総合的に用いた研究を行った。その結果、①膜タンパク質発現系としての酵母 *Pichia pastoris* 系の有利性、②チトクロム b561 ファミリーにおけるアスコルビン酸から細胞質側へムへの電子伝達反応の機構モデル「協調的プロトン・電子伝達メカニズム」の提唱、といった研究成果を得ることができた。

《松下グループ》

光合成において光のエネルギーを効率良く捉えているのは、光合成膜に存在するアンテナ複合体の働きによる。このアンテナ複合体は複数のタンパク質と色素が光合成膜上で自己組織化したものである。タンパク質は、生理条件下では無数の安定構造の間を絶えず移り変わっている。構成要素であるタンパク質の構造揺らぎと自己組織化された複合体の機能との関係を理解することはソフトナノマシンの設計を目指す上で重要である。我々は、試料を冷やしてタンパク質の動きを止め、複合体を一個一個分光測定するという、単一分子分光を行った。内容は以下の三つである。

1. アンテナ複合体の形状の環境依存性: LH2 と呼ばれる、反応中心に接していないアンテナ複合体の形状は、X-線結晶構造から円とされていた。ところが単一分子分光によると界面活性剤のミセル中では楕円であった。実際の光合成膜にできるだけ近い環境として、人工脂質二重膜中の LH2 を調べたところ、ミセル中とは異なり、より円に近いことが分かった。

2. 単一複合体のスペクトルに見える異常な線形: LH2 内で円環状に並んだ色素分子上に生成する励起子の吸収である B850 バンドの低エネルギー端を見てみると、Lorentz 曲線の重なりではなく、左右非対称な線形になっている。この現象を Redfield の緩和の理論で説明することを試みた。励起子は格子にエネルギーを捨てながら緩和するが、格子に移るエネルギー ΔE と移るのにかかる時間 Δt が $\Delta E \Delta t \sim h$ の関係にあり、永年近似が崩れているためである、と解釈できた。

3. 単一複合体のスペクトルの温度変化: 室温でのタンパク質は、熱運動により絶え間なく構造変化を起こしているが、液体ヘリウム温度での熱運動は、数秒～数百秒おきに起こる自発的な構造変化になる。この構造変化は単一複合体の発光励起スペクトルに色素分子の吸収波長の変

化として表れる。単一複合体のスペクトルの温度変化を観測した。その結果、安定構造間のポテンシャル障壁の、数 kJ/mol のオーダーのものと、プロトンのトンネル移動とがあることが分かった。

《神取グループ》

膜蛋白質によるプロトンポンプは高度に秩序を持った自己組織化された系における水の水素結合ネットワークの問題であり、液体の水における水素結合ネットワークの揺らぎ・集団運動の研究と直接、関連する。自己組織化、水分子、協同現象、分子レベル、分光など、重要なキーワードを包括する研究分野であり、本研究において我々はこのような水素結合ネットワークの構造変化ダイナミクスを実験的に捉えることを試みた。具体的には、光駆動プロトンポンプ蛋白質であるバクテリオロドプシンやその類似蛋白質に対して低温赤外分光法を適用し、水分子を含む水素結合ネットワーク構造の変化を解析した。

その結果、バクテリオロドプシンの最初のプロトン移動に伴って、1個の内部結合水が水和構造を2つのアスパラギン酸の間で変化させることを見出した。我々が「水和スイッチモデル」と呼ぶプロトン移動のモデルは、蛋白質内部での具体的なプロトン移動のモデルとして、世界で最初のものとして位置付けることができる。さらに種々の実験から、光を吸収するレチナルシッフ塩基の部分に存在する水分子を含んだ水素結合ネットワークがプロトンポンプという機能に必要な不可欠な役割を演じていることを明らかにした。また詳細な赤外分光データをもとに、ハロロドプシンのクロライドポンプに関する新しいモデルを提唱することができた。

一方、ロドプシンはわずかなアミノ酸の変異などで機能を転換できることも知られているが、本研究では、クロライドポンプに転換したバクテリオロドプシン、プロトンポンプに転換したハロロドプシン、さらには光センサーに転換したバクテリオロドプシンの特異的な水素結合構造を明らかにすることができた。加えて、系統的な低温赤外分光実験によって我々は、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を発見した。この事実は、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を強く示唆するものである。

《水谷グループ》

タンパク質の機能発現機構の解明において最も不足している重要な情報は構造ダイナミクスである。その情報を得るには、高い時間分解能をもち、かつ化学結合レベルの構造情報を与える計測技術が必要である。我々は世界に先駆けて、チタンサファイアレーザーを基にしたピコ秒時間分解可視共鳴ラマン分光システムを製作し、タンパク質の構造ダイナミクスを明らかにしてきた。時間分解共鳴ラマン分光法は、高い時間分解能（サブピコ秒）で、タンパク質の部位特異的な構造情報を与えるという点で、他にはない優れた特徴をもつ分光計測手法である。本研究では、時間分解共鳴ラマン分光システムの観測領域を紫外領域に拡張し、従来の方法では計測が困難であった残基レベルでのタンパク質ダイナミクス観測を行った。新たに製作した連続波長可変ピコ秒紫外パルス光源と高感度検出系によって、ミオグロビンをはじめとしていくつかのタンパク質について、その化学反応初期過程におけるタンパク質の構造応答を明らかにした。

《斉藤グループ》

溶液や生体内を始めとする凝縮系、すなわち多体系の化学反応は、溶媒分子やアミノ酸残基の静的・動的揺らぎの影響を受け、気相中の化学反応とは異なり変化に富んだものとなっている。特に生体内の化学反応は逐次反応を経て、効率良く確実に終状態へと変化していくが、これら多体系化学反応における溶媒やアミノ酸残基の揺らぎの影響、組織された反応系の構築およびその分子論的な反応機構など、ほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、複雑な多体系化学反応における重要な運動の方向性を抽出するための2次元振動分光法の開発・探索を進めた。具体的には、(1)水の集団運動・揺らぎを明らかにするための2次元赤外分光法による水分子間運動の解析、(2)生体系における反応機構の解

明、とくに細胞増殖の制御に関わる Ras の加水分解反応における構造の揺らぎおよび水素結合ネットワーク構造の影響の解析を進めた。(1), (2)の概要は以下の通りである。

(1) あらわに 3 時間相関関数の計算に基づき 2 次元赤外分光法による水の分子間運動の解析を世界で初めて行った。その結果、水の衡振運動は不均一的な環境にあり、この不均一さが約 100 fs で素早く減衰することを明らかにした。さらに、この速い不均一性の喪失に、衡振運動に比べて遅い並進運動が大きな影響を及ぼしていることを明らかにした。また、衡振運動から並進運動への非常に高速のエネルギー緩和過程も明らかにした。並進運動が衡振運動領域の大きなスペクトル拡散にも関係していることを明らかにし、本研究の解析により水の高効率緩和過程への並進運動の影響が明らかになった。

(2) 細胞増殖の制御にかかわるタンパク質 Ras における GTP の加水分解反応の解析を行った。細胞内においては、GAP と呼ばれる GTP 加水分解促進タンパク質が Ras に結合することにより、GAP 単体での加水分解反応に比べ約 10^5 倍も加速され進行していることが明らかになっている。このように、GAP の影響を無視して加水分解反応を議論することはできないが、これまでの理論計算では GAP の影響はほとんど考慮されてこなかった。本研究では、GAP をあらわに考慮した Ras の加水分解反応機構の解析を分子動力学法や量子化学計算を用いて行った。GAP と Ras 間に塩橋や水素結合が形成され、GTP がタンパク質から囲まれ GTP 近傍の水分子の交換が抑制されていることが明らかになった。この結果は、リン酸に配位する水分子が固定されることにより GTP の加水分解反応を起りやすくしていることを示唆する。また、最近の実験研究で示唆された加水分解後の中間体を構築することに成功し、GDP や Pi が形成する水素結合ネットワークがあまり変化していないこと、この中間状態ではリン酸イオンの解離に不可欠な活性サイトへの水分子の出入りが起こっていないことも明らかにした。このように、GAP との結合により GTP/GDP 近傍の水素結合ネットワーク構造の変化など Ras の加水分解反応にどのような影響を及ぼしているかを解析した。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

《研究開始時に設定した目標》

以下の3つが本研究の研究主要項目であった。

1. 新規な分光手法の開発とそれを用いた実験。新たに開発する手法としては、種々の2次元振動分光

時間領域テラヘルツ電磁波分光を用いた遠赤外分光

紫外領域におけるピコ秒時間分解ラマン分光

単一分子発光分光

四重極マスフィルターを用いた生体関連分子分光

2. 超分子、生体高分子（タンパク質、膜タンパク質）の合成と精製

3. 分子動力学シミュレーションを用いた実験結果の解釈と新たな実験の提唱

研究代表者は、主に1. の新規な分光手法（2次元振動分光とテラヘルツ電磁波分光）の開発とそれを用いた実験を行う。2. 及び3. は研究分担者が行い、代表者へは試料の提供、計算機実験の結果の提供などを行う。

研究チームとしては、以下の研究テーマを行う。

1. 水、水溶液系におけるダイナミクスと反応の方向性、選択性

水や水溶液系における揺らぎ・集団運動、金属イオンの水和構造と揺らぎ、タンパク質における水和現象と機能の発現、さらにプロトンポンプにおける水素結合ネットワークの役割など、水素結合による分子間相互作用のダイナミクスを調べる。

2. ヘムタンパク質、ポルフィリン錯体の構造ダイナミクスと機能発現

ポルフィリン錯体とヘムタンパク質を共通分子として、その分子としての動的・静的な性質、水和による電子状態、分子構造の変化、タンパク質内における構造変化と構造緩和、さらに膜タンパク質内における生理機能の発現など、相互作用と揺らぎ・ダイナミクスという分子論的視点で探索する。これにより、動的相互作用としての新しいタンパク質の特性を明らかにしていく。

《研究の主なスケジュール》

項目	平成14年度 (5ヶ月)	平成15年度	平成16年度	平成17年度	平成18年度	平成19年度 (7ヶ月)
実験装置の開発・導入	←			→		
試料の合成と精製	←			→		
データ取得		←			→	
データ解析		←				→
データの解釈			←			→
まとめ・総括						↔

《その後の展開により新しく生まれた目標等》

研究代表者会議で、「テラヘルツ電磁波を用いた生体高分子の低振動スペクトルとダイナミクスの研究は、凍結乾燥された試料ではなく、機能を持つ状態での測定を行う必要がある」とのコメントをいただき、その後、機能を持つバクテリオロドプシンのテラヘルツ分光に

方向を転換した。

研究代表者会議で、「機能に重要な非局在化された運動は 10 cm^{-1} 以下に存在するのでは？」とのコメントをいただき、 10 cm^{-1} 以下の測定が可能な時間領域テラヘルツ電磁波分光装置の導入・製作を行った。

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、「自己組織化」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。

タンパク質の機能発現において、水分子とタンパク質の相互作用はきわめて重要である。例としてバクテリオロドプシン(BR)をあげると、BRは地上最小の光駆動によるプロトン分子ポンプであり、まさにナノメートルスケールの機械といえる。水分子の役割を大きく分けると、機械の一部としてプロトンポンプという機能に直接関わる場合と、タンパク質を取り囲む多数の水分子が、熱エネルギーによる構造揺らぎの源となる“黒子”の役割を演じる場合とがある。本研究では、この「機械の一部としての水分子」という側面と「巨視的な黒子としての水分子」という側面について研究を行った。「機械の一部としての水分子」を調べる際には、低温偏光赤外分光と可視ポンプ-赤外プローブ分光法、「巨視的な黒子としての水分子」を調べる際にはテラヘルツ電磁波分光を用いた。

《研究グループ毎の役割分担》

富永グループ：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

瀬恒グループ：ポルフィリノイドを用いる分子認識化学

富宅グループ：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の研究

斉藤グループ：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

松下グループ：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

鏑木グループ：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

水谷グループ：機能発現における水とタンパク質の動的相関

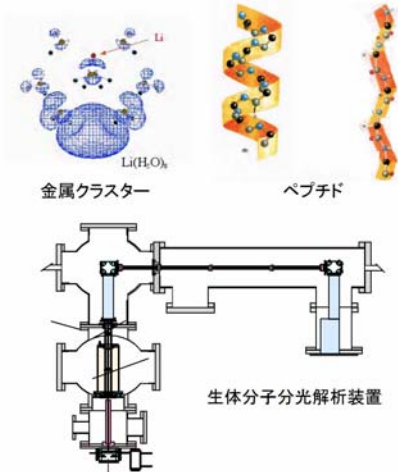
神取グループ：水素結合ネットワークを介した光駆動プロトンポンプの解明

次ページに役割分担を図で示す。

分子集合体の物理化学; 相互作用と揺らぎ

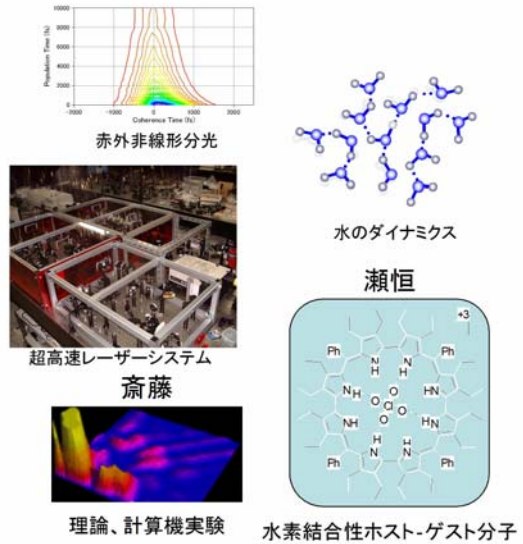
気相、クラスター 富宅、石川

分子集合体(クラスター、水和した生体分子など) 詳細な構造、反応
分子間相互作用、構造安定性



凝縮相(液相、固相) 富永、太田

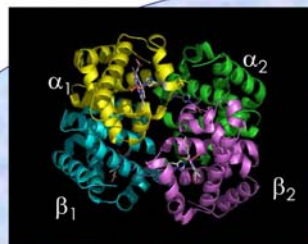
揺らぎ、集団運動、反応ダイナミクス



タンパク質の機能発現の機構

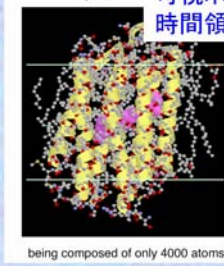
時間分解ピコ秒紫外共鳴ラマン分光

構造変化
情報伝達



水谷、佐藤

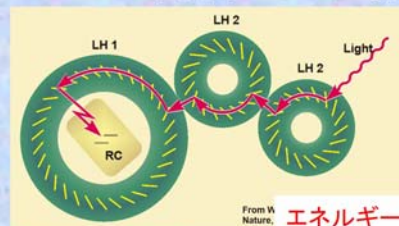
低温偏光赤外分光
可視ポンプ-赤外プローブ分光
時間領域テラヘルツ分光



プロトンポンプ

神取、太田、富永

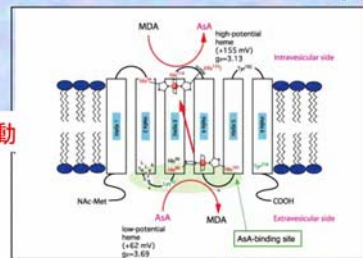
光合成光エネルギー捕集系



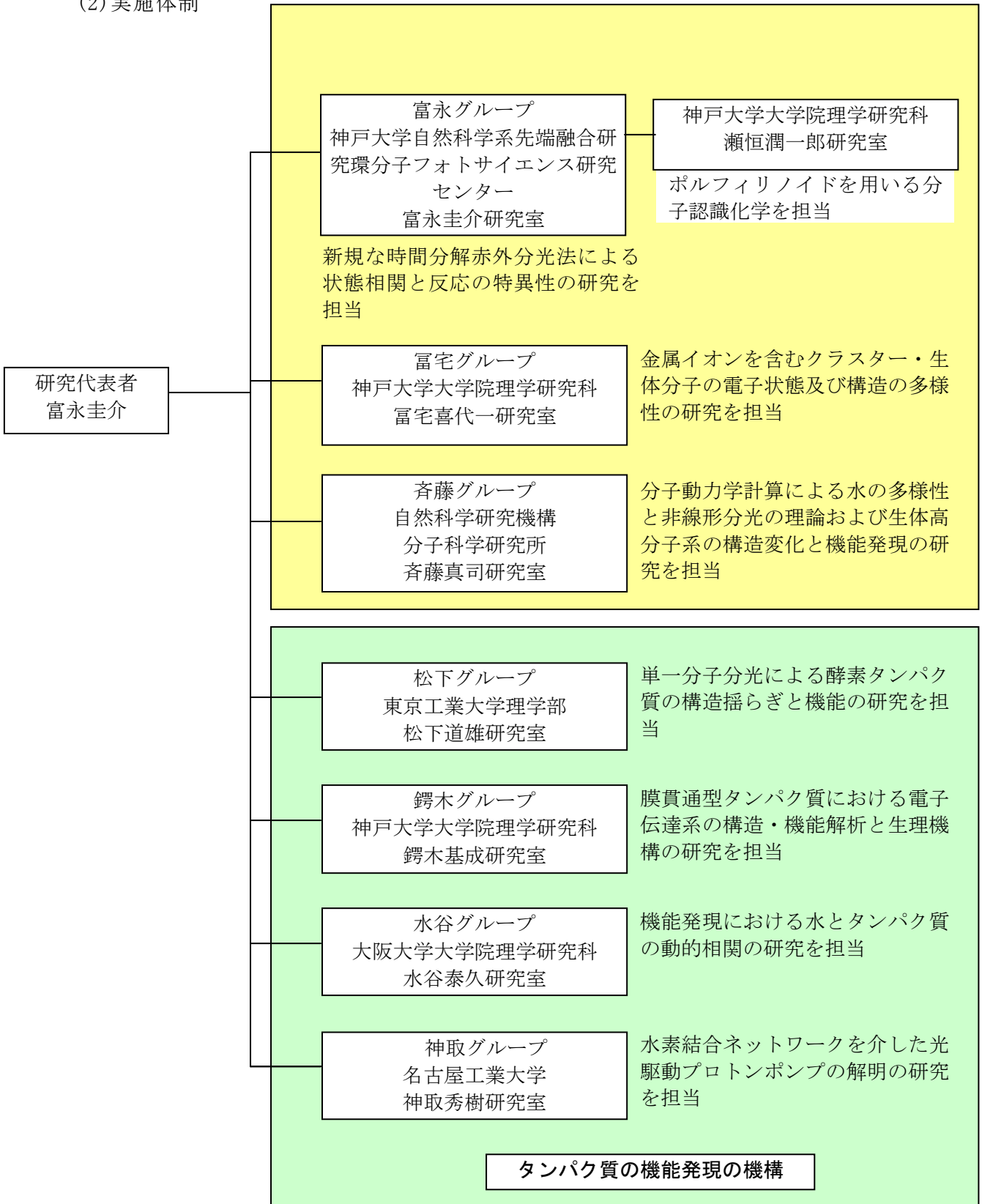
単一分子分光、蛍光分光

神経内分泌小胞チトクロムb561 鏑木

電子移動



(2) 実施体制



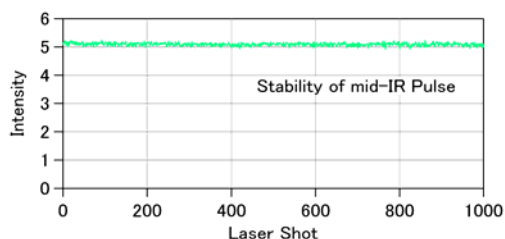
3 研究実施内容及び成果

3. 1. 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 (神戸大、富永グループ)

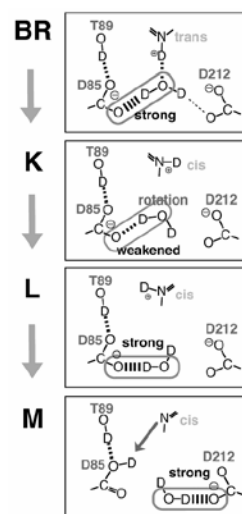
本研究では、自己組織化された系における反応の高効率性、方向性等を、フェムト秒レーザーを用いた先端的分子分光法を開発し、多点における分子間相互作用と動的な揺らぎという観点から解明することを目的とする。赤外非線形分光(3-パルスフットンエコー法)、波数分解可視ポンプ-赤外プローブ分光、波数分解赤外ポンプ-プローブ分光、時間領域テラヘルツ分光などを開発し、自己組織化の基礎となる、水素結合を基礎とした分子会合体の分子間相互作用における状態相関、水素結合性液体における揺らぎ、生体高分子の構造揺らぎなどを明らかにすることを目的とする。富永グループの研究は、「水素結合における状態相関と動的揺らぎ」と一言で表現することができる。

1. フェムト秒時間分解赤外分光法の開発

フェムト秒のパルス幅を持つ赤外短パルスの発生を行った。2台の光パラメトリック発振/増幅を製作し、波長可変のポンプ光(700-550 nm, 400 nm, 266 nm)と、シグナル光とアイドラー光の差周波をとることにより赤外領域の波長可変のプローブ光(1500-4000 cm^{-1})を得ることができた。検出器として、32チャンネルマルチチャンネル検出器を導入し、赤外領域における時間分解スペクトルの測定を可能にした。



従来の分光器のグレーティングを回転しながら測定する方法に比べ測定時間を数十倍短くすることができた。これにより、可視ポンプ-赤外プローブ、または赤外ポンプ-赤外プローブ分光の測定が可能となった。本装置では、赤外パルスのショットごとの安定性が0.3% rms以下(右図)で、0.1 mODの変化を捉えることができ、これは時間分解赤外分光装置としては世界のトップレベルにある。



図：水和スイッチモデルの概念図

神取グループとの共同研究として、バクテリオロドプシン(BR)における光駆動プロトンポンプの初期過程を調べることを目的として、フェムト秒可視ポンプ-赤外プローブ分光装置の開発を行った。神取らが、BRの光駆動プロトンポンプの初期過程として提唱した「水和スイッチモデル(右図)」を、リアルタイムで内部結合水の変化をとらえることにより検証するためである。本装置の特徴は、2台の光パラメトリック発振/増幅を行い、波長可変のポンプ光(700-550 nm)と、同じく波長可変のプローブ光(1500-4000 cm^{-1})を備えていることである。水和フィルム試料を用いて588 nm励起により過渡赤外信号の観測を行ったところ、レチナールの骨格振動(1600 cm^{-1} 付近)では、既報のデータを再現することができた(次ページ図)。一方、今回の研究で測定を目指しているレチナールシッフ塩基のN-D伸縮振動およびタンパク質内部に取り込まれた水分子の伸縮振動については非常に弱いながらも信号を観測することができた(次ページ図)。しかし、フィルム状の試料がポンプ光による光反応により退色し、正確な測定が困難であった。

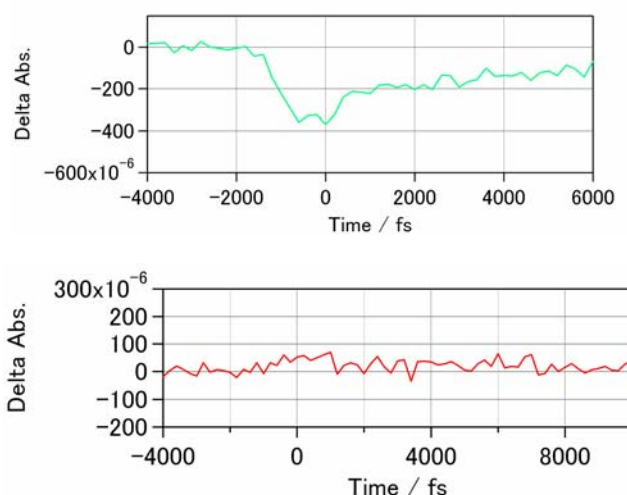
2. 赤外非線形分光法による水素結合性液体中における揺らぎ

赤外非線形分光(3-パルスフットンエコー法)を用いて水素結合性液体中におけるイオンの振動状態の揺らぎをいくつかの系で測定した。表にその結果を示す。非水素結合性液

体の結果も含める。揺らぎの相関関数を、 $\langle \Delta\omega(t)\Delta\omega(0) \rangle = \sum_i \Delta_i^2 \exp(-t/\tau_i)$ とい

う式を用いて再現を試みた。表には、 Δ_i と τ_i を示す。その結果、揺らぎの大きさは溶質及び溶媒の両方に依存するが、揺らぎの時定数は溶質にはよらず、溶媒のみで決まるという極めて一般的な結果を得ることができた。これは、従来の分子動力学計算から予測される振る舞いと異なり、水素結合性液体における溶質分子の揺らぎを探索する上で重要な知見となりうる。この観測された溶質分子の揺らぎのダイナミクスが、溶質-溶媒間のどのような相互作用で決まっているのか、また溶媒のどのようなダイナミクスが重要なのかという間に答えることが本研究の目的であった。

他のグループの水の OH 振動（または OD 振動）に対する 2 次元振動分光の結果や分子動力学計算などの結果と比較検討した結果、多くの溶媒分子が溶質に及ぼす誘電的な相互作用というより、溶質分子に比較的近い、おそらく第 1 溶媒和殻程度に存在する溶媒分子の揺らぎが溶質の揺らぎに大きな影響を及ぼしており、それらの溶媒分子は水素結合ネットワークを形成していると思われるので、溶質分子が結合している水素結合ネットワークの構造揺らぎによるというのが現在の解釈である。揺らぎの問題は、グローバルなポテンシャルの曲面の「底」というよりは、エネルギー的に高いところで決まる。その意味で、これらの現象を理論的に正確に解釈することは、多くの理論的な問題点が存在する。この結果に対して、多くの理論家を刺激し、更なる詳細な理論的研究が行われることを期待している。



図：588 nm 励起による BR の過渡吸収信号。(上) プローブ波長 1529 nm。レチナールの骨格振動に相当。(下) プローブ波長 2146 nm。内部結合水の OD 伸縮振動に相当。

溶質分子	溶媒	Δ_1 (ps ⁻¹)	τ_1 (ps)	Δ_2 (ps ⁻¹)	τ_2 (ps)	Δ_∞ (ps ⁻¹)
OCN ⁻	CH ₃ OH	1.3	0.12	1.6	4.5	0.55
SCN ⁻	CH ₃ OH	2.6	0.09	3.6	4.1	0.1
SCN ⁻	D ₂ O	4.3	0.08	2.7	1.3	0.0
N ₃ ^{*-}	D ₂ O	2.6	0.08	1.4	1.3	0.3
N ₃ ⁻	H ₂ O/	4.0	0.08	1.0	1.2	0.2
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	D ₂ O	2.8	0.08	1.15	1.5	0.0
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	H ₂ O/	2.95	0.08	1.0	1.4	0.0
N ₃ ⁻	H ₂ O/RM**	3.3	0.08	1.2	1.2	1.0
SCN ⁻	formamide	2.8	0.09	1.8	4.7	0.6
SCN ⁻	N-methylformamide	2.75	0.09	2.55	5.4	0.3
SCN ⁻	dimethylsulfoxide	2.5	0.08	1.0	6.0	0.0

SCN ⁻	<i>N,N</i> -dimethylformamide	2.4	0.09	0.9	5.3	0.05
SCN ⁻	acetonitrile	2.5	0.09	0.8	3.4	0.0

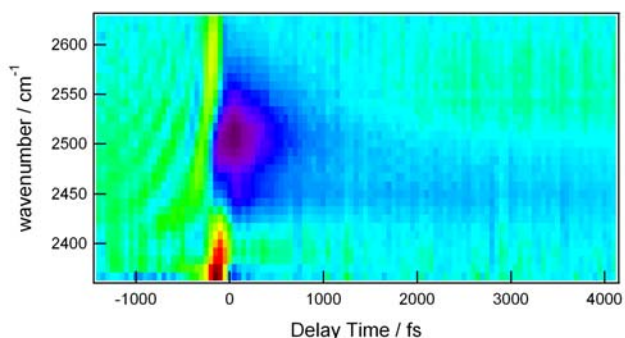
* : Hamm et al., *Phys. Rev. Lett.* **81**, 5326 (1998)

** : RM は逆ミセルをあらわす

3. 振動緩和に及ぼす水素結合の影響

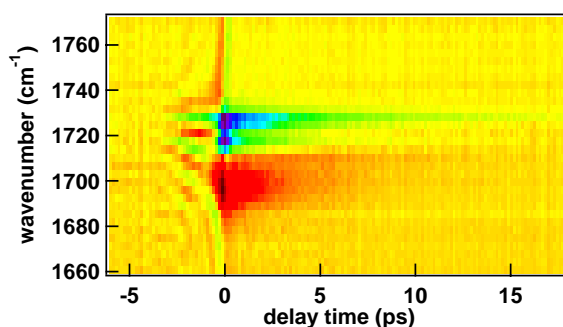
振動緩和は振動子の局所的な環境を鋭敏に反映するため、溶質分子の微視的環境のプロープとして調べられている。また、化学反応において反応過程で生じる余剰エネルギーの散逸と関連しているため、反応ダイナミクスを理解に欠かすことのできないものである。本研究では、水素結合が振動緩和に及ぼす影響を、いくつかの異なる系において調べた。その結果、一般的な結論としては、水素結合が強くなると振動緩和が速くなるという結果を得た。これは、水素結合による状態密度やエネルギーギャップの変化として定性的には説明することができるが、定量的なことについては今後の理論の発展を待つ必要がある。しかし、水素結合の生成・解裂や水素結合性錯体の揺らぎなどのダイナミクスが振動緩和と平行して起こると信号の時間変化は複雑になり、慎重に解釈する必要がある。以下、各系について概説する。

四塩化炭素中におけるフェノールと様々な塩基（ベンズニトリル、アセトンなど）の錯体におけるフェノールの OH 伸縮振動の振動緩和を観測したところ、水素結合が強くなると振動緩和が早くなるという結果を得た。これは、水素結合形成による状態密度の増加と低波数シフトによるアクセプティングモードとのエネルギーギャップ差の減少によるものと解釈した。しかし、一つの塩基に対しては、振動緩和のプロープ波数依存性は観測されなかった。これは、振動緩和の緩和時間（数ピコ秒）の間に水素結合の強さに揺らぎが生じ、緩和時間を平均化してしまうためであると解釈した。



メタノールの OH 伸縮振動の振動緩和を重水素置換したメタノールを溶媒として調べた。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。CH₃基をCD₃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た。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明確に示している。また OD 伸縮振動については、水素結合が強くなると励起状態の寿命が短くなるという一般的な結果と矛盾しない結果を得たが、OH 伸縮振動についてはその逆の水素結合が強くなると基底状態の回復が遅くなるという結果を得た。これについては現在検討を続けているところであるが、水素結合の解裂などのダイナミクスが信号に関与している可能性がある。前ページに CH₃OD/CH₃OH 系の波数分解ポンププロープ信号を示す。CH₃OD の OD 伸縮振動の基底状態の回復を観測している。青色が基底状態の退色に相当する。

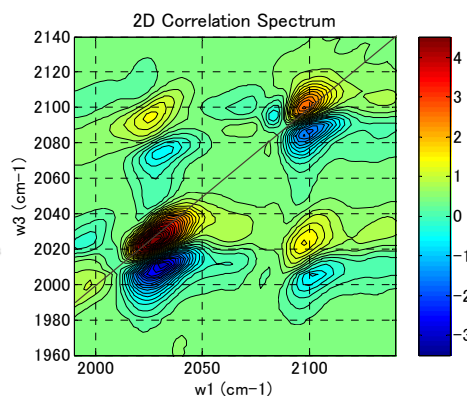
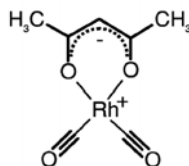
水素結合ネットワークが振動緩和に及ぼす影響を調べるため、カルボニル基を持つ 9-フルオレノン種々のアルコールに溶かし、CO 伸縮振動の振動緩和に対する水素結合の影響を調べた。アルコール中の 9-フルオレノンの赤外吸収スペクトルには 3



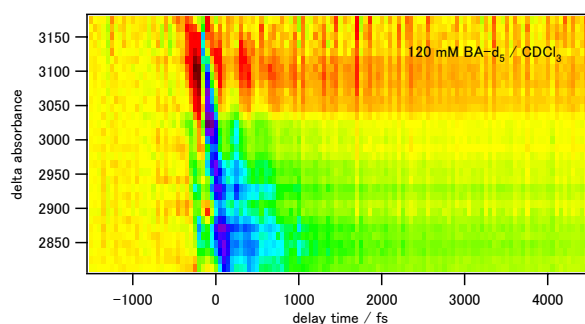
つのピークが表れ、水素結合していないもの、アルコールが一つカルボニル基と水素結合したものの、アルコールが二つついたものと同定した。すなわち、この系を用いて水素結合した場合とそうでない場合の振動緩和に及ぼす影響を明確に調べることができる。その結果、水素結合することにより振動緩和が約二倍速くなるという結果を得た。アルコールはアルコール同士が水素結合を形成しネットワーク構造をとるため、アルコール1分子がカルボニル基に結合した場合、ネットワーク構造それ自身の揺らぎが状態密度を与える可能性がある。そのような観点からこの「二倍速い」という物理的な意味を今後理論的に考えていく。右に9-フルオレノンの1-オクタノール中における波数分解ポンププローブ信号を示す。

また、水溶液中における溶質の振動緩和を調べるため、酢酸のCO伸縮振動について調べた。その結果、9-フルオレノンの場合と同様に、CO基に水分子が一つ水素結合したものと、二つしたものが定常吸収から観測された。水素結合していない酢酸は観測されなかった。一つ結合した場合と二つした場合で、緩和時間はそれぞれ約1ピコ秒、0.4ピコ秒という値を得た。この場合は振動緩和が十分速いため、水素結合の生成・解裂ダイナミクスの影響は見られなかったが、他の系(酢酸/メタノールの系)では、水素結合ダイナミクスと振動緩和が競合していると思われる結果が得られている。今後はそのような系も含めて検討を行う。

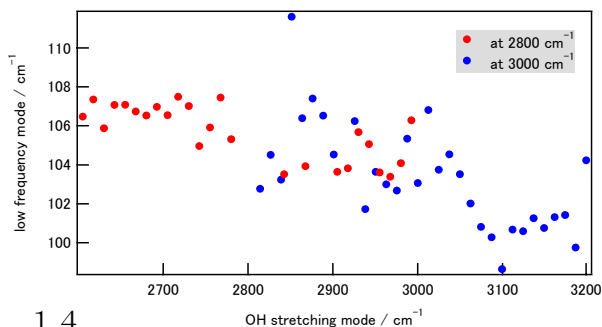
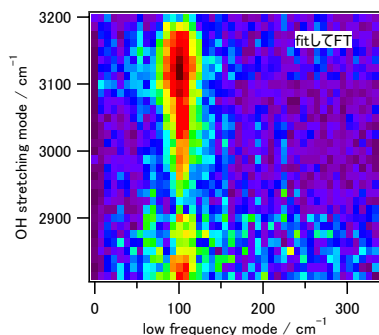
4. 水素結合系における状態相関異なる振動状態間の相関、すなわち非調和結合に関する正確な情報を得ることは、自己組織化された系における情報伝達やアロステリック効果などを理解するうえで基礎となる。近年、3次の赤外領域における光学非線形現象を活用した2次元振動分光が開発されている。この手法は2次元NMRの原理を振動状態に応用したものであるが、異なる振動状態間のクロスピークを観測することにより、非調和結合を調べることができる。我々も2次元振動分光の開発を進めており、次ページにその例を示す。クロロフォルム中のロジウム錯体の信号である。



この通常の2次元振動分光では、中赤外領域の分子内振動を対象とするが、本研究では、異なる原理を用いて分子内の高振動モードと分子間の低振動モードの相関を調べる手法を開発した。四塩化炭素中の安息香酸(BA)二量体を例に取り解説する。



四塩化炭素中におけるBA二量体の吸収スペクトルは、3000 cm⁻¹付近にピークを持ち、低



波数側に複雑な構造を示す。複雑な構造は、Fermi 共鳴、Davydov 分裂、低振動モードとの非調和結合によるものである。右図に波数分解ポンプ-プローブ信号を示す。赤が過渡吸収成分、青が基底状態の退色及び励起状態からの誘導放出に対応する。ポンプ-プローブ信号から2つの時定数 (3000 cm^{-1} で 730 fs 及び 12 ps) が得られた。高波数側で時間分解能 ($\sim 200\text{ fs}$) より速く過渡吸収成分が観測されたため、OH 伸縮振動の振動エネルギー緩和はこれより速いと考えた。BA 二量体の場合、速い成分と遅い成分はそれぞれOH 伸縮振動の振動エネルギー緩和後の低振動モードの振動緩和、及び分子間の振動冷却過程に相当すると考えられる。また、信号に量子ビートが観測された。酢酸二量体で観測されているように、これはOH 伸縮振動モードと非調和結合している低振動モードに因るものであると考えられる。ポンプ-プローブ信号から量子ビートの成分のみを取り出し、フーリエ変換することで、 100 cm^{-1} 付近にバンドを持つ低振動モードのスペクトルが得られた。この操作を波数分解ポンプ-プローブ信号の全波数領域について行い、低振動モードとOH 伸縮振動モードの相関図を得た(下左図)。さらに全波数における低振動モードのバンドをローレンツ関数でフィットして中心波数を求め、OH 伸縮振動モードの波数に対してプロットした(下右図)。OH 伸縮振動モードが高波数側へシフトするほど低振動モードは低波数側へシフトしていることが分かった。この依存性の物理的な意味は、溶液中で水素結合が弱い二量体では、OH伸縮振動が高波数側に、分子間振動が低振動側に存在し、水素結合が強い系ではその逆のケースとなることを示していると考えている。すなわち、溶液中において二量体はその水素結合の強度に不均一分布を持って存在していると考えている。このような、低振動モードと高振動モードの相関を実験的に示したのはこれが最初の例である。

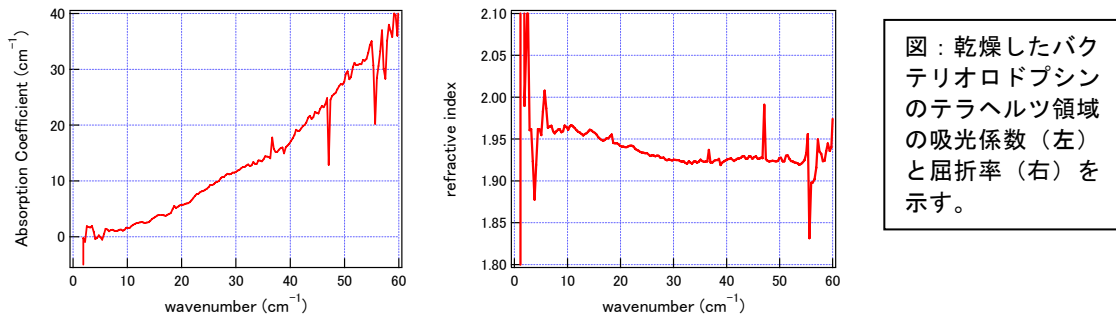
5. テラヘルツ電磁波分光による分子間相互作用と動的揺らぎ

テラヘルツ領域 ($1\text{ THz}=33.4\text{ cm}^{-1}$) は、自己組織化の基礎となる分子会合体(水素結合性錯体や電荷移動錯体など)の分子間振動に相当し、分子間相互作用を直接調べることができる。また、水やアルコールなどの水素結合性液体の水素結合ネットワークの構造揺らぎや生体高分子の構造緩和など、数ナノメートルのサイズを持つソフトマテリアルの特徴的な運動がこの波数領域にスペクトル成分を持つ。

装置について、まず、テラヘルツ分光器の装置の改良、導入を行った。テラヘルツ電磁波は空気中の水により吸収されるため、測定系を乾燥空気では置換する装置を作成し、スペクトルの精度の向上をさせた。また、既存の FT-IR 分光器を改良し、観測波数領域の低波数極限を 50 cm^{-1} とした。さらに、光伝導スイッチによるテラヘルツ波の発生と検出による装置を導入・構築した。この装置の観測波数領域は、 3 cm^{-1} 以上 50 cm^{-1} 以下であり、既存のテラヘルツ電磁波分光装置(半導体表面からの発生方法、約 15 cm^{-1} から 85 cm^{-1} が観測可能領域)とあわせて 3 cm^{-1} 以上の波数領域すべてを測定可能範囲とすることができた。

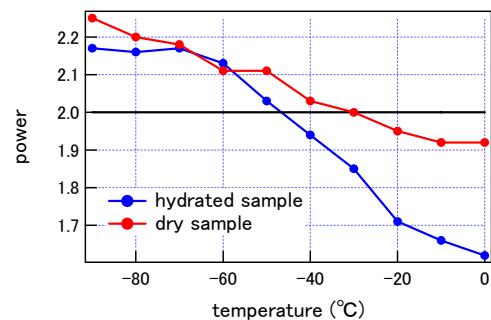
測定対象として、特に力を入れたのは、機能を持つ状態でのタンパク質の低振動スペクトルの測定である。タンパク質の機能発現には、一般には大きな構造変化を伴う。この大きな構造変化を特徴づける運動は低振動領域にその遷移周波数を持つため、タンパク質の低振動スペクトルはテラヘルツ電磁波分光の格好のターゲットと近年なっている。しかし、乾燥凍結されたタンパク質のテラヘルツスペクトルの報告はいくつかはなされているが、機能に重要な低振動運動を調べるためには、機能を持つ状態での測定が必須である。そこで、神取グループと協力し、膜タンパク質であるバクテリオロドプシン(BR)のテラヘルツ分光の実験を行った。BR を乾燥させ、若干量、水和させることにより機能を持たせることができる。試料の調整方法をいくつか検討した。電磁波の波長オーダーで均一な試料を作成しなければならないが、最終的には基板上で乾燥させた試料を集め、加圧により作成した薄い板状のBR試料が測定に最も適していた。下に光伝導スイッチによるシステムを用いて得られた乾燥試料の吸光係数(次ページ左)と屈折率(次ページ右)のスペクトルを示す。乾燥試料では内部結合水は存在している。これらの観測量から振動状態密度(VDOS)に比例する物理量を求めた。吸光係数スペクトルは構造がなく単調に増加する。VDOS の周波数に

対するべき依存性について議論した。すなわち、VDOS $\propto \omega^\alpha$ として、 α を求めた。理想的な Debye 型の結晶（あらゆるモードが調和的にふるまうケース）の場合は、 $\alpha = 2$ となる。 α の 2 からのずれは非調和性の度合いを反映する。波数領域 7cm^{-1} から 30cm^{-1} までは、このパワー則に従い、一つの α の値が存在する。乾燥試料では、 α の値はほぼ 2 であった。水和試料について測定を行ったところ、水和量が増加するに従い、 α の値は減少した（下表）。すなわち、非調和性の度合いは水和に従い増加する。次に乾燥試料と水和試料について温度変化を測定し、 α の値を求めた。その結果を下図に示す。乾燥試料も水和試料も低温（ -80°C 付近）では、同様の α の値を持ち温度上昇に伴い減少する。興味深いことに -40°C 付近で乾燥試料と水和試料で α の値の温度依存性が変化し、温度上昇とともに急激に減少することがわかる。非弾性中性子散乱でも同様の変化が低振動の振動状態密度についても観測されており、 -40°C を dynamical transition 温度と呼んでいる。



図：乾燥したバクテリオロドプシンのテラヘルツ領域の吸光係数（左）と屈折率（右）を示す。

低振動モードの非調和結合は、機能発現に重要な役割を演じる。機能に直接関連のある低振動運動はそれほど多くはないと考えられるが、機能に直接関連のないモードが励起されても非調和結合が大きければ、非調和結合によりエネルギー移動が起こり、機能に関連のあるモードが励起され、機能に相当する構造変化を誘起することができる。このような低振動領域の VDOS の測定は非弾性中性子散乱から主に議論されてきた。水和により低振動モードの非調和性が増加すること、水和試料は -40°C 付近で非調和性の増大が誘発されることなどがわかった。テラヘルツ電磁波分光は測定時間が非常に短いため（温度変化のスペクトル測定では測定時間が 5 秒である）、このような水和現象などの短時間で経時変化する現象の研究には適しているといえる。



図：乾燥したバクテリオロドプシンの水和した試料の α の値（指数）の温度変化

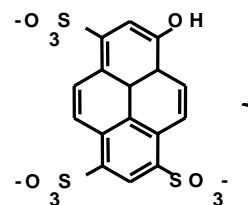
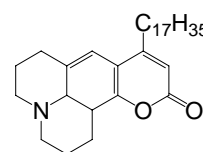
表： α の値の水和量依存性

BR1 分子あたりの H ₂ O 分子の数	H ₂ O と BR の比（重量比）	α の値（指数）
0	0 g/1 g	1.90±0.02
102	0.070 g/1 g	1.71±0.02
116	0.080 g/1 g	1.65±0.02
130	0.090 g/1 g	1.59±0.02

また、溶媒と溶質の相互作用の直接観測を目指し、無極性溶媒中における極性溶質分子のテラヘルツスペクトルの測定・解釈を行い、従来の回転緩和による成分だけでなく、ライブ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解釈を行った。

6. 逆ミセル内ウォータープール中における反応と緩和

逆ミセル内の水滴（ウォータープール）は、数ナノメートルのサイズを持ち、ナノメートルサイズにおける制限空間効果や界面からの影響が溶質分子の緩和や反応にどのような影響を及ぼすかということ調べる上で格好のモデル系である。本研究では、時間分解蛍光スペクトル測定によりウォータープール内における溶媒和ダイナミクスやプロトン移動を調べ、制限空間や界面の影響を明らかにした。特に注目したことは、ナノ秒の遅い緩和である。バルクの水では溶媒和ダイナミクスが数ピコ秒で完了するが、逆ミセルウォータープール内ではナノ秒の遅いダイナミクスが観測されている。この遅いダイナミクスの分子論的な解釈はなされていなかったが、本研究では、長鎖アルキル基を持つ両親媒性の蛍光色素分子（クマリン色素）を新たに合成することにより（上図）、これに対して明確な答えを与えた。この分子は瀬恒グループと協力して合成したものである。この分子を用いることにより界面活性剤にプローブ分子を固定することができ、ウォータープール内のどこにプローブ分子が位置するか、規定することができる。通常のクマリン分子を用いた結果と比較することにより、今まで報告されてきたナノ秒の遅いダイナミクスが、プローブ分子の並進拡散によるものであることを示した。一方、プローブ分子としてプロダンとそれに長鎖アルキル基のついた誘導体を用いて調べ、ウォータープールの界面付近での溶媒和ダイナミクスは1ns程度で起こることを示した。装置開発では、パルスピッカーやマイクロチャンネルプレート導入により、時間分解能を最短35psまで向上させた。今まで種々の両親媒性のプローブ分子が開発されてきたが、本研究で合成した長鎖アルキル基のついたクマリン分子は、細胞膜などにおいて微視的極性を測定上で有用になるものと期待される。また、ピラニン（右図）を用いて、基底状態における酸塩基反応、励起状態におけるプロトン解離、さらに解離後の再結合反応などについて、制限空間効果を調べ、観測された制限空間効果について、微視的な誘電率や粘度の変化などにより説明した。



(2) 研究成果の今後期待される効果

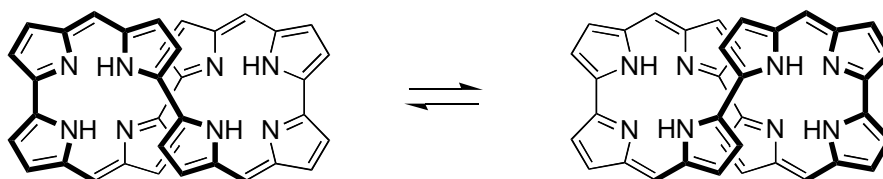
本研究で得られた液体・溶液のダイナミクスに関する実験結果はすべて理論的に説明がつかないわけではない。溶質分子の振動揺らぎを駆動する溶媒の運動は何か、電子状態の揺らぎと振動状態の揺らぎの相違点は何か、溶液中における水素結合性錯体の構造不均一性に関する詳細な情報は得られないかなど、理論家の助けを借りなければ解くことのできない問題である。これらは、溶媒分子の分極効果がダイナミクスに及ぼす影響など、溶液論・液体論の中心的な課題であるものを含む。今後、本研究の成果が多く理論的研究を刺激するものと期待している。

本研究で示した、波数分解ポンププローブ分光から分子間振動に関する新たな情報、すなわち、分子内高振動モードと分子間低振動モードの相関を調べることができることを示した。これは溶液中における錯体の構造の不均一性、つまり錯体構造の「やわらかさ」を表す一つの目安となりうる。現在、この研究は安息香酸二量体のみに応用されているが、例えば、安息香酸と溶媒分子の錯体や他の水素結合性錯体など、応用範囲は広い。一つ今後、この手法は、理論的な研究も含め、多くの系に適用されていくものと思われる。

3. 1-1 ポルフィリノイドを用いる分子認識化学（神戸大学 瀬恒グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

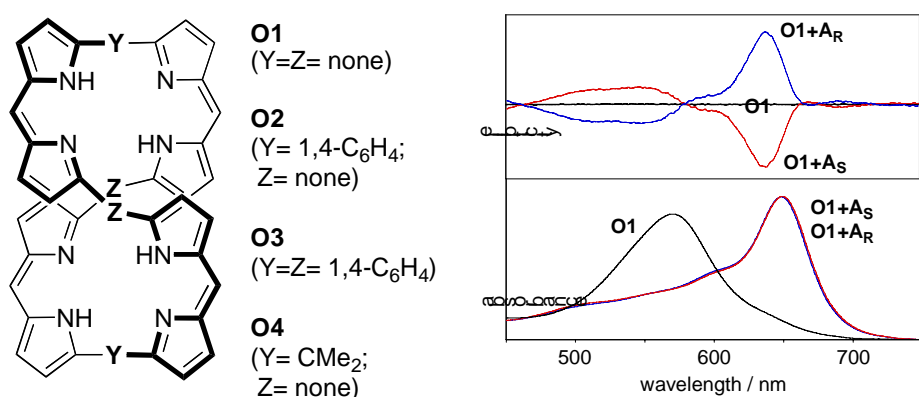
自己組織化をキーワードとする本研究領域では特に生体関連物質の関与する分子認識について基礎的知見を蓄積するとともにその応用の可能性を提示する事が重要なテーマである。アミノ酸や糖をターゲットとした分子認識の解析手段としてキラリティーを利用した新手法を開拓することを目的として研究を進めた。鍵となる新物質は我々がここ数年の間に開拓してきた環拡大ポルフィリンである。8個のピロールからなる大環状化合物であるオクタフィリンは8の字型の不斉ループ構造を有しており、その溶液中での安定性について検討を行った。この不斉ループ構造の反転メカニズムの解明はホスト-ゲスト相互作用を研究する上で極めて重要である。ピロールの β 位に種々のアルキル置換基を有するオクタフィリンを合成し、そのX線結晶構造解析を行ったところ、8の字ループの交差部位においてアルキル置換基が対面するピロール環との間でCH- π 相互作用を受けている事が明らかになった。一方、溶液中でのオクタフィリンの不斉ループ構造の反転は温度可変NMRを用いた実験によって明らかにすることができた。非常に興味深いことにピロールの β 位にメチル置換基やイソブチル置換基を有するオクタフィリンの場合には不斉ループ構造の反転が310K付近で遅くなったが、エチル置換基の場合には210Kでも反転がNMRタイムスケールに比べて速く起こっていることを見いだした。非平面の環状 π 共役系からなる8の字ループ構造の安定化に寄与する項として、1) π 共役系の共鳴エネルギー、2) 交差部位での π - π 相互作用、3) 交差部位でのCH- π 相互作用、4) 周辺置換基同士の立体反発が重要であることを明らかにした。



アミノ酸や糖のキラリティーを可逆的に転写することのできる新しい超分子システムとしてオクタフィリンを用いるならば、その相互作用をゲスト分子に固有のスペクトル領域の枠外、即ち、可視領域で観測することが可能となる。このことは、種々の生体分子が混在する生体系において、特定のゲストを鋭敏に検知できるという点で有益である。アミノ酸誘導体を始めとする光学活性カルボン酸によって環拡大ポルフィリン系分子システムがプロトン化を受け、可視吸収スペクトルが大きく変化すると同時に、その可視吸収バンドの位置に誘起CDシグナルを与えることを見いだした。環拡大ポルフィリン系分子がプロトン化されるだけではポルフィリン π 電子系に不斉は見られない筈であるので、共役塩基であるカルボキシレート部の不斉が π 電子系に転写されたことを示している。種々のカルボン酸を用いてその構造と誘起CDシグナルの形状との相関についてデータの蓄積を行った。ピロール8個からなるオクタフィリン **01** 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。下の図に示すように、(S)-(+)-ヘキサヒドロマンデル酸 **A_S** を添加するとその吸収スペクトルは580nm から640nm に大きな長波長シフトを示す。このプロトン化に伴い、630nm 付近に誘起CDシグナルが観測される。一方、その鏡像体(R)-(-)-ヘキサヒドロマンデル酸 **A_R** を添加すると誘起CDシグナルは反転することも確認した。これらの結果から、 α -ヒドロキシカルボン酸および α -メチルカルボン酸に関しては、**01** との錯体形成を利用することにより、640nm 付近の長波長領域に現れるコットン効果が+の場合はRの絶対配置、コットン効果が-の場合はSの絶対配置と決定できることを明らかにした。

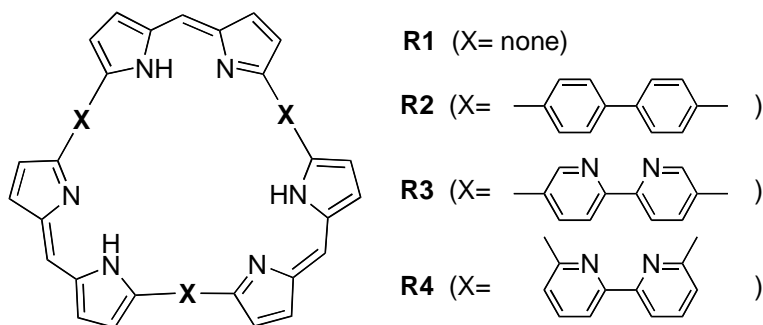
ところが、**01** にN-アシル置換アミノ酸誘導体を添加しても、プロトン化による吸収スペクトル変化は同様に観測されるが、CDスペクトルは殆ど観測されない。**01** と類似した8の字型の立体構造とより大きな分子内空洞を有する誘導体として、ベンゼン環をスペーサーとして2つ、および4つ導入したオクタフィリン **02**、**03** を新規に合成した。**02**、**03** 共に

N-アシル置換アミノ酸誘導体によるプロトン化を示す吸収スペクトル変化と同時に錯体形成に伴うCDスペクトルを観測することができたが、**03**に比べて**02**が格段に強い誘起CDスペクトルを与えた。**02**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は適度な環サイズの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。光学活性新規物質の絶対配置の決定については、従来の化学反応やX線結晶構造解析を用いる手法では対処できない場合が多く、微量のサンプルで簡単に絶対配置を決定できる超分子化学的手法は近年注目されており、合成ポリマーのらせん形成やポルフィリン2量体を用いる研究例がある。本研究の特徴はそのホスト分子の構造のユニークさに加えて、その優れた検出感度である。サブマイクロモルレベルの極微量でもCD検出が可能な場合があり、この特徴を更に強化することが今後の課題である。

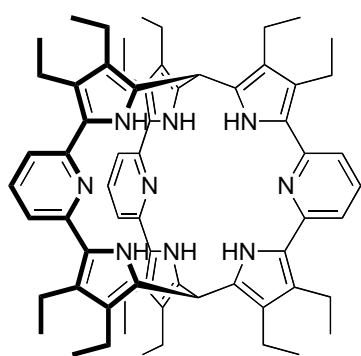


8の字ループの交差部位でπ共役系が切れている**04**の銅2核錯体についてはX線結晶構造解析と共に、光学分割をこ行うことが出来た。このX線構造を基にDFT計算を行い、UV-visスペクトルとCDスペクトルのシミュレーションを行った。実測のスペクトルとの比較から、最長波長に現れる1st コットンが+のエナンチオマーは右振れの8の字ループを持つ(*P, P*)型、1st コットンが-のエナンチオマーは左振れの8の字ループを持つ(*M, M*)型であることを明らかにした。この結果はコロンビア大学の中西教授らが開発したexciton chirality法を適用した場合の結果と一致するものであった。**04**に(S)-(+)-マンデル酸を加えたときに観測されるCDスペクトルは(*M, M*)型の**04**銅錯体のものと極めて類似しており、700nm付近の最長波長に現れる1st コットンが-を示すことを明らかにした。この結果から**04**と(S)-(+)-マンデル酸との錯体形成により、8の字ループ不斉構造が(*M, M*)型に偏ることが明らかになった。これにより構造機能相関を基にした分子デザインが可能となり、今後の環状ポルフィリンの不斉科学への展開が一層期待される。

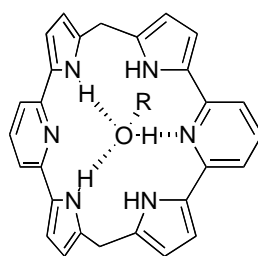
ピロール6個からなる拡張ポルフィリンであるロザリン**R1**は分子内空洞が小さく、生体関連分子にたいするホスト分子としては不適當であるが、ロザリンに特有のトリゴナルあるいはヘキサゴナルな立体構造を生かして、糖の錯体形成に展開できる可能性がある。大きな分子内空洞を有する誘導体として4,4'-ビフェニレン基、5,5'-(2,2'-ビピリジル)基、あるいは6,6'-(2,2'-ビピリジル)基をスペーサーとして3つずつ導入したロザリン誘導体**R2, R3, R4**を合成した。これらのロザリン誘導体とベンゼン-1,3,5-トリカルボン酸およびシクロヘキサンポリカルボン酸との錯体形成について検討した。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。



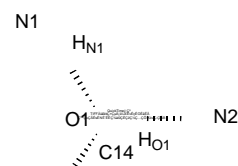
次に、J. M. Lehn によって開発されたクリプタンド分子を参考として、 C_{3h} 対称性を持つ 2 環性ポルフィリノイド **C1** をジピリルピリジンから合成することに成功した。このジピリルピリジンは我々が *Tetrahedron Lett.*, に昨年報告した新規合成法によって、ポルフィリノイドのビルディングブロックとして利用できるようになったものである。エタノール分子を捕捉した **C1** の X 線結晶構造解析から明らかになったように、**C1** はピロールの 2 つの NH プロトンとピリジンの窒素による 3 点捕捉により、水酸基あるいはカルボキシル基を捕捉するが、同等のバインディングサイトを 3 カ所有しており、お互いのサイトが電子的な共役によって影響を及ぼし合っている。即ち、ピロール NH プロトンへの水素結合はピロールからピリジンへの電子供与性を高め、結果的にピリジン窒素の塩基性を高める。同様に、ピリジン窒素への水素結合はピロールからピリジンへの電子吸引を促進し、結果的にピロール NH プロトンの酸性を増大させる。このような酸塩基相乗効果が同一バインディングサイト内ではなく、隣接するバインディングサイトとの間で起こるような構造的特徴を **C1** は有している。吸収スペクトルを用いた塩化メチレン中でのジクロロ酢酸の滴定曲線は正のアロステリック効果に特有のシグモイダルな形状を示し、その Hill プロットから平衡定数は 10^{12} のオーダーであることが明らかになった。また、NMR による滴定実験から、**C1** はカルボン酸との 1:3 錯体 **C1-(RCO₂H)₃** との平衡のみが観測され、1:1 錯体や 1:2 錯体を検出することはできなかった。このことから正のアロステリック効果が働いていることが明白である。正のアロステリック効果を人工分子で実現することは容易ではなく、超分子化学分野における最も重要な研究目標の一つとされている。その意味でここで開発したレセプター分子は注目すべき優れた機能を有しており、特に可視部に強い蛍光を持つという性質を利用すれば高感度センサーの開発が可能となると考えている。



C1



Partial X-ray structure of the ROH complex of **C1**



(2) 研究成果の今後期待される効果

環拡大ポルフィリノイドの化学は近年急速に発展してきているが、その分子機能の開発はいまだ端緒に終わったばかりである。その特異な分子構造には大きな可能性が秘められており、生体機能を解明する為の重要な基礎科学である分子認識や超分子化学の分野で今後大きな展開が予想される。本研究プロジェクトでは超分子錯体形成と exciton chirality

法を利用して、サブマイクロモルレベルの微量サンプルで光学活性物質の絶対配置を決定できるホスト分子の開発を行った。特に、20種の天然アミノ酸誘導体すべてに対して正確に絶対配置を決定できるオクタフィリン誘導体は実用性があり、今後の展開が期待される。本研究プロジェクトでは生体酵素系でしばしば見られるアロステリック効果について、極めて単純化した形でその構造的要因を例示することができた。アロステリック効果は非線形応答や選択的応答の科学という観点から、より広い分野に波及効果を持つコンセプトであり、人工分子系でこれを実現できたことは環拡大ポルフィリノイドの化学の展開に止まらない重要な意義をもっている。本研究で開発したホスト分子は水酸基の捕捉に適しているが、これを基にして立体化学的特徴を持つ複数の水酸基の捕捉に向けて論理的な分子デザインが可能となるので、糖に対するレセプターの開発も射程に入ってきたことを最後に付け加えたい。

3.2 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(神戸大学 富宅グループ)

(1)研究実施内容及び成果

I. 生体分子分光解析装置の試作、開発

(1) 電気スプレーイオン源の開発

ポリアミド、アミノ酸クラスターの構造形成における水和分子の役割を調べるために、電気スプレーイオン源とイオン導入部、及び水分子数の制御が可能な電気スプレーイオン源の製作を行った。プロトン化したトリプトファンやジペプチドの水和クラスターについて水和数を制御しながら生成することが可能になった。

(2) 温度可変イオントラップの開発

ここでは、ポリペプチドの水和構造とその温度依存性を研究するために、図1に示す室温から 10 K まで温度可変な 22 極型のイオントラップを試作した。またこのトラップに捕捉したイオンの構造を分光学的に調べる目的で、このイオントラップを組み込んだ分光解析装置を試作し、紫外および赤外レーザー分光解析装置を製作した(図2)。

図1 極低温温度可変イオントラップ

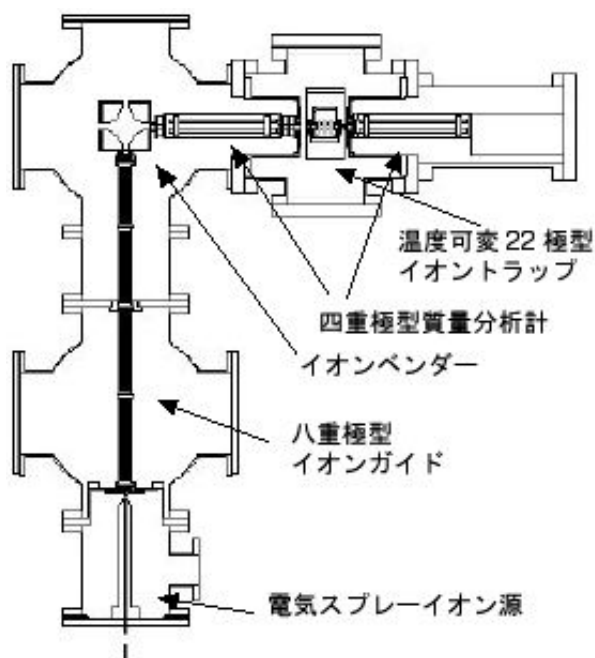


図2 生体分子分光解析装置

II. 鉄-プロトポルフィリンの電子状態と反応性の研究

金属イオンは生体分子に取り込まれ構造と反応性に大きな役割を果たしている。特にヘムタンパクでは鉄-プロトポルフィリンが活性中心となって、生体内の酸素の輸送に大きな役割を担っている。ここではこの活性中心の光励起緩和過程と安定性を検討するために、電気スプレーイオン法と光解離分光法を用いて以下の研究を行った。(1)ヘムタンパクの反応中心であるヘミン [鉄(III)-プロトポルフィリン] の β -解裂反応の動的機構を明らかにした。またこの反応の溶媒和過程を調べ、溶媒分子の結合エネルギーを決定すると共に、反応ダイナミクスに及ぼす溶媒の役割について、新しい知見を得た。(2)鉄-ポルフィリン錯体に軸配位子としてピリジンが付加したクラスターを生成し、光脱離過程を検討した。この結果、配位子の光脱離と β -解裂反応が協奏的に起こることを明らかにした。

III. アミノ酸、ペプチドの水和相互作用

生体分子の水和相互作用を分子レベルで解明するために、電気スプレーイオン源の開発を

行い、アミノ酸、ペプチドに 20 分子程度の水が配位したクラスターの生成を可能にした。また、これらのクラスターの衝突誘起解離過程を詳細に調べ、水和エネルギーのサイズ依存性を明らかにした。この結果、プロトン化したトリプトファンでは、グリシンに比べ、第一層の水和エネルギーが非常に小さいことが明らかになった。この結果は、プロトンが N 末端に付加し、分子内で水素結合を形成するためと解釈した。

IV. 生体関連分子の紫外・赤外分光研究

前述の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と紫外および赤外レーザー分光法を組み合わせ、室温から 22K 付近まで捕捉イオンの冷却が可能な分光装置を完成し、紫外および赤外波長領域で以下の研究を進めた。ここでは、光解離過程を利用して分光測定を行うため、第一段階として、アミノ酸、ジペプチドについて、光励起に伴う解離過程を詳細に調べた。この結果、プロトン化したジペプチドの水和クラスターについて、水和による環化反応の促進と溶媒へのプロトン移動反応等を新たに見出した。これらの結果を基にして、以下の分光研究を進めた。

(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。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 末端のアンモニウム基の相互作用が大きいことが明らかになった。

(2) 上記の系について、構造の理解をさらに深めるため、赤外光解離分光実験を行った。ここでは N-H 伸縮振動のスペクトルの測定により、 $(\text{Trp} \cdot \text{H}^+)$ で上記の分子内水素結合を示唆する、新しい結果を得た。

(3) 溶媒和プロトン化ペプチドの赤外光解離分光

幾何構造を実験的に検討するため、メタノールが溶媒和したプロトン化トリプトファン $\text{TrpH}^+(\text{CH}_3\text{OH})$ とジペプチド $\text{AlaTrpH}^+(\text{CH}_3\text{OH})$ の赤外光解離分光を行った。現在、スペクトルの解析と構造や赤外スペクトルの理論計算を行い、安定構造の検討を進めている。

(4) 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た。ここでは、光電子脱離エネルギーの観測により、二次構造の情報を得る新しい試みを行った。この結果、Ala 四量体の負イオンについて、双極子結合状態を見出し、構造の新たな知見を得た。

V. ペプチド類の解離過程の基礎研究

最近、タンパク質の構造決定に質量分析が広く使われており、電子の再結合を利用した解離過程の解析が、構造解析の有力な手法として発展してきている。この方法では、プロトン化した窒素部位に電子を再結合させ、引き続いて起こる解離過程の解析が行われ、この解離機構の理解が重要となっている。ここでは、解離初期過程と密接に関連したアンモニウムラジカルとそのメチル置換体について、分光測定および反応ダイナミクスを調べ、その電子構造とクラスター内での安定性を明らかにした。

VI. 溶媒和金属イオンクラスターの構造と反応性

生体分子の構造と関連深い Mg や Ca 原子とそのイオンの溶媒和過程について、ナノ秒、フェムト秒レーザーを駆使して構造と反応性の検討を行った。

(1) $\text{Mg}^+(\text{NH}_3)_4$ の励起状態の動的緩和過程および酸化反応の詳細な情報を得るために、 $\text{Mg}^+(\text{NH}_3)_4$ についてフェムト秒レーザーの基本波 (800 nm) を用いたポンプ-プローブ実験を行った。励起状態の寿命は 800 fs と得られ、溶媒和に伴う励起状態の非常に大きく安定化で、基底状態への無輻射過程の速度が非常に速くなっていることを明らかにした。また $\text{Mg}^+(\text{NH}_3)_4$ の励起後の内部転換と溶媒和構造の動的変化を含む吸収回復の信号変化を初めて観測し、時定数を決定した (1.2 ps)。

(2) $\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n$ 、 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{O})_n$ の幾何構造と電子構造

$\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n$ 、 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{O})_n$ の光イオン化過程を検討し、アルカリ金属原子の系と同様に、8個以上の水分子の配位によりイオン化ポテンシャルが 3.1 eV に収束することを新たに見出した。この結果は、金属原子のクラスター内で自発的イオン化により説明した。

(3) 溶媒和金属イオンクラスターの構造と反応性

生体分子の構造と関連深い Mg や Ca 原子とそのイオンの溶媒和過程について、レーザー分光法を駆使して構造と反応性の検討を行った。前年度に見出した $\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_n$ 、 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{O})_n$ の自発的イオン化を示唆するイオン化ポテンシャルの収束現象 (3.1 eV) を電子構造の視点から明らかにするために、光解離分光法を用いた電子スペクトルの測定を行い、金属原子の水クラスター内での溶解過程を明らかにした。

(4) 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で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。

(2) 研究成果の今後期待される効果

以上のように、本研究では生体分子の自己組織化と関連した構造形成に関わる研究を遂行した。特にペプチド類の水和相互作用の成果は、生体分子の構造形成の基礎的情報として、他分野の研究の基礎的情報となる。また、本研究で開発した分光解析装置は、気相イオンの温度制御を可能とするものであり、今後、生体分子の分光解析に基盤技術となると考えられる。

3. 3 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（神戸大学 鏑木グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

我々の研究グループでは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を明らかにすることを第一の目的として研究を進めてきた。一連の研究において主要なターゲットとして追求した膜タンパク質がチトクロム b561 である。

高等動物の神経内分泌に携わる神経線維の末端部には、神経伝達物質の合成・貯蔵・放出に携わる小胞が存在する。この小胞膜には膜貫通型チトクロム b561 を中心とする脳神経系内分泌組織特異的な電子伝達系が存在し、細胞質のアスコルビン酸から電子を受け取り、小胞内腔に存在する銅含有酸素添加酵素への電子伝達反応を媒介することが報告されていた。さらに、最近のゲノム研究の進展に伴い、チトクロム b561 は、動物のみならず植物、菌類、等、広く真核生物に存在し、一大タンパク質ファミリーを形成していることが分かかって来た。しかし、これら新しい b561 ファミリーのメンバーの研究は殆ど行われていない。そのため、これらの b561 が膜貫通電子伝達反応を行うのか、あるいはそれらの生理的役割が何なのか、全く解明されていない。本研究ではこのようなチトクロム b561 を始めとする生体膜を貫通する電子伝達反応の生理的意義とその電子伝達機構の詳細なメカニズムを明らかにすることを目的として行ってきた。

A. 動物クロマフィン小胞膜に存在するチトクロム b561 に関する研究成果

(1) ウシクロマフィン小胞より精製したチトクロム b561 とアスコルビン酸(AsA)、モノデヒドロアスコルビン酸(MDA)ラジカルとの電子伝達反応のストップフロー法による詳細な解析を行った。この解析により、アスコルビン酸から細胞質側へムへの電子伝達反応の機構モデル（協調的プロトン・電子伝達メカニズム）を提唱した。

(2) リポソーム小胞膜に精製した b561、小胞内腔にアスコルビン酸を埋め込んだプロテオリポソームを製作し、人工小胞外液中にドーパミンβ水酸化酵素を添加することにより b561 を経由する膜貫通電子伝達を起こさせ、外液中での神経伝達物質（オクトパミン）の生合成に成功した。

(3) Blue Native PAGE の手法を利用した二次元電気泳動と MALDI-TOF-MS を中心としたタンパク質化学解析により、クロマフィン小胞におけるタンパク質間相互作用の解析を行った。チトクロム b561 が小胞中においてどのようなタンパク質との相互作用をしている解析した。さらに、融合タンパク質として大腸菌で発現させたチトクロム b561 の C 末端部分をリガンドとしたアフィニティー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・同定しようと試みている。

B. 膜貫通型タンパク質のプロトタイプとしてのチトクロム b5 に関する研究成果

(1) 大腸菌での可溶型チトクロム b5 大量発現系を利用して得られた精製チトクロム b5 をモデルとして利用することにより、DEPC によるチトクロム b561 のヘム配位性 His 残基の特異的修飾と電子伝達の阻害機構を調べた。

(2) ブタミオグロビンのヘムポケット部位に変異を導入することにより両配位座ともに His 残基で占められた 6 配位ミオグロビン(VHA-Mb)を作製した。この変異体は、タンパク質構造は全く異なるが可溶型チトクロム b5 と非常に良く似たヘム配位構造をとると期待される。この VHA-Mb についても DEPC によるヘム配位性 His 残基との反応性を解析した。これらの解析により、チトクロム b561 においてアスコルビン酸から細胞質側へムへの電子伝達反応の機構モデル「協調的プロトン・電子伝達メカニズム」を提唱するための基礎的データを得た。

(3) 大腸菌での膜結合型チトクロム b5 の発現系構築に成功した。膜結合型を高純度に大量精製する方法を確立した。

(4) 小麦胚芽由来の無細胞タンパク質発現系を利用して、膜結合型チトクロム b5 及び可溶型チトクロム b5 の発現とヘムの効率的再構成の手法を確立した。

(5) 大腸菌を用いた大量発現系により得られた膜結合型ヒトチトクロム b5 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 b5 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 b5 が細胞内 ER 膜に結合しているチトクロム b5 と同一のトポロジーを持つことを確認した。この場合、自動的なり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。

(6) 膜結合型チトクロム b5 での実験成果によると、自動的なり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。この過程を詳細に検証する目的で、His-tag 付き膜結合形チトクロム b5 の大量発現系の構築と精製法の確立を試みている。さらに膜貫通部位にいろいろな変異、付加部分を導入した変異体の作製を現在行っている。

C. 植物トウモロコシ (*Zea mays*) チトクロム b561 に関する研究成果

(1) 植物トウモロコシ (*Zea mays*) に由来するチトクロム b561 cDNA 遺伝子を単離し、その安定な大量発現系 (野生型と His-tag 付き) をアルコール資化性酵母 *Pichia pastoris* において構築した。この発現系では、タンパク質の発現をメタノールの添加により誘導することが可能である。*Pichia pastoris* 細胞内には膜構造が発達しており、膜タンパク質の大量発現には非常に適していることが分かった。通常、250mL 程度の培養から 500 nmole 以上のチトクロム b561 が発現していることが確認できた。大量発現させたタンパク質の高純度精製方法の確立に成功した。

(2) 精製した野生型の EPR スペクトルを解析した結果、2 種類の異なる low-spin 形ヘムを含むことが確認された。アスコルビン酸によりすばやく還元され、stopped-flow 法による解析でもアスコルビン酸から速い電子受容を行うことが確認された。またアスコルビン酸存在下での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。これらの実験結果は植物のチトクロム b561 も動物チトクロム b561 と同様にアスコルビン酸に由来する膜貫通電子伝達反応を行っていることを明らかにすることとなった。さらに酸化型植物 b561 タンパク質を DEPC 処理すると、それに伴いアスコルビン酸由来の電子伝達反応が強く阻害されることが分かった。その化学修飾部位を MALDI-TOF-MS 解析により調べた結果、動物チトクロム b561 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。

(3) *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, K83D, R72A, R72E, R72D, Y71A, Y71F) の発現と精製に成功した。これらの変異の導入はヘム部位には殆ど影響を及ぼさず、可視吸収スペクトル上の変化は無いことが分かった。Lys83 部位での変異導入はいずれもアスコルビン酸からの電子受容に顕著な遅延、阻害を生ずることが分かった。それに対して、Arg72 部位の変異導入はわずかな阻害を生じたがその影響はかなり限定的であった。Tyr71 部位での変異導入はほとんど電子伝達に何の影響も示さなかった。

(4) 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保存性配列が動物、植物 b561 には存在する。この部位の変異体 S118A と W122A を作製し、発現・精製を行った。これら 2 つの変異体ではいずれも通常の可視吸収スペクトルを示し、アスコルビン酸からの電子伝達反応も野生型と変わらなかった。パルスラジオリシス法でモノデヒドロアスコルビン酸ラジカルへの電子伝達反応を調べたところこれも野生型と変わらなかった。高度保存性部位であるにも係わらず、変異導入が影響を与えなかったことについて、現在検討中である。

D. チトクロム b561 に密接に関連するタンパク質に関する研究成果

(1) プラナリアにおける神経ペプチドのアミド化反応を行う、銅含有する PHM 酵素の cDNA

クローニングとその中枢と末梢神経系における発現を詳細に解析した。その結果、PHM 酵素はチトクロム b561 と同一の部位に発現していることが明らかとなった。

(2) 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 b5 還元酵素 (b5R) の機能解析を行っている。まず、b5R の大腸菌での大量発現と精製方法の確立を行った。次の段階として、電子伝達反応上、重要と思われる部位の特異的変異体を作製し、反応速度論的手法を用いて解析した。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。

(2) 研究成果の今後期待される効果

(1) 膜タンパク質発現系としての 酵母 *Pichia pastoris* 系の有利性が明らかとなった。今回の研究成果として非常に重要である。今後、いろいろな膜タンパク質の発現を行う予定であるが、非常に効率的かつ安定な発現が期待できる。

(2) 我々は動物チトクロム b561 においてアスコルビン酸から細胞質側へムへの電子伝達反応の機構モデル「協調的プロトン・電子伝達メカニズム」を提唱しているが、同じ機構が植物チトクロム b561 においても機能していることを示した。この機構は b561 ファミリーに共通する機構である可能性が高い。

(3) ヒト第 3 染色体中の 3p21 バンドは肺癌・乳癌・腎癌などの多くの上皮癌で高頻度に欠失を起こしている。このためこの部位には癌抑制遺伝子が存在すると考えられている。この部位に存在する候補遺伝子・*101F6* 遺伝子が注目されている。最近、*101F6* 遺伝子産物が実はチトクロム b561 タンパク質ファミリーの一員であることが明らかとなった。しかし、この *101F6* 遺伝子が持つ顕著な癌増殖抑制作用の機構については全く研究されていない。*101F6* タンパク質はその膜貫通電子伝達反応を利用した細胞内シグナル伝達を行っている可能性が高い。現在、この *101F6* タンパク質をターゲットとした研究を行っているが、新たな研究領域が形成されることが期待される。

3. 4 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 (東京工業大学 松下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

タンパク質の三次元立体構造は基本的にはそのアミノ酸配列によって決まっている。その構造は実験的にはX線結晶構造解析やNMR測定から知ることができる。この構造を原子レベルで見ると唯一ではなく、無数の準安定構造が存在することが分かる。タンパク質は室温では絶えずその構造を変え、無数の準安定構造の間を揺らいでいる。このタンパク質の構造揺らぎはタンパク質の機能に深く関わっており、これを解明することはソフトナノマシンを設計するためにも重要である。

タンパク質単体ではなく、複数のタンパク質が自己組織化した複合体を形成して初めて機能を発揮している例として光合成アンテナ複合体を研究対象に、低温の単一分子分光を実験手段として、揺らいでいるタンパク質の瞬間瞬間の姿を明らかにすることを目的としている。

I. 装置開発 単一分子分光においては、信号光の強さ、即ち目的分子が単位時間に放出できる光子の数に上限がある。従って如何に信号以外の光、背景光を減らせるかが分解能の高いスペクトルを取る際の鍵となる。そのためには、(1) 目的分子以外の周辺部に出来るだけ励起光を当てないこと、(2) 検出器が観測する領域が目的分子を中心とする、出来るだけ小さな体積であること、の二つである。これら二つの要請を同時に満たす標準的な方法が、共焦点光学系であり、われわれもこれを採用している。画像取得は、液体ヘリウム中の試料を動かすのではなく、ビームスキャンの方法を採った。クライオスタットの外側の共焦点光学系にスキャンミラーとレンズ 2 枚を加えるだけで試料上の励起レーザーのスポットをスキャンできる。

当グループは 2002 年 4 月に発足し、装置を何も持たない状態だったので、低温用レーザー走査型共焦点蛍光顕微分光装置の製作から取り掛かった。検出する蛍光の波長について、まず技術が確立している近赤外の装置を立ち上げ、続いて二光子励起、あるいは一光子励起による可視・紫外域の蛍光を一分子レベルで検出できる装置を開発した。

《低温用レーザー走査型共焦点蛍光顕微分光装置 (1) 近赤外用》

この装置は光源に cw-TiS レーザーを用いている。試料はクライオスタットの中の約 5 l の液体ヘリウムの中に浸けられ、液体ヘリウムの減圧による沸点降下で温度は 1.5 K に保たれている。顕微光学系は回折限界に近い空間分解能を持ち、試料の発光の検出効率約 0.5%、発光の検出限界はおよそ 500 photon/sec でパワーにして 10^{-16} W のオーダーである。平成 14 年度に製作に着手し、15 年度に完成した。

《低温用レーザー走査型共焦点蛍光顕微分光装置 (2) 可視・紫外用》

低温での単一タンパク質分光は、最初に行われてから今に至るまでの約 10 年間、700 nm より長波長に発光を持つ植物のクロロフィルや光合成細菌のバクテリオクロロフィルの発光を用いた分光に限られていた。発光性の他のタンパク質、たとえば可視域で発光するフラビンタンパク質の一群についても低温の単一タンパク質分光を行うために開発したのがこの装置である。

光源は本プロジェクトで平成 16 年 5 月に導入された TiS フェムト秒モードロックパルスレーザーである。このフェムト秒近赤外レーザーを光源として多光子蛍光顕微分光装置を立ち上げた。単一分子検出を前提としているので共焦点光学系を組み、二光子蛍光検出のときの励起光と蛍光の間の色収差をなくすために、励起光と信号光に共通な部分にあるビームスキャン用の二枚のレンズを放物面鏡に置き換えた。放物面鏡を用いているが角度 1 度程度のビームスキャンには問題なく、 $f = 2.5$ mm の対物レンズで焦点面上 100 μ m 四方を走査することができる。平成 16 年度は室温で色素ビーズなどを観測し、ほぼ回折限界の像がえられた。平成 17 年度には液体ヘリウム温度で可視域で発光するタンパク質である AcGFP1 について、このタンパク質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(Fujiyoshi, et al. 投稿中)。

II. 研究対象 光合成の反応に必要なエネルギーを得るために、一つの反応中心の周りには100個以上の色素分子がタンパク質との複合体として配置されており、光捕集のためのアンテナとして働いている。色素・タンパク複合体は環状の膜タンパク質で、LH1とLH2の二種類が存在する。二つのうちLH1は環の内側に反応中心(RC)を含み、LH2はRCと直接接触を持たず、LH1の外側に存在する。研究はLH2を対象に行った。

LH2は二本のポリペプチド鎖と4~5個の色素分子からなるサブユニットが光合成膜中で9個自己組織化して出来上がった環状の複合体で、この中には850nm付近の吸収(B850バンド)を担う18個のバクテリオクロフィル*a*と、800nm付近の吸収(B800バンド)を担う別の9個のバクテリオクロフィル*a*が存在する。B850バンドへの光励起は18個の色素分子全体に拡がって励起子を形成するが、B800バンドへの光励起は9個のうちの一個にとどまる。

III. 研究内容・結果

(1) LH2の形状の環境依存性：脂質膜中のアンテナ複合体

LH2複合体の結晶のX線構造は円形であるが、これまでの単一分子分光から界面活性剤のミセル中ではLH2複合体は楕円に歪んでいることが分かっている。これは、LH2の構造が環境に敏感であることを物語っている。それでは実際にアンテナとして働いている光合成膜の中ではどんな構造を取っているのだろうか？LH2複合体の天然の環境での構造を調べるために、透析によってミセル中のLH2を脂質膜中に導入した。脂質にはdimyristoylphosphatidylcholine (DMPC)を用いた。脂質:LH2 = 600:1の試料ではLH2複合体は会合していたが、50000:1とするとLH2複合体を一個含む脂質膜断片が生成することが分かり、一分子分光が可能になった。

その後、測定する個体数を少しでも多くするために、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生成するように試料の調製条件を最適化した。

蛍光励起スペクトルの励起光の偏光依存性のデータから幾つかの励起子のスペクトルを抽出する過程に、解析する人の恣意性が入り込まないように工夫した。吸収波長と偏光方向が異なる5、6個の励起子状態が一つも分離せず全て重なり合っている場合、元の成分に完全に分離することは一般的には不可能である。しかしここでは一番信号強度の大きい $k = \pm 1$ 状態の偏光がほぼ直交しているという幸運のために、最も重要な、強度の強い二つの吸収成分の分裂幅 $\cdot E_{\pm 1}$ に関しては正しい統計を引き出せることが分かった。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は構造が異なり、脂質膜中ではより円に近く歪み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、脂質膜中で複数の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(Uchiyama, et al. 投稿準備中)。

(2) 単一複合体の発光励起スペクトルに見える異常な線形

LH2の発光励起スペクトルにはB850バンドの低エネルギー端にしばしば左右非対称な異常な線形が見られる。この領域には1ns程度の輻射寿命で基底状態に輻射失活する $k = 0$ 状態と、0.1ps程度の時定数で $k = 0$ に緩和する $k = \pm 1$ 状態の三つの状態が存在する。しかし、スペクトルはそれぞれの寿命を反映した三つのLorentz曲線の和にはなっていない。これは、 $k = \pm 1$ が $k = 0$ に緩和するために、両者が干渉しあってスペクトルの位相がずれ、吸収曲線に分散成分が混ざって非対称な線形を生み出しているためである。いわば、緩和が引き起こしたFano効果のようなものであるが、フォノンを介した緩和による励起子のコヒーレンスの乱れがスペクトルに現れたと見ることもできる。

(3) 単一複合体のスペクトルの温度変化

タンパク質の安定構造は無数にある。室温ではそれらの間を絶えず移り変わっているが、

測定を行っている 1.5 K では熱エネルギーが小さくポテンシャル障壁を越えられないため、基本的には一つの構造に固定されている。しかし数分に一回程度吸収波長が不連続に変化し、たんぱく質内部で何らかの環構造変化が起きている事を示している。9 個の独立した BChl *a* 分子の吸収線の集まりである LH2 の B800 バンドについて、1.5 K から徐々に温度を上げていきながら、同一の複合体のスペクトルを測定した。典型的には温度とともに各分子の吸収線の動きが活発になる。一種類の構造変化に別の種類の構造変化が重なって同時に起こっているのがしばしば見受けられ、ポテンシャルの多次元性や階層性を反映している。同じように幾つか複合体を測っていくと、5 K から 30 K まで、ほとんど動かないままの吸収線もある。

前者の典型的な例については、吸収波長の不連続な飛びの頻度を各温度で調べて Arrhenius プロットを取ることににより、数 kJ/mol の障壁を熱的に乗り越えた構造変化であることがわかった。後者については 5 K から 30 K まで温度変化せず、しかも数分に一回程度の遅いプロセスなので、プロトンのトンネリングによる移動に間違いないと考えられる。

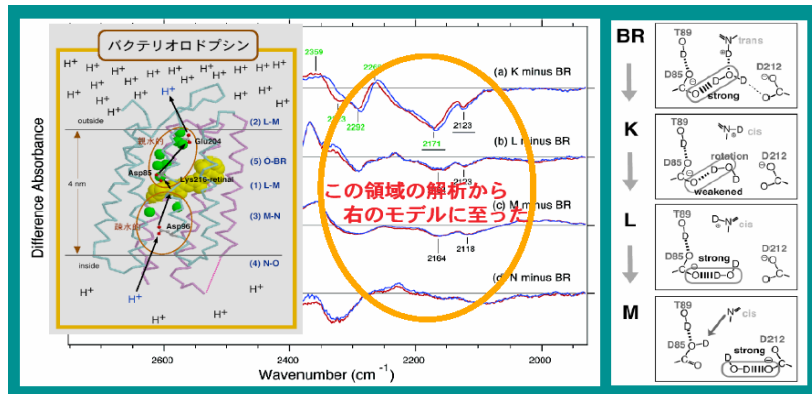
今後スペクトルの時間変化からより多くの情報を引き出すため、光を吸収している遷移双極子の配向の同時測定ができるよう、またより長時間の測定で一個のタンパク質についてより広い温度領域での挙動を調べられるよう、装置に手を加えている (Oikawa et al. 投稿中)。

LH2 複合体は名古屋工業大学南後研究室から提供していただいた。

(2) 研究成果の今後期待される効果

単一分子分光を手段とした本研究は、同じ物質が様々な形を取り得る場合に、いわゆる一分子観察の手法が有効であることを実証した。タンパク質など生体分子を構成要素として自己組織化した系の研究に欠くことのできない実験手法になるであろう。タンパク質が自己組織化した複合体について今回行った、構造の環境依存性と低温で見られる構造揺らぎについても、新たな環境や温度領域を調べることによって更なる展開が期待される。

低温赤外分光をバクテリオロドプシンの光反応中間体に適用し、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の水素結合変化を測定した。特に、プロトン移動が実際に起こる後期中間体に対する測定条件を確立し、負電荷に水和した



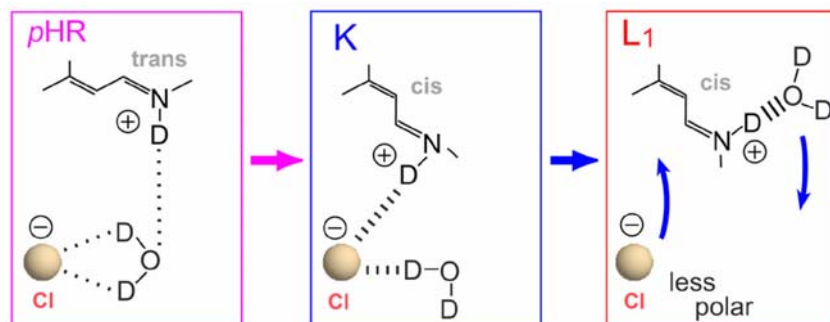
水分子がプロトン移動の過程でその水素結合をどのように変化させるのか、実験的に検討できる測定系を構築した。その結果、最初のプロトン移動に伴って、1個の内部結合水が水和構造を2つのアスパラギン酸の間で変化させることを見出した。我々が「水和スイッチモデル」と呼ぶプロトン移動のモデルは、蛋白質内部での具体的なプロトン移動のモデルとして、世界で最初のものとして位置付けることができる。さらに系統的なアミノ酸変異を導入することで、バクテリオロドプシン内部に存在する水分子の水素結合状態を、赤外の伸縮振動として完全に帰属することができた。

水分子の構造解析に加えて、蛋白質のアミノ酸側鎖として水素結合ネットワークに重要な寄与をするアルギニンに対して同位体標識を導入し、プロトンポンプ過程における水素結合変化を明らかにした。さらに13シス型のバクテリオロドプシンの構造変化や、活性中心の変異体 (D85S, D212N など) の実験を行い、光を吸収するレチナールシッフ塩基の部分に存在する水分子を含んだ水素結合ネットワークがプロトンポンプという機能に必要な不可欠な役割を演じていることを明らかにした。

【2】光駆動クロライドポンプ、ハロロドプシンの研究

光駆動プロトンポンプとしてエネルギー変換を実現するバクテリオロドプシンに対して、類縁蛋白質としてクロライドイオンをポンプするハロロドプシンの研究は、試料調製が困難であること、信号が小さいことなどの理由により遅れていた。我々は *Natromonas pharaonis* というバクテリアに由来するハロロドプシンを高い純度で精製することに成功し、水分子の信号を含む低温赤外スペクトルを高い精度で得ることができた。その結果、ハロロドプシンはプロトンポンプであるバクテリオロドプシンとは異なった内部結合水の水和構造をもつことを見出した。

さらに光駆動クロライドイオンポンプであるハロロドプシンのポンプ機構を明らかにするため、レチナールを結合するリシン側鎖に対する同位体標識試料を用いることでレチナールシッフ塩基の水素結合変化を明らかにした。その結果、水分子の水素結合変化と併せて、クロライドポンプに関する新しいモデルを提唱することができた。従来のモデルでは、レチナールの異性化反応が起こる結果、水素結合の受容体としてクロライドイオンが動くものと（ほとんど実験的な証拠なしに）信じられてきた。しかしながら、低温赤外分光実験をもとに我々が提唱したモデルでは、レチナールの異性化によって13シス型の水素結合受容体となるのはクロライドイオンではなく水分子であり、クロライドイオン周辺の環境が疎水的になる結果として、クロライドの駆動力が与えられる（右図）と結論した。 *Biochemistry*



誌に掲載されたこの論文は、米国化学会の Hot Article に選定された。

【3】機能転換したロドプシンの水素結合構造

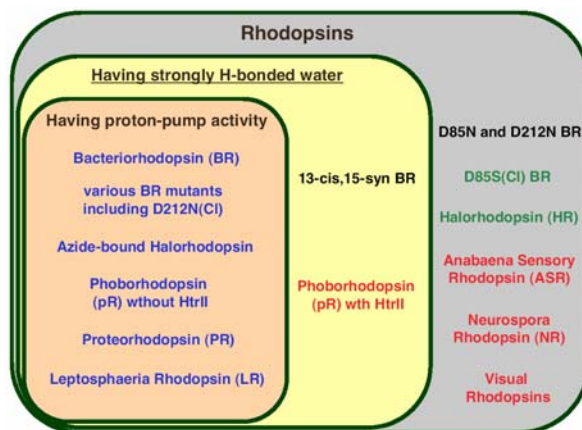
ロドプシンはプロトンポンプやクロライドポンプ、光センサーなど、それぞれに異なる機能をもっている。しかしながら、それぞれの構造が類似していることから想像されるとおり、わずかなアミノ酸の変異などで機能を転換できることも知られている。本研究では、1アミノ酸の変異でクロライドポンプに転換したバクテリオロドプシン、アジドの添加によりプロトンポンプに転換したハロロドプシンに対して低温赤外分光を適用し、これらの特異な水素結合構造を明らかにすることができた。

さらにバクテリオロドプシンの3つのアミノ酸を変えることにより、光センサーに機能転換できることが、米国のグループにより報告されたが、我々はそのグループとの国際共同研究により、3つのうちの1つのアミノ酸 (Thr204) が光信号を伝達するために必須であることを明らかにした。生物の進化の過程で、プロトンポンプから光センサーの1つが作製された可能性を示す発見であり、本研究の成果は、J. Biol. Chem. 誌の表紙を飾る論文に選ばれている (右図)。



【4】プロトンポンプ機能を決定する水分子の水素結合について

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。すなわち右図のように、種々のロドプシンが「水分子の水素結合構造」と「プロトンポンプ機能」を相関させる形で分類できることが明らかになったのである。この事実は、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を強く示唆するものである。



(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究では、バクテリオロドプシンおよび類縁蛋白質の水素結合ネットワークに対して、詳細な構造解析を行った。その結果、我々も驚いたことに、水分子などの水素結合強度の信号が、プロトンポンプという「機能」と相関することを見出した。これらの発見は、当初、計画したとおり、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的设计指針となることことができる。

このような応用面だけでなく、高度に秩序を持った自己組織化された系であるプロトンポンプの理解のため、赤外分光解析がきわめて強力なツールとなることを示すことができた。

3. 6 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 (分子科学研究所 斉藤グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

(1-1) 2次元赤外分光法による水分子間運動の解析

2次元赤外分光法 (2D IR) は系の電場に対する3次の応答を測定する分光法である (図1)。2D IR法は時間 t_1 と t_3 の間の運動の相関の待ち時間 (t_2) 依存性を解析することが可能な強力な分光法であり、近年さまざまな生物系や液体系を対象とした研究が進められている。水についても多くの実験および理論計算が行われているが、これらのすべては水分子の分子内 OH 伸縮振動を対象としている。これまで分子間振動に関する 2D IR 分光法の実験研究は行われていないが、分子間運動を解析することにより、水素結合ダイナミクスの情報を直接手にすることが可能となる。我々は、系に電場を入射する非平衡分子動力学計算で得られる軌道を用いて 2D IR スペクトルの計算を行い、そのスペクトルに水分子間運動の如何なる性質が反映されている解析を行った。

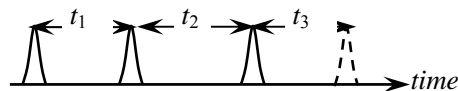


図1. 2次元赤外分光法における系と電場の相互作用

従来の水の OH 伸縮についての 2D IR スペクトルに対する理論的アプローチでは、熱浴の中に一つの振動子があるモデルに基づくものであり、ダイナミクスは振動数の揺らぎに由来すると仮定している。さらに、従来の理論的手法は振動数についてのガウス分布を仮定し、3次以上の相関(キュムラント)が無視されていた。我々は、系に電場を入射する非平衡分子動力学計算で得られる軌道を用いて3次の応答関数、2D IR スペクトルの計算を行った。

従来の水の OH 伸縮についての 2D IR スペクトルに対する理論的アプローチでは、熱浴の中に一つの振動子があるモデルに基づくものであり、ダイナミクスは振動数の揺らぎに由来すると仮定している。さらに、従来の理論的手法は振動数についてのガウス分布を仮定し、3次以上の相関(キュムラント)が無視されていた。我々は、系に電場を入射する非平衡分子動力学計算で得られる軌道を用いて3次の応答関数、2D IR スペクトルの計算を行った。

図2に水の分子間運動の 2D IR スペクトルを示す。図の $(\omega_1, \omega_3) \sim (750 \text{ cm}^{-1}, 800 \text{ cm}^{-1})$ の領域が水の平衡振モードの bleaching と stimulated emission、その下側の $(\omega_1, \omega_3) \sim (750 \text{ cm}^{-1}, 500 \text{ cm}^{-1})$ の領域が excited absorption のシグナルを表している。図2aに見られるように、 t_2 が小さいときはこれらのピークは対角線に沿った向きにねじれている。一方、 t_2 が長くなるとスペクトルは ω_1 軸と水平になっていることが分かる (図2b)。

系の揺らぎの時間スケールに比べて t_2 が短い場合には、周波数 ω_1 および ω_3 で表わされる時間 t_1 のおよび t_3 運動に相関が存在するために対角的なスペクトルとなり、一方、 t_2 が系の揺らぎの時間スケールよりも長くなると ω_1 と ω_3 の相関が失われスペクトルは横向きとなることを表している。さらに、スペクトルの傾きの時間変化から、約 115 fs の緩和時間であることが明らかとなった。このことから、水の平衡振運動が不均一的であるが、約 115 fs という非常に短い緩和時間で不均一性が失われることが明らかとなった。

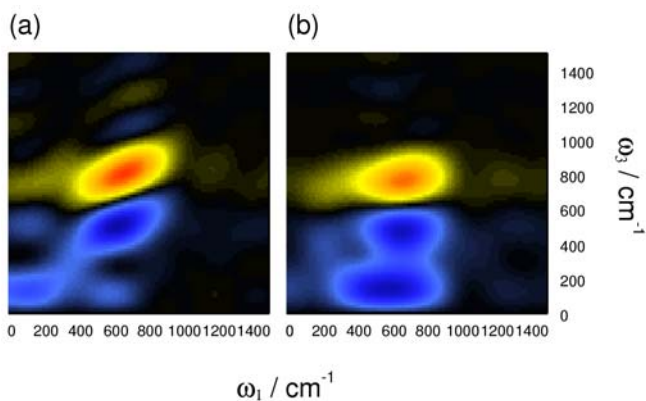


図2. 水の分子間運動の2次元赤外スペクトル. (a) $t_2 = 20 \text{ fs}$ (b) $t_2 = 200 \text{ fs}$.

大峰、田中による液体の水のポテンシャルエネルギー曲面の解析および我々の2次元ラマン分光法の結果から、水の分子間並進運動は平衡振運動よりも非調和が大きいことが知られている。さらに、2次元ラマン分光法の解析から並進運動と平衡振運動のカップリングの様相も解明されている。そこで、水の分子間並進運動を取り除いた水に対する 2D IR スペクトルの解析を行い、並進運動を凍結した場合には不均一喪失の時間スケールが約3倍も遅くなることを明らかにした。また、時間分解過渡回折格子法の計算を行い、分子間並進運動を凍結することによりスペクトル拡散が非常に小さくなることを明らかにした。このように、平衡振動における速い不均一性の減衰において、平衡振動に比べ2-3倍も遅い水

分子間の並進運動の大きな影響が明らかになった。

水の分子間運動の 2D IR スペクトルには $(\omega_1, \omega_3) \sim (600 \text{ cm}^{-1}, 100 \text{ cm}^{-1})$ に非対角ピークが見られる。このピークは $t_2 < 40 \text{ fs}$ の間は減衰し、その後は増加する。このピークの起源は t_2 の小さい場合と大きい場合で異なるが、待ち時間 t_2 が長い場合の非対角ピークの増加は平衡から並進への遷移と関係する。ピーク強度の解析から、振動エネルギー遷移がわずか $100 \sim 200 \text{ fs}$ の非常に速い時間スケールで起きていることが明らかになった。

以上のように、我々は平衡および非平衡分子動力学計算の結果から 3 時間応答関数をあらわに計算し、水分子間の 2 次元赤外分光法の解析を行った。今回の解析により、水の平衡振動には初期不均一性が見られるが、その不均一性の減少、すなわち「遅い周波数変調」から「速い周波数変調」への変化、が約 115 fs の非常に速い時間スケールで減少することを明らかにした。さらに、その速い緩和時間、大きなスペクトル拡散、エネルギー緩和機構における分子間並進運動の重要性を明らかにした。水中のさまざまな緩和現象が非常に高速であることが 80 年代から知られてきた。その高速ダイナミクスの起源は $500\text{--}1000 \text{ cm}^{-1}$ の高い振動数をもつ平衡振動によると考えられてきた。今回の解析により、水の溶媒としての重要な性質の 1 つである高速で高効率の緩和過程は、速い平衡振動が存在するだけでは不十分であり、時間スケールとしては平衡振動よりは遅い非調和性の強い並進運動の存在が不可欠であることを明らかにした。

(1-2) 細胞増殖の制御に関わる Ras の加水分解反応の解析

低分子量 G タンパク質スーパーファミリーは GDP、GTP と特異的に結合し、グアニンヌクレオチドの結合状態により 2 つの立体構造を取り、分子スイッチとして機能する。その中でも Ras は特にシグナル伝達タンパク質として働く。GTP と結合することにより活性型となった Ras は、エフェクターである他のタンパク質と結合しシグナルをより下流へと伝え、最終的には核へ到達し細胞増殖が起こる。GTP が加水分解反応により GDP とリン酸(Pi)に変換することにより、Ras は不活性型となりシグナル伝達を休止する。このように、Ras は細胞増殖の制御にかかわる重要なタンパク質であり、その突然変異体のいくつかは癌原遺伝子産物としてよく知られている。その制御に直接かかわる GTP の加水分解反応はこれまでの多くの実験・理論研究により調べられてきた。その結果、結晶構造解析から、Ras のスイッチ領域と呼ばれている部分は活性型、不活性型においてその領域の構造が異なっていること、ヌクレオチド結合ドメインの一部を含むことから反応に関わることが考えられてきた。

Ras における GTP の加水分解反応は GTPase-activating protein (GAP) とよばれるタンパク質が結合することにより加速されることが明らかになっており、生体における Ras の反応を調べるには GAP との結合による影響を考慮することが不可欠である。しかし、従来の計算機シミュレーションを用いた研究では、活性型と不活性型の間の構造の違いについて議論がなされてきたに過ぎない。

本研究では GAP との結合を考慮にいれ Ras における加水分解の反応機構の解析を行った。GAP との結合を経て起こる一連の反応は図 3 のように (1) 反応体である活性型、(2) GAP 結合型、(3) 加水分解反応直後の中間体型、(4) 生成物である不活性型の 4 状態間の遷移

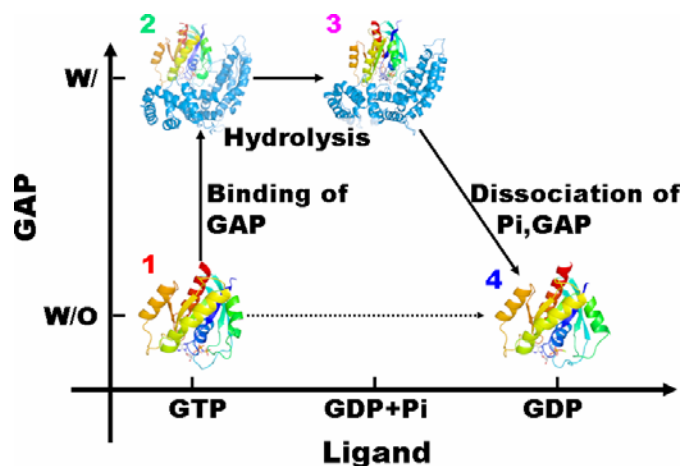


図 3. Ras の加水分解反応経路

本研究では GAP との結合を考慮にいれ Ras における加水分解の反応機構の解析を行った。GAP との結合を経て起こる一連の反応は図 3 のように (1) 反応体である活性型、(2) GAP 結合型、(3) 加水分解反応直後の中間体型、(4) 生成物である不活性型の 4 状態間の遷移

で表すことができる。活性型 (1)、GAP 結合型 (2)、不活性型 (4) の初期構造には、X 線構造解析により得られた構造を初期構造とし、加水分解直後の中間体 (3) に対しては最近の FT-IR の実験結果をもとにモデリングを行い、全原子モデル (parm03) を用いた分子動力学計算を行った。各構造におけるタンパク質の構造や揺らぎの違い、加水分解に関わるとされる水分子とそれに配位するアミノ酸残基との水素結合ネットワークの解析を行った。加水分解反応に直接関わる過程や水素結合構造ネットワーク構造の安定性に関する解析に関しては、電子状態計算 (QM/MM 法) による解析も行った。

状態 1 から 2 への GAP の結合により、Ras の Q61 の側鎖とアルギニンフィンガーとして知られる GAP の R789 の主鎖との間の水素結合とともに、Ras のスイッチ領域の酸性残基と GAP の塩基性残基との間で数本の塩橋が形成される。これらの塩橋において、酸性残基（とくに側鎖の長いグルタミン酸）では主鎖構造はあまり変化することなく側鎖が構造変化していることが明らかになった。また、スイッチ I の Y32 においては、主鎖構造の変化が見られるが、この変化は GAP の R789 と主鎖で水素結合する T785 による立体障害によることが明らかとなった。さらに、Ras-GAP 間の結合によるスイッチ領域の配位と構造の変化により、活性型でバルクの水で水和されていた GTP の γ リン酸基は Ras と GAP により囲まれ、GTP に配位している水分子が Q61 や γ リン酸基との水素結合により固定され、水分子の交換が抑制されていることが分かった。この結果は、GAP の結合により、加水分解に必要な水分子が GTP 近傍に固定され、さらに反応の障害となりうる揺動が抑えられることにより、加水分解反応を起しやすくなっていることを示している。また、主鎖 C 原子に対する平均二乗変位を計算した結果、GAP の結合によって Ras-GAP 結合領域における主鎖の揺らぎが抑えられていることも明らかにした。

状態 2 から 3 の加水分解反応により、GTP は GDP と Pi に分解される。時間分解 FT-IR を用いた最近の研究により、Pi と GDP が水素結合を形成した加水分解反応後の中間体構造が提案された。我々は、MD 計算さらに QM/MM 計算を用い、実験で提案された GDP と Pi が水素結合を持つような安定した中間体を作成することに成功した。その結果、加水分解反応により γ 位のリン酸基が Pi となるが、この中間状態では GDP/Pi と Ras、GAP との配位が状態 2 と同様に保持されており、原子間距離もあまり変化していないことが明らかになった。また、中間体状態 3 から不活性型状態 4 への変化にいたる Pi の解離には、水分子が活性サイトに進入し Pi を水和することが不可欠であるが、状態 3 では GAP や Ras に囲まれているため水分子が侵入していないことも明らかにした。

最後の段階 (3-4) では、GAP と Pi が Ras から解離し、Ras は GDP を結合した不活性型となる。Ras と Pi、GAP との間の結合 (塩橋、水素結合) が解消され、GDP はバルクの水と水和しスイッチ領域近傍の配位も大きく変化する。とくにスイッチ I の T35-Mg イオン間、スイッチ II の G60、Q61-Pi 間の結合が切れ、スイッチ領域とリガンドとの結合が解消される。これらの結合交替が大きな構造変化を引き起す。主鎖原子の揺らぎは再び大きくなり、スイッチ領域では大きな二次構造の違いが見られた。

現在、状態 2 から 3 への加水分解反応の遷移状態および状態 3 から 4 への Pi および GAP の解離反応の遷移状態の探索をも進めている。

以上のように、細胞増殖の制御に関わる Ras における GTP 加水分解反応に伴う構造変化や揺らぎに関する解析を行った。

(2) 研究成果の今後期待される効果

2 次元赤外分光法のような高度に先端的な分光法により得られた実験結果を解析するためには分子論的な理論解析が不可欠となる。本研究により 2 次元赤外分光法の理論計算手法を確立できたことにより水などの会合性液体の集団運動の動的挙動の解析ツールが完成し、今後、実験データの解析の一助となることが期待される。また、本研究では、2 次元赤外分光法に基づき水の分子間運動、すなわち、集団運動・揺らぎの解析を行い、その結果、高速で高効率の緩和過程に必要なチャンネルが並進運動により開かれることを明らかにした。水の分子間運動に対する 2 次元赤外分光法の実験研究はまだ行われていないが、水の平衡

運動に対するポンプ・プローブ分光法の実験などが進められており、近い将来、水素結合性液体をはじめとする会合性液体の分子間運動の動的揺らぎの実験解析への展開が期待される。

生体系における反応機構の解析を通して、Ras における GTP 加水分解反応に伴う構造変化や揺らぎに関する知見が得られた。このことは癌の発生（抑制）のメカニズムを知る上で非常に重要な進展である。また、Ras は低分子量 G タンパク質スーパーファミリーの代表的な例であり、これらのタンパク質の加水分解反応のメカニズムはタンパク質の配列情報などから共通であると考えられている。さらに、Ras と分子モーターなどいくつかの ATPase タンパク質の反応との共通性も指摘されている。これらのタンパク質は伝達、代謝、輸送など重要な生体機能を司っており、本研究の展開によってこれらの生体機能のメカニズムの解明に大きな発展が期待できる。

3. 7 機能発現における水とタンパク質の動的相関 (大阪大学 水谷グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

酵素で起きる反応においては、活性部位が反応の触媒として働いていると同時に、その残りの部分は媒質として反応が生理的に期待される方向へ起こるよう助けている。さらにタンパク質の立体構造は、溶媒である水から静的・動的両面において大きな影響を受けている。また、水分子はタンパク質を水和するだけでなく、タンパク質内部にも安定に存在し、タンパク質内水素結合ネットワークにも関与している。タンパク質と水和水とが動的にどのように結びついているかという問題は、生命活動における水の役割を考えるうえで大変重要である。本研究では、ヘムタンパク質のひとつであり基礎的データが揃っているミオグロビン (Mb) を対象として、高次構造変化と水和構造の変化の動的相関を調べる。その活性部位であるヘムでのリガンド脱離に伴い、高次構造と水和構造がどのように変化するかについて、スペクトル変化をピコ秒の時間刻みで追跡する。リガンド脱離に伴ってタンパク質が異方的に構造変化することに注目して、水和殻にある水分子のラマンスペクトルを選択的に抽出する。水和構造のダイナミクスと、紫外共鳴ラマン分光法から得られたタンパク質の構造ダイナミクスとを比較して、活性部位を取り巻く2つの媒質であるタンパク質と水とが、機能発現において動的にどのような相関関係を持っているかを明らかにする。

タンパク質高次構造ダイナミクスの検出にむけたピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光装置の製作

200-250 nm の紫外光を用いると、タンパク質中の芳香族アミノ酸残基や骨格のペプチド結合の共鳴ラマンスペクトルを観測できる。さらに、時間分解測定を行うことによって、スペクトル変化をもとに、タンパク質の動的な構造情報が得られる。しかし、ピコ秒紫外パルスを使った時間分解共鳴ラマン分光法は技術的に未開拓であり方法論の確立を要する。そこで、安定なピコ秒紫外パルス光源の開発、高スループットのフィルター分光器の製作の2点を中心に分光装置の開発を行った。

モード同期チタンサファイアレーザーおよび再生増幅器で構成されるレーザーシステムの出力を基に、第二高調波(波長 390-405 nm)を発生させ、これをポンプ光発生用および紫外プローブ光発生用に分割した。後者の光を 50 気圧のメタンガスもしくは水素ガスを封入したラマンシフターに集光し、誘導ラマン散乱を発生させた。この後、(1) 1 次ストークスラマン散乱光の第二高調波発生、(2) 1 次ストークスラマン散乱光とレーザー光の第二高調波との和周波発生の二通りの方法により、204-244 nm の範囲で連続的に波長可変なピコ秒の紫外プローブ光を発生させた。この広範囲の波長可変性は、共鳴効果を活用した部位選択的な観測が可能となる点でタンパク質の測定にはきわめて有効である。得られた紫外プローブ光の線幅は 16 cm^{-1} であり、紫外プローブ光と可視ポンプ光との相互相関幅は 2.3 ps であった。

タンパク質試料に紫外共鳴ラマン分光法を応用する場合、分子量が大きいことによる強いレーリー散乱光やトリプトファン蛍光が、測定上大きな問題となる。そこでこれらを効率的に除去するフィルターとして、プリズム型前置分光器を製作し、CCD 検出器を装着した主分光器前段に設置した。前置分光器には、大型の合成石英製リトロープリズムを用い、F 値を主分光器の値(4.0)に比べやや小さな値(3.5)とすることで集光効率を落とさないよう

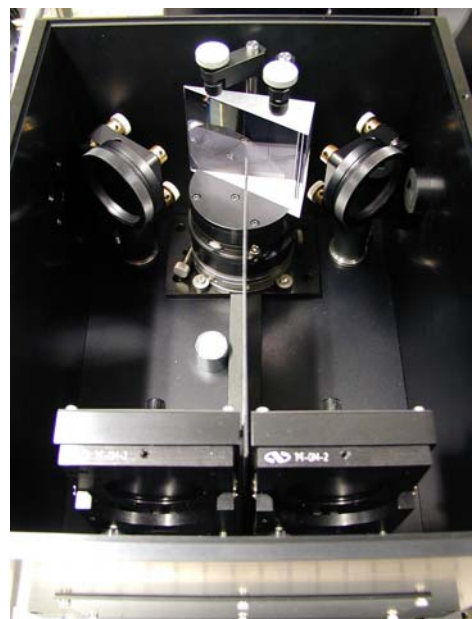


図1. 製作したフィルター前置分光器

にした。前置分光器のフィルターとしての性能を評価するために、主分光器の入射スリット幅を変えて、ヘモグロビン (Hb) の紫外共鳴ラマンスペクトルを測定したところ、レーリー散乱光や蛍光に起因する迷光が著しく低減されることがわかった。これによって、微弱なラマン散乱光を高感度で検出する検出系を製作することができた。

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

Hb はリガンドの脱着に伴い、大きな構造変化を起こし、それがリガンド親和性に協同性を生み出している。本研究では、Hb のサブユニットに構造が似た Mb を用い、新たに製作したピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光装置を使って、リガンド (一酸化炭素、CO) 脱離に伴うタンパク質の初期構造変化をとらえることを試みた。

得られたピコ秒時間分解紫外共鳴ラマンスペクトルを図 2 に示す。スペクトルにはトリプトファン (Trp) およびチロシン (Tyr) に由来するラマンバンドが観測された。CO の脱離後、これらのラマンバンドは強度減少を示した。図 2 では、CO 光脱離に伴うスペクトル変化を見やすいように、差スペクトルの形で時間分解スペクトルを示している。これらのバンドに強度変化がおこる原因は、リガンド

脱離後の過渡状態における、Trp や Tyr 残基周囲の局所的なタンパク質環境変化であると考えられる。W と表記した Trp 残基由来のラマンバンドは、1000 ps においても依然として明瞭な負のバンドが観測されるのに対して、Y と表記した Tyr 残基由来のラマンバンドは、100 ps 付近でほとんど強度が消失している。そこで強度変化を詳しく解析したところ以下の結果を得た。いずれの Trp のバンド強度も CO 脱離直後に装置応答時間内で減少し、その後時定数約 50 ps で増加した。Tyr のバンド強度は時定数 2 ps で減少した後に、時定数 8 ps でほぼ元の強度に回復した。この結果は Trp 残基と Tyr 残基近傍の局所的な環境変化が異なった速度で起きていることを示している。以上のように、このような部位特異的なダイナミクスの観測により、Mb について、ピコ秒の時間領域で起る二段階のタンパク質構造の変化をとらえることに初めて成功した。Mb は物理化学的に最もよく調べられているタンパク質のひとつであるが、タンパク質のピコ秒に起きる初期構造変化を部位特異的に観測したのは、これが初めての例である。さらに、Mb の人工変異体を用いた比較実験からスペクトル変化を示すアミノ酸残基を同定した。その結果、タンパク質部分の初期構造変化は、CO 脱離後 2 ps 以内に起きる F および E ヘリックスの変位であることを明らかにした。

これらの結果から、ヘムからタンパク質部分への構造変化の新たな伝播経路を提案した。すなわち、これまで考えられてきた、ヘムの構造変化が軸配位子であるアミノ酸残基を介してタンパク質部分の構造変化を誘起する経路以外に、ヘム結合リガンドとアミノ酸残基側鎖のコンタクトを介する新しい経路を新たに見出した。以上の内容は、Biochemistry 誌の accelerated publication に速報として掲載されたほか、Pro. Natl. Acad. Sci. USA 誌にフルペーパーとして掲載された。

次に、ここで観測されたタンパク質構造変化に応答した水和構造の変化を検出すること

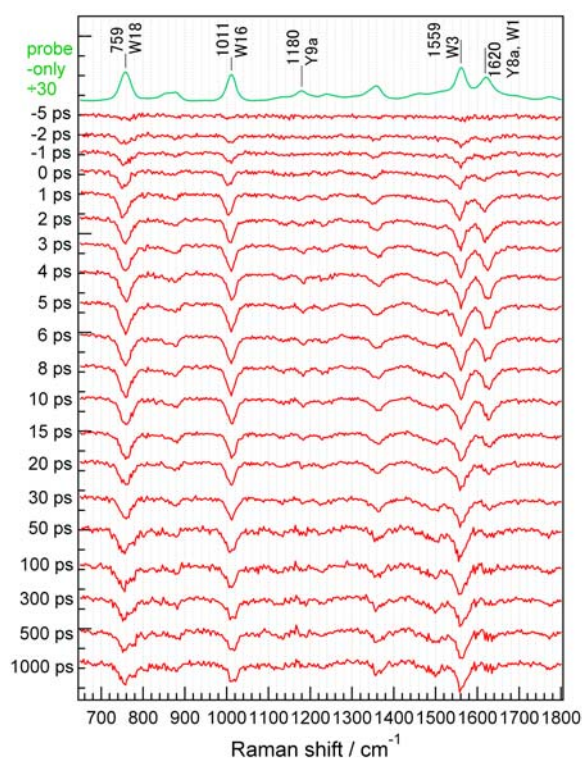


図 2. Mb の CO 脱離に伴うピコ秒時間分解紫外共鳴ラマンスペクトル

を試みた。水のラマンスペクトル変化から水和構造の変化を検出しようと試みたが、明瞭な変化は観測されなかった。これは水和水の寄与がバルクの水の寄与に埋もれてしまっているためだと考えられる。バルクの水分子の寄与をできるだけ抑え、水和殻の寄与を取り出す工夫が必要である。

ミオグロビン中の水素結合ネットワークとダイナミクス

Mb 中で、ヘムはプロピオン酸基によって周囲のアミノ酸残基および内部結合水とタンパク質分子内で水素結合ネットワークを形成している。本研究では、Mb の構造緩和およびエネルギー緩和におけるプロピオン酸基の影響について調べるために、ヘムの側鎖にプロピオン酸基をもたない再構成ミオグロビン(rMb)を調製し、天然 Mb とダイナミクスを比較した。

CO 脱離後、ピコ秒、ナノ秒の時間領域で起こるヘム周辺のタンパク構造の緩和は、ヘムとタンパク部分の水素結合ネットワークを切断することによって遅くなった。これはヘムプロピオン酸基を中心とした水素結合ネットワークが、タンパク質の協調的な運動に重要な役割を果たしていることを示唆している。また、水素結合の有無に依存する構造緩和は、タンパク質内のリガンド分子の拡散速度とも相関をもっており、機能との関連も興味深い。

アンチストークスラマンスペクトルをもとに、ヘムの振動エネルギー経路を調べた。アンチストークスラマン強度変化から緩和速度を求めたところ、rMb では Mb に比べて、緩和速度は遅いということが明らかになった。このことは、Mb のヘムの振動エネルギー緩和経路に、プロピオン酸基が関わっていることが示しており、ヘムから溶媒である水への直接の緩和経路が存在することを強く示唆している。本結果は最近複数の研究グループから独立に報告されたプロピオン酸基を経由した緩和機構を支持するものである。エネルギー緩和に関する内容は Chem. Phys. Lett. 誌に 2 報発表した。

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

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。Mb 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。一方、リガンド脱離後 10 ns においては大きなスペクトル変化が観測された。このことは Hb においても Mb と同様の構造変化が起きるものの、その速度は 3 桁近く遅いということを示している。これは Hb サブユニットを Mb の立体構造の高い類似性を考えると非常に意外でかつ重要な結果である。本研究から明らかになった初期構造変化の違いは、Hb の協同性発現を考えるうえで意義をもつと考えられる。

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 (YFP) 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。YFP 試料は同じ CREST 領域の代表を務める徳永史生教授 (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、この劣化の測定スペクトルへの影響を最小限に抑えるため、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 5 ml 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。また、膜厚の薄いフィルムを形成するため、共鳴ラマン散乱の自己吸収効果を減らすことができ、散乱光の集光効率が向上した。

得られたピコ秒時間分解紫外共鳴ラマンスペクトルでは、Tyr 残基由来のラマンバンド、Trp 残基由来のラマンバンドについてスペクトル変化が観測された。これらのスペクトル変化を基に、YFP のピコ秒からナノ秒にかけての構造変化の詳細を求めた。Tyr ラマンバンドの変化から、YFP の光励起後、発色団が励起状態に変化するに伴い、発色団と水素結合して

いる Tyr 残基との間の距離がいったん伸び、その後の光反応中間体への変化に伴い、再び距離が縮まるような構造変化が起きることが明らかになった。また、Trp ラマンバンドの変化から、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 J. Phys. Chem. B 誌に発表した。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究では、連続波長可変ピコ秒紫外パルス光源と高感度検出系をもつピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光計を世界に先駆けて製作した。現在この装置を用いて、チーム内の神取グループとバクテリオロドプシンの光反応初期過程におけるタンパク質構造ダイナミクスに関する共同研究を行っている。また、すでに稼動しているわれわれの時間分解可視共鳴ラマン分光計と併用することによって、タンパク質のさまざまな部位を特異的に観測することができる。さらに、タンパク質のペプチド骨格に共鳴したラマンスペクトル測定が可能のように、紫外の観測領域をより短波長側に拡張している。この拡張によって機能過程におけるタンパク質の骨格構造変化をピコ秒の時間分解能で観測することができる。これらの特徴は、ガスセンサータンパク質など多くのアロステリックタンパク質の構造ダイナミクス研究に活用することができる。タンパク質の構造変化と機能との相関解明への寄与が期待される。

4 研究参加者

研究グループ名：富永グループ（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の研究）

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
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	研究全般・総括、時間分解赤外分光及びテラヘルツ電磁波分光の開発とその実験、制限空間内における液体ダイナミクス	H14, 11～H20, 3
太田薫	神戸大学自然科学系先端融合研究環	助教	時間分解赤外分光及びテラヘルツ電磁波分光の開発とその実験	H14, 11～H20, 3
伴野元洋	神戸大学分子フォトサイエンス研究センター	助教	時間分解赤外分光及びテラヘルツ電磁波分光の開発とその実験	H18, 4～H20, 3
Md. Humayun Kabir	同上	CREST 研究員	時間分解赤外分光及びテラヘルツ電磁波分光の開発とその実験	H15, 6～H17, 3
Partha Dutta	同上	CREST 研究員	時間分解赤外分光及びテラヘルツ電磁波分光の開発とその実験	H19, 1～H20, 3
前川宏明	神戸大学大学院自然科学研究科	研究補助員	時間分解赤外分光の開発とその実験	H15, 4～H16, 3
岡阿佐子	神戸大学大学院自然科学研究科	日本学術振興会特別研究員	テラヘルツ電磁波分光の開発とその実験	H15, 6～H18, 3
瀬恒潤一郎	神戸大学大学院理学研究科	教授	ポルフィリン錯体を含む新規な生体関連金属錯体の合成と物性評価	H14, 11～H20, 3

研究グループ名：富宅グループ（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の研究）

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
富宅喜代一	神戸大学大学院理学研究科	教授	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	H14, 11～H20, 3

野々瀬真司	神戸大学大学院 自然科学研究科	助教授	金属イオンを含むク ラスタ・生体分子の 電子状態及び構造の 多様性	H14, 11～H16, 3
石川春樹	神戸大学大学院 理学研究科	准教授	金属イオンを含むク ラスタ・生体分子の 電子状態及び構造の 多様性	H17, 4～H20, 3

研究グループ名：鏝木グループ（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の研究）

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
鏝木基成	神戸大学大学院 理学研究科	教授	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	H14, 11～H20, 3
高田彰二	神戸大学理学部	助教授	分子動力学シミレー ションによるアロス テリック効果の分子 機構の解明	H15, 4～H16, 10

研究グループ名：神取グループ（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の研究）

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
神取秀樹	名古屋工業大学 工学部	教授	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	H14, 11～H20, 3
岩田達也	名古屋工業大学 工学部	日本学術振 興会特別研 究員	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	H16, 4～H20, 3
古谷祐詞	名古屋工業大学 工学部	助教	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	H16, 4～H20, 3
須藤雄気	名古屋工業大学 工学部	研究支援者	古細菌ロドプシン の光情報変換とエネ ルギー変換をもたら す構造的要因の解	H17, 4～H17, 9
柴田幹大	名古屋工業大学 工学部	日本学術振 興会特別研 究員	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	H18, 4～H20, 3
川鍋 陽	名古屋工業大学 工学部	D1	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	H18, 4～H20, 3
伊藤元博	名古屋工業大学 工学部	M2	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	H18, 4～H20, 3

井戸一智	名古屋工業大学 工学部	M2	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	H18, 4~H20, 3
山本渥史	名古屋工業大学 工学部	M2		H18, 4~H20, 3
吉次麻衣子	名古屋工業大学 工学部	M2		H18, 4~H20, 3
北出祐也	名古屋工業大学 工学部	M1		H19, 4~H20, 3
小山貴之	名古屋工業大学 工学部	M1		H19, 4~H20, 3
高橋はづき	名古屋工業大学 工学部	M1		H19, 4~H20, 3
中島啓介	名古屋工業大学 工学部	M1		H19, 4~H20, 3
橋本匡平	名古屋工業大学 工学部	M1		H19, 4~H20, 3
張宇	名古屋工業大学 工学部	M1		H19, 4~H20, 3

研究グループ名：松下グループ(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の研究)

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
松下道雄	東京工業大学理学部	准教授	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	H14, 11~H20, 3
藤芳暁	東京工業大学理学部	助教		H17, 4~H20, 3

研究グループ名：斉藤グループ(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の研究)

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
斉藤真司	分子科学研究所	教授	分子動力学計算による水の多様性と非線形分光の理論	H15, 4~H20, 3
矢ヶ崎琢磨	分子科学研究所	IMS フェロー		H18, 4~H20, 3

研究グループ名：水谷グループ(機能発現における水とタンパク質の動的相関の研究)

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
水谷泰久	大阪大学大学院 理学研究科	教授	機能発現における水 とタンパク質の動的 相関	H15, 4~H20, 3
佐藤亮	同上	CREST 研究員	ピコ秒紫外共鳴ラマ ン分光の開発とタン パク質の動的構造	H15, 10~H19. 6

5 招聘した研究者等

なし

6 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内誌 0 件、国際誌 87 件)

H15

1. K. Ohta, H. Maekawa, and K. Tominaga, "Vibrational Population Relaxation and Dephasing Dynamics of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ in D_2O with Third-Order Nonlinear Infrared Spectroscopy", *J. Phys. Chem. A* 108 (No. 8), 1333-1341 (2004).
2. K. Ohta, H. Maekawa, and K. Tominaga, "Vibrational Population Relaxation and Dephasing Dynamics of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ in Water: Deuterium Isotope Effect of Solvents", *Chem. Phys. Lett.* 386 (No. 1-3), 32-37 (2004).
3. S. Nonose, H. Tanaka, N. Okai, T. Shibakusa, and K. Fuke, "Structure and Reactions of Biomolecular Ions Produced with Electrospray Ionization", *Eur. Phys. J. D24*, 335-338 (2003).
4. N. Okai, A. Takahata, M. Morita, S. Nonose, and K. Fuke, "Ultrafast Relaxation Process of Excited-State NH_4 Radical in Ammonia Clusters", *J. Phys. Chem. A* 108, 727-733 (2004).
5. N. Okai, A. Takahata, and K. Fuke, "Electronic Structure, Stability, and Formation Dynamics of Hypervalent Molecular Clusters: $\text{CH}_3\text{NH}_3(\text{CH}_3\text{NH}_2)_n$ ", *Chem. Phys. Lett.* 386, 442-447 (2004).
6. M. Nakamura, F. Takeuchi, M. Tsubaki, "Cytochrome b561 is not fatty acylated but acetylated at the amino terminus in the chromaffin vesicle membranes: An approach for identification of the post-translational modification of transmembrane proteins", *Protoplasma* 221 (2003) 41-46.
7. T. Takigami, F. Takeuchi, M. Nakagawa, T. Hase, M. Tsubaki, "Stopped-flow analyses for the reaction of ascorbate with cytochrome b561 purified from bovine chromaffin vesicle membranes", *Biochemistry* 42 (2003) 8110-8118.
8. M. Tsubaki, T. Takigami, Y. Seike, F. Takeuchi, "Transmembrane electron transfer in the neuroendocrine vesicles: The ascorbate-cytochrome b561 system", *Curr. Topics Biochem. Res.* 5 (2003) 91-103.
9. M. Tsubaki, T. Takigami, Y. Seike, F. Takeuchi, "Transmembrane electron transfer catalyzed by cytochrome b561: Conserved properties and extending roles", *Rec. Res. Develop. Biochem.* 4 (2003) 39-52.
10. Y. Seike, F. Takeuchi, M. Tsubaki, "Reversely-oriented cytochrome b561 in reconstituted vesicles catalyzes transmembrane electron transfer and supports extravesicular dopamine β -hydroxylase activity", *J. Biochem.* 134 (2003) 859-867.
11. F. Takeuchi, H. Hori, E. Obayashi, Y. Shiro, M. Tsubaki, "Properties of two distinct heme centers of cytochrome b561 from bovine chromaffin vesicles: Redox titration, EPR, and resonance Raman studies", *J. Biochem.* 135 (2004) 53-64.
12. M. Shibata, T. Tanimoto and H. Kandori, "Water Molecules in the Schiff Base Region of Bacteriorhodopsin", *J. Am. Chem. Soc.* 125, 13312-13313 (2003).
13. T. Iwata, D. Nozaki, S. Tokutomi, T. Kagawa, M. Wada and H. Kandori, "Light-Induced Structural Changes in the LOV2 Domain of Adiantum Phytochrome3 Studied by Low-Temperature FTIR and UV-Visible Spectroscopy", *Biochemistry* 42, 8183-8191 (2003).

14. T. Tanimoto, Y. Furutani and H. Kandori, "Structural Changes of Water in the Schiff Base Region of Bacteriorhodopsin: Proposal of a Hydration Switch Model", *Biochemistry* **42**, 2300-2306 (2003).

H16

1. T. Satoh, H. Okuno, K. Tominaga, and K. Bhattacharyya, "Excitation Wavelength Dependence of Solvation Dynamics in a Water Pool of a Reverse Micelle", *Chem. Lett.* **33** (No. 9), 1090-1091 (2004).
2. H. Maekawa, K. Ohta, and K. Tominaga, "Spectral Diffusion of the Anti-Symmetric Stretching Mode of Azide Ion in a Reverse Micelle Studied by Infrared Three-Pulse Photon Echo Method", *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6** (No. 16), 4074 – 4077 (2004).
3. H. Maekawa, K. Ohta, and K. Tominaga, "Vibrational Population Relaxation of the -N=C=N- Anti-Symmetric Stretching Mode of Carbodiimide Studied by Infrared Transient Grating Method", *J. Phys. Chem. A* **108**, 9484-9491 (2004).
4. T. Uemura, S. Saito, Y. Mizutani, and K. Tominaga, "Isotope Dilution Effect on the Hydroxyl Stretch Bands of Alcohols", *Mol. Phys.* **103**, 37-44 (2005).
5. H. Maekawa, K. Ohta, and K. Tominaga, "Vibrational Dephasing of the -N=C=N- Anti-Symmetric Stretching Mode of Carbodiimide Studied by Infrared Photon Echo Method", *J. Mol. Struct.* **735-736**, 135-143 (2005).
6. N. Zhavoronkov, H. Maekawa, H. Okuno, and K. Tominaga, "All-Solid-State Femtosecond Laser System for Variable Multi-kHz Operation", *J. Opt. Soc. Am. B* **22** (No. 3), 567-571 (2005).
7. J. Setsune, and T. Yoshida, "Synthesis and Properties of Metal Complexes of Expanded Porphyrins", *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 8/4-6, 485, 2004.
8. N. Okai, A. Takahata, and K. Fuke, "Electronic Structure, Stability, and Formation Dynamics of Hypervalent Molecular Clusters: $\text{CH}_3\text{NH}_3(\text{CH}_3\text{NH}_2)_n$ ", *Chem. Phys. Lett.* **386**, 442-447 (2004).
9. F. Takeuchi, H. Hori, E. Obayashi, Y. Shiro, and M. Tsubaki, "Properties of two distinct heme centers of cytochrome *b561* from bovine chromaffin vesicles: Redox titration, EPR, and resonance Raman studies", *J. Biochemistry* **135**, 53-64 (2004).
10. A. Asada, H. Orii, K. Watanabe, and M. Tsubaki, "Planarian peptidylglycine-hydroxylating monooxygenase, a neuropeptide processing enzyme, colocalizes with cytochrome *b561* along the central nervous system", *FEBS Journal*, **272**, 942-955 (2005).
11. D. Nozaki, T. Iwata, T. Ishikawa, T. Todo, S. Tokutomi and H. Kandori, "Role of Gln1029 in the photoactivation processes of the LOV2 domain in *Adiantum* phytochrome3", *Biochemistry* **43**, 8373-8379 (2004).
12. M. Shibata, N. Muneda, K. Ihara, T. Sasaki, M. Demura and H. Kandori, "Internal water molecules of light-driven chloride pump proteins", *Chem. Phys. Lett.* **392**, 330-333 (2004).
13. T. Tanimoto, M. Shibata, M. Belenky, J. Herzfeld and H. Kandori, "Altered hydrogen bonding of Arg82 during the proton pump cycle of bacteriorhodopsin: A low-temperature polarized FTIR spectroscopic study", *Biochemistry* **43**, 9439-9447 (2004).
14. S. Hayashi, E. Tajkhorshid, H. Kandori and K. Schulten, "Role of hydrogen-bond network in energy storage of bacteriorhodopsin's light-driven proton pump revealed by *ab initio* normal-mode analysis", *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 10516-10517 (2004).

H17

1. K. Yamamoto, Md. H. Kabir, M. Hayashi, and K. Tominaga, "Low-Frequency Spectra of the Hexamethylbenzene/Tetracyanoethylene Electron Donor-Acceptor Complexes in Solution Studied by Terahertz Time-Domain Spectroscopy", *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7**, 1945-1952, (2005).
2. P. Sen, T. Satoh, K. Bhattacharyya, and K. Tominaga, "Excitation Wavelength Dependence of Solvation Dynamics of Coumarin 480 in Dimyristoyl-phosphatidylcholine Vesicle", *Chem. Phys. Lett.* **411**, 339-344 (2005).
3. K. Yamamoto, K. Tominaga, H. Sasakawa, A. Tamura, H. Murakami, H. Ohtake, and N. Sarukura, "Terahertz Time-Domain Spectroscopy of Amino Acids and Polypeptides", *Biophys. J.* **89**, L22-L24 (2005).
4. H. Maekawa, K. Ohta, and K. Tominaga, "Vibrational Dynamics in Liquids Studied by Nonlinear Infrared Spectroscopy", *Res. Chem. Intermed.* **31**, 703-716 (2005).

5. "Terahertz Time-Domain Spectroscopy of Sulfur-Containing Biomolecules", K. Yamamoto, Md. H. Kabir, and K. Tominaga, *J. Opt. Soc. Am. B* **22**, 2417-2426 (2005).
6. M. Tsubaki, F. Takeuchi, and N. Nakanishi, "Cytochrome b561 Protein Family: Expanding Roles and Versatile Transmembrane Electron Transfer Abilities as Predicted by a New Classification System and Protein Sequence Motif Analyses", *Biochim. Biophys. Acta*, **1753**, 174-190 (2005).
7. F. Takeuchi, H. Hori, and M. Tsubaki, "Selective Perturbation of the Intravesicular Heme Center of Cytochrome b561 by Cysteinylation with 4,4'-Dithiodipyridine", *J. Biochem.* **138**, 751-762 (2005).
8. H. Kandori, H. Nakamura, Y. Yamazaki and T. Mogi, "Redox-induced Protein Structural Changes in Cytochrome bo Revealed by Fourier-transform Infrared Spectroscopy and ¹³C-Tyr-labeling", *J. Biol. Chem.* **280**, 32821-32826 (2005).
9. Jun-ichiro Setsune, Aki Tsukajima, and Junko Watanabe, "Synthesis of isocorrole and the higher homologues", *Tetrahedron Letters*, 2006, **47**, 1817-1820.
10. Nobuhiro Okai, Shinji Yoshida, Kengo Aranishi, Akihiro Takahata, and Kiyokazu Fuke, "Multiphoton Ionization and Oxidation Processes of Mg-Ammonia Clusters", *Phys. Chem. Chem. Phys.* **7**, 921-929 (2005).
11. Shinji Nonose, Sakie Iwaoka, Keisuke Mori, Yohei Shibata, and Kiyokazu Fuke, "Structures and Reactions of Hydrated Biomolecular Cluster Ions", *Europ. Phys. J. D.* **34**, 315-319 (2005).
12. Akimasa Fujihara, Chiyoko Miyata, and Kiyokazu Fuke, "Microscopic Dissolution Process of Na₃ in Water Clusters", *Chem. Phys. Lett.* **411**, 345-349 (2005).
13. A. Asada, H. Orii, K. Watanabe, and M. Tsubaki, "Planarian peptidylglycine-hydroxylating monooxygenase, a neuropeptide processing enzyme, colocalizes with cytochrome b561 along the central nervous system", *FEBS Journal* **272**, 942-955 (2005).
14. D. Nozaki, T. Iwata, S. Tokutomi and H. Kandori, "Water Structural Changes in the Activation Process of the LOV2 Domain of Adiantum Phytochrome3", *J. Mol. Struct.* **735/736**, 259-265 (2005).
15. Y. Sato, T. Iwata, S. Tokutomi and H. Kandori, "Reactive Cysteine is Protonated in the Triplet Excited State of the LOV2 Domain in Adiantum Phytochrome3", *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 1088-1089 (2005).
16. M. Shibata and H. Kandori, "FTIR Studies of Internal Water Molecules in the Schiff Base Region of Bacteriorhodopsin", *Biochemistry* **44**, 7406-7413 (2005).
17. T. Iwata, D. Nozaki, S. Tokutomi and H. Kandori, "Comparative Investigation of the LOV1 and LOV2 Domains in Adiantum Phytochrome3", *Biochemistry* **44**, 7427-7434 (2005).
18. D. Nozaki, T. Iwata, S. Tokutomi and H. Kandori, "Unique Temperature Dependence in the Adduct Formation between FMN and Cysteine S-H Group in the LOV2 Domain of Adiantum Phytochrome3", *Chem. Phys. Lett.* **410**, 59-63 (2005).
19. T. Iwata, S. Tokutomi and H. Kandori, "Mechanism of Photoactivation in the LOV2 Domain of Adiantum Phytochrome3", *Recent Res. Devel. Biochem.* **6**, 1-26 (2005).
20. Akira Sato and Yasuhisa Mizutani, "Picosecond Structural Dynamics of Myoglobin following Photodissociation of Carbon Monoxide As Revealed by Ultraviolet Time-Resolved Resonance Raman Spectroscopy", *Biochemistry* **44**, 14709-14714 (2005).
21. Hitomi Sawai, Masatomo Makino, Yasuhisa Mizutani, Takehiro Ohta, Hiroshi Sugimoto, Tadayuki Uno, Norifumi Kawada, Katsutoshi Yoshizato, Teizo Kitagawa, and Yoshitsugu Shiro, "Structural Characterization of the Proximal and Distal Histidine Environment of Cytochrome b561 and Neuroglobin", *Biochemistry* **44**, 13257-13265 (2005).
22. Shigenori Nagatomo, Masako Nagai, Yasuhisa Mizutani, Takashi Yonetani, Teizo Kitagawa, "Quaternary Structures of Intermediately Liganded Hemoglobin and Influences from Strong Effectors; Resonance Raman Investigation", *Biophys. J.* **89**, 1203-1213 (2005).

H18

1. 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.
2. 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).
 3. 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).
 4. 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).
 5. 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).
 6. 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).
 7. J. M. Lintuluoto, K. Nakayama, and J. Setsune, “Direct determination of absolute configuration of carboxylic acids by cyclooctapyrrole”, *Chem. Commun.*, 2006, 3492-3494.
 8. 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).
 9. 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).
 10. 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).
 11. 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.
 12. 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).
 13. 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).
 14. 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).
 15. 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).
 16. 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).
 17. 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).
 18. Mai Koyama, Saburo Neya and Yasuhisa Mizutani, "Role of heme propionates of myoglobin in vibrational energy relaxation", *Chem. Phys. Lett.*, **430**, 404-408 (2006).
 19. 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.
 20. 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.
 21. J. Setsune, A. Tsukajima, and J. Watanabe, “Synthesis and Chiroptical Property of

- C2-Symmetric Cyclohexapyrrole”, *Tetrahedron Lett.* **48**, 1531-1534, 2007.
22. 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).

H19

1. D. Ikeda, Y. Furutani and H. Kandori, "FTIR Study of the Retinal Schiff Base and Internal Water Molecules of Bacteriorhodopsin", *Biochemistry* **46**, 5365-5373 (2007).
2. Y. Sudo, Y. Furutani, J. L. Spudich, and H. Kandori, "Early Photocycle Structural Changes in a Bacteriorhodopsin Mutant Engineered to Transmit Photosensory Signals", *J. Biol. Chem.* **282**, 15550-15558 (2007).
3. T. Iwata, A. Yamamoto, S. Tokutomi and H. Kandori, "Hydration and temperature similarly affect light-induced protein structural changes in the chromophoric domain of phototropin", *Biochemistry* **46**, 7016-7021 (2007).
4. M. Shibata, M. Yoshitsugu, N. Mizuide, K. Ihara and H. Kandori, "Halide Binding by the D212N Mutant of Bacteriorhodopsin Affects Hydrogen Bonding of Water in the Active Site", *Biochemistry* **46**, 7525-7535 (2007).
5. A. Kawanabe, Y. Furutani, K.-H. Jung and H. Kandori, "Photochromism of Anabaena Sensory Rhodopsin", *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 8644-8649 (2007).
6. Yusuke Hiruma, Akihiro Kikuchi, Atsunari Tanaka, Yoshitsugu Shiro, and Yasuhisa Mizutani, "Resonance Raman Observation of the Structural Dynamics of FixL on Ligand Recognition and Signaling", *Biochemistry* **46**, 6086-6096 (2007).
7. Misao Mizuno, Norio Hamada, Fumio Tokunaga, and Yasuhisa Mizutani, "Picosecond Protein Response to the Chromophore Isomerization of Photoactive Yellow Protein: Selective Observation of Tyrosine and Tryptophan Residues by Time-Resolved Ultraviolet Resonance Raman Spectroscopy", *J. Phys. Chem. B* **111**, 6293-6296 (2007).
8. Akira Sato, Ying Gao, Teizo Kitagawa, and Yasuhisa Mizutani, "Primary protein response after ligand photodissociation in carbonmonoxy myoglobin", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 9627-9632 (2007).
9. K. Ohta and K. Tominaga, "Vibrational Population Relaxation of Hydrogen-Bonded Phenol Complexes in Solution: Investigation by Ultrafast Infrared Pump-Probe Spectroscopy", *Chem. Phys.* **341**, No. 1-3, 310-319 (2007).
10. S. Hirai, M. Banno, K. Ohta, D. K. Palit, and K. Tominaga, "Vibrational Dynamics of the CO Stretching Mode of 9-Fluorenone in Alcohol Solution", *Chem. Phys. Lett.* **450**, 44-48 (2007).
11. A. Fujihara, C. Miyata, A. Maekawa, K. Fuke, K. Daigoku, N. Murata, and K. Hashimoto, "Hydration Process of Na₂ in Small Water Clusters: Photoelectron Spectroscopy and Theoretical Study of Na₂-(H₂O)_n", *J. Phys. Chem. A* **111**, 7364 - 7373 (2007).
12. Y. Furutani, K. Ido, M. Sasaki, M. Ogawa, and H. Kandori, "Clay Mimics Color Tuning in Visual Pigments", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 8010-8012, (2007).
13. Nobuyuki Nakanishi, Fusako Takeuchi F, Motonari Tsubaki, "Histidine cycle mechanism for the concerted proton/electron transfer from ascorbate to the cytosolic heme b center of cytochrome b561: A unique machinery for the biological transmembrane electron transfer", *J Biochem. (Tokyo)*, **142**, 553-560 (2007).
14. J. Setsune, and K. Watanabe, "Cryptand-like Porphyrinoid Assembled with Three Dipyrrolylpyridine Chains: Synthesis, Structure, and Homotropic Positive Allosteric Binding of Carboxylic Acids", *J. Am. Chem. Soc.* 2008, in press (Web Release Date: 05-Feb-2008; (Communication) DOI: 10.1021/ja710424n).
15. A. Fujihara, H. Matsumoto, Y. Shibata, H. Ishikawa, and K. Fuke, "Photodissociation and Spectroscopic Study of Cold Protonated Dipeptides.", *J. Phys. Chem. A*, **112**, pp 1457 - 1463 (2008).

(2) その他の著作物 (総説、書籍など) (23 件)

H15

1. K. Ohta, H. Maekawa, and K. Tominaga, "Vibrational Dynamics in Liquids Studied by Infrared Nonlinear Spectroscopy", Proceedings of TSRP (Trombay Symposium on Radiation &

- Photochemistry)-2004, vol. 1, pp. 24-27 (2004).
2. H. Maekawa, K. Ohta, and K. Tominaga, "Vibrational Dynamics of the OH Stretching Mode of Water in Reverse Micelles", "Studied by Infrared Nonlinear Spectroscopy", *Materials Research Society Symposium Proceedings* Vol. 790, ed. by J.T. Fourkas, P. Levitz, M. Urbakh, and K.J. Wahl, P6.7.1-11 (2004).
 3. K. Yamamoto, T. Sato, H. Okuno, K. Tominaga, S. Saito, B. J. Loughnane, A. Scodinu, and J T. Fourkas, "Terahertz Radiation Spectroscopy on Chloroform Confined in Porous Silica Glasses", *Materials Research Society Symposium Proceedings* Vol. 790, ed. by J.T. Fourkas, P. Levitz, M. Urbakh, and K.J. Wahl, P7.29.1-6 (2004).
 4. S. Nonose, H. Tanaka, and K. Fuke, "Photoionization and Photodissociation Processes of Multiply-Charge Cytochrome c Ions Produced by Electrospray Ionization", *Mem. Grad. School Sci. & Technol. Kobe Univ.* 22-A, 21-31 (2004).
 5. 松下道雄「光合成アンテナ複合体 LH2 の単一分子分光」*固体物理* 2004 年 3 月号 pp31-37.
 6. 神取秀樹「視覚の初期過程における光化学反応」*レーザー研究*「光受容蛋白質のピコ秒、フェムト秒分子ダイナミクス」 31, 184-189 (2003).

H16

1. K. Tominaga, K. Yamamoto, A. Oka, and H. Md. Kabir, "Application of Terahertz Time-Domain Spectroscopy to Molecular Science in Condensed Phases –Low-Frequency Spectra of Complexes and Biopolymers–", *Conference Digest of the 2004 Joint 29th International Conference on Infrared and Millimeter Waves and 12th International Conference on Terahertz Electronics*, ed by M. Thumm and W. Wiesbeck, pp. 463-464 (2004).
2. 富永圭介、「第 7 章 テラヘルツ波における原子間振動」、「テラヘルツ波の基礎と応用」西澤潤一編著、工業調査会 (2005).
3. H. Kandori, "Hydration switch model for the proton transfer in the Schiff base region of bacteriorhodopsin", *Biochim. Biophys. Acta* **1658**, 72-79 (2004).
4. 柴田幹大, 神取秀樹、「バクテリオロドプシンにおける内部結合水の振動解析」、*生物物理* 44, 113-117 (2004).

H17

なし

H18

1. 神取秀樹、「エントロピーを減少させる光駆動プロトンポンプのしくみ」、*Bionics* 21, 56-58 (2006) .
2. A. Oka and K. Tominaga, "Terahertz Spectroscopy of Polar Solute Molecules in Non-polar Solvents", *J. Non-Crystalline Solids* **352**, No. 42-49, 4606-4609 (2006), *Proceedings of the 5th International Discussion Meeting on Relaxations in Complex Systems, 5th International Discussion Meeting on Relaxations in Complex Systems*.
3. K. Yamamoto, T. Uchino, and K. Tominaga, "Low-Frequency Spectra of Silica Glasses Studied by Terahertz Time-Domain Spectroscopy", *Proceedings of Progress on Tunable Lasers for Ultrafast Processes and Applications (PTLUPA6)*, ed. by P. B. Bisht, pp. 50-51 (2006).

H19

1. 水谷泰久, 「時間分解共鳴ラマン分光法で観るヘムタンパク質の構造ダイナミクスと機能発現機構」, *生物物理*, 47, 5 号 (9 月)
2. 水谷泰久, 「時間分解振動分光法によるタンパク質のダイナミクス解析」, *光学*, 36, 9 号 (9 月)
3. S. Yamaguchi, M. Banno, K. Ohta, K. Tominaga, "Vibrational Dynamics of Benzoic Acid in Solutions Studied by Sub-Picosecond Time-Resolved Infrared Spectroscopy", *Proceedings of the 13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, ed. by A. Laubereau, K.-H. Mantel, and W. Zinth, pp. 114-116 (2007). <http://epub.ub.uni-muenchen.de/1193>
4. K. Ohta, K. Tominaga, "Vibrational Dynamics in Hydrogen-Bonding and Non-Hydrogen Bonding

- Liquids and Complexes”, *Proceedings of the 13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, ed. by A. Laubereau, K.-H. Mantel, and W. Zinth, pp. 154-156 (2007). <http://epub.ub.uni-muenchen.de/1193>
5. S. Hirai, M. Banno, K. Ohta, D. K. Palit, K. Tominaga, “Vibrational Dynamics of the CO Stretching of 9-Fluorenone in Various Alcohols”, *Proceedings of the 13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, ed. by A. Laubereau, K.-H. Mantel, and W. Zinth, pp. 157-159 (2007). <http://epub.ub.uni-muenchen.de/1193>
 6. K. Ohta and K. Tominaga, “Vibrational Population Relaxation of Hydrogen-Bonded Phenol in Solution Studied by Ultrafast Infrared Pump-Probe Spectroscopy”, *Proceedings of the 13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, ed. by A. Laubereau, K.-H. Mantel, and W. Zinth, pp. 160-162 (2007). <http://epub.ub.uni-muenchen.de/1193>
 7. K. Ikeshima, M. Banno, K. Ohta, K. Tominaga, “Vibrational Relaxation of OH and OD Stretching of Methanol in Isotopically Diluted Solutions”, *Proceedings of the 13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, ed. by A. Laubereau, K.-H. Mantel, and W. Zinth, pp. 163-165 (2007). <http://epub.ub.uni-muenchen.de/1193>
 8. M. Banno, K. Ohta, and K. Tominaga, “Carbonyl Stretch Vibrational Dynamics of Acetic Acid in Water and Alcohol Studied by Time-Resolved IR Spectroscopy”, *Proceedings of the 13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, ed. by A. Laubereau, K.-H. Mantel, and W. Zinth, pp. 192-194 (2007). <http://epub.ub.uni-muenchen.de/1193>
 9. A. Fujihara, H. Ishikawa, and K. Fuke, “Construction of a Temperature-Variable Photodissociation Spectrometer for Gas-Phase Cluster Ions and Its Application to Peptides”, *The Bulletin of the Nano Science and Technology*, Vol. 6, 29-34, 2007.
 10. 水谷泰久、「時間分解共鳴ラマン分光法で観るヘムタンパク質の構造ダイナミクスと機能発現機構」生物物理、**47**, 288-294 (2007).

(3) 学会発表

① 招待講演 (国内 55 件、国際 72 件)

H15

国際

1. K. Tominaga, "Infrared Nonlinear Spectroscopy on Ions in Hydrogen-Bonding Liquids", Japan-Korea Joint Seminar on "Frontier of Advanced Molecular Science: Spectroscopy of Ultra-Resolution in Time, Space and Energy", Riken, Nov. 19-21 (2003).
2. H. Maekawa, K. Ohta, and K. Tominaga, "Vibrational Dynamics of the OH Stretching Mode of Water in Reverse Micelles Studied by Infrared Nonlinear Spectroscopy", 2003 Materials Research Society Fall Meeting, Boston, Dec. 1-5 (2003).
3. K. Ohta, H. Maekawa, and K. Tominaga, "Vibrational Dynamics in Liquids Studied by Infrared Nonlinear Spectroscopy", Trombay Symposium on Radiation and Photochemistry-2004, Mumbai, India, Jan. 8-12 (2004).
4. K. Tominaga, "Liquid Dynamics and Intermolecular Interactions Studied by Infrared Nonlinear Spectroscopy", "Frontier of Physical Chemistry on Molecular Materials", Nagoya, Jan. 12-13, (2004).
5. A. Oka, H. Md. Kabir, K. Yamamoto, and K. Tominaga, "Time-Domain Terahertz Radiation Spectroscopy on Molecular Complexes in Solutions", 3rd Asian Conference on Ultrafast Phenomena, Beijing, March 18-19 (2004).
6. K. Ohta, H. Maekawa, and K. Tominaga "Vibrational Dynamics of Small Ions in Solution Studied by Nonlinear Infrared Spectroscopy", 3rd Asian Conference on Ultrafast Phenomena, Beijing, March 18-19 (2004).
7. H. Kandori, "Proton-Pump Mechanism in Bacteriorhodopsin", The First International Congress on Bio-Nanointerface, Tokyo (Japan), May 2003.
8. H. Kandori, "Low-Temperature FTIR Spectroscopy of Rhodopsins", XXIst International Conference on Photochemistry, Nara (Japan), July 2003.
9. Yasuhisa Mizutani, "Ultrafast Protein Dynamics of Myoglobin and Hemoglobin Studied by Picosecond Time-resolved Resonance Raman Spectroscopy", The 3rd Asian Conference on Ultrafast Phenomena, Beijing (P. R. China), March 2004.
10. 富宅喜代一、岡井信裕、高畑晶弘、野々瀬真司、"Electronic Properties of Hypervalent Radicals", Okazaki Conference、(2003、岡崎)

国内

1. 富永圭介、「テラヘルツ電磁波の分子科学への応用」、「テラヘルツ電磁波を用いた分光計測技術」平成15年度日本分光学会装置部会・理化学研究所合同シンポジウム、理研、平成15年11月12日
2. 太田薫、前川宏明、富永圭介、「超高速非線形分光による液体中の振動ダイナミクス」、2004年物性研短期研究会「超高速レーザー分光における最近の発展」、東大物性研、平成16年2月16日
3. 鏑木基成、「脳神経内分泌系に特異的な膜貫通電子伝達系の構築原理と生理機能」、第104回物理化学セミナー(神戸)2003年6月
4. 松下道雄(東工大院理工)、「光合成アンテナ複合体の単一分子分光」、日本物理学会2003年秋の分科会(岡山、2003年9月)
5. 神取秀樹、"Does bacteriorhodopsin pump a proton, or a hydroxide ion?"、日本生化学会年会シンポジウム「多彩な生命機能を担うプロトンポンプ:エネルギーの創出から高次機能まで」2003年10月、横浜
6. 神取秀樹、「精密分光実験で観るロドプシン光受容蛋白質機能のメカニズム」、日本生物物理学会年会シンポジウム「分子シミュレーションと実験の融合による新しい生物物理学の展開」2003年9月、新潟
7. 水谷泰久、「ミオグロビンの振動緩和:ヘムの振動冷却とそこからのエネルギーの流れ」、分子研研究会「単純系から複雑系にわたる凝集系振動緩和ダイナミクス研究の現状と展望」、平成15年6月、岡崎

8. 水谷泰久、“ミオグロビンにおける水素結合を介したダイナミクス”、分子研研究会「生体関連分子の水素結合とダイナミクスの新展開」、岡崎コンファレンスセンター、平成 15 年 7 月、岡崎
9. 水谷泰久、“時間分解共鳴ラマン分光法で観たミオグロビンおよびヘモグロビンの構造ダイナミクス”2003 年分子構造総合討論会（シンポジウム「分子科学と生体科学との接点」）、平成 15 年 9 月、京都
10. 水谷泰久、“時間分解共鳴振動分光法で観たヘムタンパク質の動き”、関学化学フォーラム（タンパク質の構造と機能：分光法と回折法を用いた時間分解的解析）、平成 15 年 12 月、三田

H16

国際

1. A. Oka, K. Yamamoto, H. Kandori, and K. Tominaga, “Terahertz Radiation Spectroscopy on Molecular Complexes, Polypeptides, and Proteins”, *26th Bioelectromagnetics Society*, Washington D.C., USA June 22 (2004)
2. K. Tominaga, K. Yamamoto, A. Oka, and H. Md. Kabir, "Application of Terahertz Time-Domain Spectroscopy to Molecular Science in Condensed Phases. Low-Frequency Spectra of Complexes and Biopolymers", *IRMMW2004 / THz2004*, Karlsruhe, Germany, September 29 (2004)
3. K. Tominaga, “Vibrational Fluctuation of Ions in Hydrogen-Bonding Solvents”, *Indo-Japan Workshop on “Frontiers of Molecular Science Developed by Advanced Spectroscopy”*, Kolkata, India, December 3 (2004)
4. K. Fuke, N. Okai, T. Taguchi, M. Takahata, S. Nonose, " Spectroscopy and Dynamics of Hypervalent Radicals in Clusters; Why NH₄ is so anomalous?", Japan-Indo Workshop 2004, India, December 3, 2004
5. H. Kandori, “Internal Water Molecules of Bacteriorhodopsin”, 14th International Congress on Photobiology, June 2004, Jeju, Korea
6. H. Kandori, “Proton Transfer Reactions in Rhodopsins Studied by Low-Temperature FTIR Spectroscopy”, 11th International Conference on Retinal Proteins, June 2004, Frauenchiemsee, Germany
7. H. Kandori, “Role of Internal Water Molecules in the Proton Conduction of Bacteriorhodopsin”, 13th European Bioenergetics Conference, August 2004, Pisa, Italy
8. H. Kandori, “Low-Temperature FTIR Studies of Rhodopsins”, Internal Symposium on Retinal Proteins, September 2004, Heidelberg, Germany
9. H. Kandori, “Mechanism of Biological Light-Signal Conversion”, The 3rd Indonesian Biotechnology Conference 2004/An International Conference and Exhibition "Recent Advances in Biotechnology for Human Health and Food Sustainability", December 2004, Bali, Indonesia
10. H. Kandori, “Photochemistry of Blue-Light Sensor Proteins in Plants: Biological Signal Transduction Initiated by A Non-Isomerizable Chromophore”, 4th Asian Photochemistry Conference, January 2005, Taipei, Taiwan
11. H. Kandori, “Vectorial Transport Mechanism of Protons and Chloride Ions in Archaeal Rhodopsins”, The 1st International Symposium on "Molecule-Based Information Transmission and Reception: Application of membrane protein biofunction", March 2005, Okazaki, Japan
12. H. Kandori, “Internal Water Molecules of Light-Driven Ion Pump Proteins in Action”, 2nd International Workshop on “Water and Biomolecules”, March 2005, Tokyo, Japan

国内

1. 富永圭介、“最近の時間分解振動分光について-理論と実験についてのコメント-”、分子研研究会「分子機能の物理化学—理論・計算化学と分光学による新展開」、分子研、平成 16 年 7 月 21 日
2. 富永圭介、“時間分解分光による凝縮相ダイナミクスの最近の展開”、分子研研究会「生体分光学と分子イメージングの最前線」、分子研、平成 17 年 1 月 18 日
3. 富永圭介、山本晃司、Md. Humayun Kabir, 岡阿佐子、“時間領域テラヘルツ分光の分子科学への応用”、第 52 回応用物理学会・シンポジウム「テラヘルツ波による化学・バイオ・電子材料評

価の最前線」、埼玉大学、平成 17 年 3 月 29 日

4. 松下道雄、“光合成アンテナ色素の光吸収とタンパク質構造の関係:単一分子分光法による研究”、第14回バイオ・高分子シンポジウム、上智大学中央図書館棟、平成16年7月27日
5. 松下道雄、アンドレアス・ブロス、ヤニック・デュラン、エドガー・J・J・グローネン、ヤン・シュミット、“固体中のナノプローブとしての単一分子分光”、日本光学会年次学術講演会OJ2004、大阪、平成16年11月5日
6. 神取秀樹、“ロドプシン内で光はどのように機能へと変換されるのか?”、理論化学シンポジウム、近江舞子、2004年9月
7. 神取秀樹、“生物における光情報変換の分子科学”、分子科学研究所研究会「生体金属分子科学の展望」、岡崎、2004年10月
8. 神取秀樹、“PYPとLOVドメイン”、「自然が創ったナノ実験室:イエロープロテインの科学」研究会、名古屋、2004年10月
9. 神取秀樹、“ロドプシンを究める”、名古屋大学21世紀COEプログラム「物質科学の拠点形成:分子機能の解明と創造」第1回物理化学若手研究会「若手が見習うべき教育・研究者達」、名古屋、2004年11月
10. 神取秀樹、“光受容蛋白質研究の現状と展望”、日本機械学会バイオエンジニアリング部門「生体機能の解明とその応用に関する研究会」、名古屋、2004年12月

H17

国際

1. K. Tominaga, “Vibrational Fluctuation in Hydrogen Bonding Solvents Studied by Infrared Nonlinear Spectroscopy”, *Telluride Workshops 2005 “Nonlinear Ultrafast Spectroscopy in Fluids”*, USA, Telluride, June 26 (2005).
2. K. Ohta and K. Tominaga, “Dynamical interactions between solute and solvent studied by nonlinear infrared spectroscopy”, *Eighth Biennial Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry (TSRP-2006)*, Mumbai, India, January 5-9 (2006).
3. K. Ohta and K. Tominaga, “Infrared Nonlinear Spectroscopy on Hydrogen-Bonded Systems”, *4th Asian Conference on Ultrafast Phenomena*, Hong Kong, January 9-11 (2006).
4. Hideki Kandori, “Rhodopsin Chromophore in Proteins and Clay Interlayers: Mechanism of Color Tuning and Photoisomerization”, *13th International Clay Conference*, August 2005, Tokyo, Japan
5. Yasuhisa Mizutani, “Protein Dynamics of Hemoglobin and Myoglobin: time-resolved resonance Raman study”, *Telluride Science Research Center Workshop on Protein Dynamics*, Telluride, Colorado, USA, August 1-5 (2005).
6. K. Ohta and K. Tominaga, “Vibrational fluctuation of ions in hydrogen-bonding solvents”, *Symposium on Fundamental Chemical Processes in Supercritical Fluids, Pacificchem 2005*, Honolulu Hawaii, Dec. 15-20 (2005).
7. Y. Mizutani, “Ultraviolet resonance Raman spectroscopy revealed picosecond protein dynamics of myoglobin upon ligand dissociation”, *4th Asian Conference on Ultrafast Phenomena*, Hong Kong, January 9-11 (2006).
8. K. Fuke, N. Okai, S. Yoshida, and A. Takahata, “Ultrafast Electronic Relaxation and Solvation Dynamics of Mg^+ Ion in Ammonia Clusters”, *The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies*, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
9. Hideki Kandori, “Photoisomerization in Rhodopsins”, *Pacificchem-2005, Symposium on Photoisomerization Processes, Torsional Relaxation and the Hula-twist*, Dec. 18, Honolulu (USA).

国内

1. 富永圭介、「凝縮相におけるテラヘルツ分光」、講習会「テラヘルツ・遠赤外分光法入門」(日本分光学会主催)、東京、平成17年9月1日
2. 富宅喜代一、岡井信裕、石川春樹、“溶解過程における水和構造の役割”分子科学研究所研究会(2005年7月8-9日、岡崎)
3. 神取秀樹、「古細菌ロドプシンの赤外分光」、分子研究会「ロドプシンの仲間・G蛋白質

- 共役型レセプターの機能と構造」、2005年6月、岡崎
4. 岩田達也、徳富 哲、神取秀樹、「植物の青色光センサータンパク質フォトトロピンの PAS ドメインの情報伝達機構」、第 43 回日本生物物理学会年会シンポジウム「PAS ドメインの生物物理学」、1 1 月 2 4 日、札幌
 5. 水谷泰久、「ヘモグロビンの構造変化と協同性」、理研シンポジウム「生体分子と溶媒和ダイナミクス」、湘南国際村、平成 17 年 11 月 9 日-10 日
 6. 水谷泰久、「ヘモグロビンの構造変化と協同性」、第 2 回物理化学若手研究会「ナノサイエンスの最前線」、名古屋大学、平成 17 年 11 月 11 日-12 日
 7. 水谷泰久、「ヘモグロビンの構造変化と協同性」、岡崎統合バイオサイエンスセンター—創設 5 周年シンポジウム—、岡崎コンファレンスセンター、平成 18 年 2 月 6 日
 8. 水谷泰久、「リガンド脱離に伴うヘムタンパク質の構造ダイナミクス：時間分解共鳴ラマン分光法による研究」、分子研研究会「生体における金属イオンの役割とその利用」、岡崎コンファレンスセンター、平成 18 年 3 月 20 日
 9. 松下道雄、「光合成細菌の光捕集アンテナ複合体の単一分子分光」、日本生物物理学会第 43 回年会（札幌コンベンションセンター、11 月 23～25 日） シンポジウム「タンパクと電子、エネルギーの移動：理論は生物物理研究に役立つのか？」 2005 年 11 月 25 日（金）3SB52
 10. 藤芳暁、「界面選択的な時間領域ラマン分光法による液体—液体および大気—固体界面の研究」、レーザー学会、2006 年 2 月 10 日（大宮（大宮ソニックシティ））
 11. 富永圭介、「テラヘルツ電磁波分光の凝縮相における分子科学への応用」、応用物理学会関西支部平成 17 年度第 2 回講演会「テラヘルツ技術の基礎と応用展開」、大阪、平成 18 年 1 月 23 日
 12. 岡阿佐子、富永圭介、「時間領域テラヘルツ分光による溶媒—溶質間相互作用」、平成 18 年春季第 53 回応用物理学関係連合講演会 応用物理学 M&BE 日本分光学会テラヘルツ分光部会テラヘルツ電磁波技術研究会合同企画「有機・生体分子の分光センシングの最新潮流：テラヘルツ波と表面波による分光法」、東京、平成 18 年 3 月 24 日

H18

国際

1. Tsubaki, M., Nakanishi, N., Takeuchi, F., and Park, S.-Y., "Mechanism of ascorbate-specific transmembrane electron-transfer reaction catalyzed by neuroendocrine cytochrome b561", *8th International Conference on Membrane Redox Systems and Their Role in Biological Stress and Disease*, Szeged, Hungary, April 4-8, 2006
2. Jun-ichiro Setsune, and Masayuki Toda, "Dynamic Structures of Cyclopolypyrroles and Their Metal Complexes", *8th International Symposium of Organic Reactions*, Hyogo, Abstract P59 April 23-26, 2006
3. Hideki Kandori, "FTIR Study of Archaeal Rhodopsins", *Gordon Research Conference on "Photosensory Receptors & Signal Transduction"*, Il Ciocco, Italy, May 2006.
4. Hideki Kandori, "Structure-Function Relationship in Archaeal Rhodopsins from Archaea, Eubacteria and Eucaryotes", *12th International Conference on Retinal Proteins*, Awaji Island, May 2006.
5. Yuji Furutani, "Hydrogen-Bonding Network around the Schiff Base Region of Rhodopsins Revealed by Low-Temperature FTIR Spectroscopy", *12th ICRP Satellite Meeting in Nagoya "Structure, Function & Evolution of Rhodopsins: Mechanisms of Proton Transfer and Color Tuning"*, Nagoya, June 2006.
6. Hideki Kandori, "FTIR Studies of Light Sensor Proteins in Action", *International Symposium on "Biochemistry and Molecular Biology of Sensor Enzymes and Proteins"*, Sendai, June 2006.
7. Y. Iima, J. Setsune, and K. Tominaga, "Dynamics of Fluorescent Amphiphilic Probes in Reverse Micelles", *14th International Conference on Composites/Nano Engineering*, Boulder, July 2-8 (2006).
8. K. Ohta and K. Tominaga, "Vibrational Fluctuations of Ions in Water", *Gordon Research*

- Conference on Water and Aqueous Solutions*, New Hampshire, July 30 - August 4 (2006).
9. H. Kandori, "Vibrational analysis of internal water molecules of archaeal rhodopsins", *International Workshop on "Protein Dynamics and Biological Applications of Time-Resolved Spectroscopy"*, Kobe, August 2006.
 10. S. Saito, "Theoretical study of two-dimensional Raman spectroscopy: Anharmonic dynamics and local hydrogen bond network structure in liquid and solid water", *66th Okazaki Conference "Soft X-ray Raman Spectroscopy and Related Phenomena"*, Okazaki, Aug. 17-19 (2006).
 11. K. Tominaga and K. Ohta, "Dynamical Interactions between Solute and Solvent Studied by Vibrational Transitions", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006).
 12. S. Saito and I. Ohmine, "Theoretical study of two-dimensional Raman spectroscopy of liquid and solid water", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006).
 13. Yasuhisa Mizutani, "Structural dynamics of hemeproteins initiated by ligand dissociation", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006).
 14. K. Ohta and K. Tominaga, "Dynamical Interactions between Solute and Solvent Studied by Nonlinear Infrared Spectroscopy", *1st Asia-Pacific Symposium on Radiation Chemistry*, Shanghai, September 17 – 21 (2006).
 15. Yasuhisa Mizutani, "Ultrafast Protein Response of Myoglobin upon Ligand Dissociation", *1st Asia-Pacific Symposium on Radiation Chemistry*, Shanghai, September 17 – 21 (2006).
 16. S. Saito, "Dynamics and hydrogen bond structure in water analyzed by using two-dimensional Raman spectroscopy and ion permeation dynamics in model channel", *Indo-Japan Joint Workshop on "New Frontiers of Molecular Spectroscopy"*, Kobe, September 24-26, 2006.
 17. K. Ohta and K. Tominaga, "Vibration Dynamics of Hydrogen Bonded Systems Studied by Nonlinear Infrared Spectroscopy", *Indo-Japan Joint Workshop on "New Frontiers of Molecular Spectroscopy"*, Kobe, September 24-26, 2006.
 18. Yasuhisa Mizutani, "Structural dynamics of hemeproteins initiated by ligand dissociation", *Indo-Japan Joint Workshop on "New Frontiers of Molecular Spectroscopy"*, Kobe, September 24-26, 2006.
 19. Kiyokazu Fuke, "Microscopic Solvation and Reaction Processes of Metal Atoms/Ions in Small Gas-phase Clusters", *Indo-Japan Joint Workshop on "New Frontiers of Molecular Spectroscopy"*, Kobe, September 24-26, 2006.
 20. K. Tominaga, "Dynamical Interactions in Solutions Studied by Nonlinear Infrared Spectroscopy and Terahertz Radiation Spectroscopy", *Progress on Tunable Lasers for Ultrafast Processes and Applications* (PTLUPA6), Chennai, India, December 21-22 (2006).
 21. Hideki Kandori, "FTIR Studies of Rhodopsins In Action", *Japan-China Crossover Science Symposium (JCCSS) 2006 on "Bio-chemical-physics, Protein Physics and Chemistry, Signal Transduction, and Bioinorganic Chemistry"*, Mito, October 2006.
 22. Hideki Kandori, "Discovery of Strongly Hydrogen-Bonded Water Molecule That is Required for the Proton-Pump Activity in Rhodopsins", *The 3rd Asia and Oceania Conference on Photobiology*, Beijing, China, November 2006.
 23. Yasuhisa Mizutani, "Structural dynamics of hemeproteins initiated by oxygen dissociation: Hemoglobin and FixL", *Japan-China Crossover Science Symposium (JCCSS) 2006 (Bio-chemical-physics, Protein Physics and Chemistry, Signal Transduction, and Bioinorganic Chemistry)*, Mito, October 14-18, 2006.
 24. Yasuhisa Mizutani, "Protein Dynamics Revealed by Time-resolved Resonance Raman Spectroscopy", *Discussion on "Theory and simulation of biomolecular nano-machines"*, Kobe, December 13-15, 2006.
 25. K. Tominaga, "Dynamical Interactions in Solutions Studied by Infrared Pump-Probe Spectroscopy", *First Asian Spectroscopy Conference & Asian Biospectroscopy Conference*, Bangalore, January 29-February 3 (2007).
 26. H. Kandori, "Discovery of strongly hydrogen-bonded water molecule that is required for the proton-pump activity of rhodopsins", *3rd Japanese-French Seminar on "Structural Dynamics of Proteins"*, January 2007, Grenoble (France)
 27. H. Kandori, "Mechanism of light-driven proton and chloride-ion pumps", SOKENDAI

International Symposium on Electro-chemical signaling by membrane proteins, March 2007, Okazaki (Japan).

国内

1. 神取秀樹、「光駆動イオンポンプにおける水分子の役割」、日本蛋白質科学会シンポジウム「水と蛋白質が織り成す機能発現のメカニズム」、2006年4月、京都
2. 神取秀樹、「生物の中で光はどのようにエネルギーや情報へと変換されるのか?」、名古屋工業大学医学工学先導研究講演会、名古屋、2006年6月
3. 神取秀樹、「微生物・植物における光センサー蛋白質の動作機構」、自然科学研究機構「バイオ分子センサー連携研究プロジェクト」レクチャーコース、岡崎、2006年9月
4. 水谷泰久、「タンパク質の構造変化と機能」、第13回理論化学シンポジウムー10年後の理論化学を考えるー、湘南国際村センター、平成18年9月14日-16日
5. 富宅喜代一、石川春樹、「気相クラスターイオンの温度可変分光解析装置の開発と生体分子への応用」、分子研研究会「生体機能理解の基礎としての複雑分子系の階層構造的分子間相互作用」、平成18年12月21日-22日、岡崎。
6. 水谷泰久、「機能を生み出すタンパク質の構造変化」、分子研研究会「生体機能理解の基礎としての複雑分子系の階層構造的分子間相互作用」、平成18年12月21日-22日、岡崎
7. 太田薫、「超高速赤外分光法による水素結合系での振動ダイナミクスの研究」、分光学会関西支部平成18年度第2回講演会、神戸大学百年記念館、平成19年3月7日
8. 富永圭介、「テラヘルツ電磁波分光の分子科学への応用」、テラヘルツ光学フォーラム (The 3rd Tera Medical Forum)、仙台、平成19年2月16日
9. 水谷泰久、「ヘムタンパク質の構造変化と機能：時間分解共鳴ラマン分光法の開拓」、第6回化学・材料セミナー、九州大学国際ホール、平成19年3月16日
10. 水谷泰久、「分光学とタンパク質科学」、日本化学会第87春季年会学術研究活性化委員会企画第二次先端ウォッチングイブニングセッション「生命分子科学の進展」、関西大学、平成19年3月25日
11. 水谷泰久、「ヘムタンパク質の構造変化と機能」、日本化学会第87春季年会特別企画「高次機能解明のための先端化学計測法の新展開ー複合プロセスの理解に向けてー」、関西大学、平成19年3月28日

H19

国際

1. H. Kandori, "FTIR Study of Rhodopsins In Action", LALS 2007, International Conference on Laser Applications in Life Sciences, June 2007, Moscow, Russia
2. Yasuhisa Mizutani, Akira Sato, Ying Gao, and Teizo Kitagawa, "Picosecond protein dynamics of myoglobin upon ligand dissociation studied by ultraviolet resonance Raman spectroscopy", 13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy, Freising, May 19-25, 2007.
3. Yasuhisa Mizutani, "Ultrafast protein dynamics of myoglobin revealed by time-resolved resonance Raman spectroscopy", 12th Korea-Japan Joint Symposium on Frontiers of Molecular Science, "Leading-Edge and the Future of Photo-Molecular Science", Jeju, Korea, July 5-7, 2007.
4. Yasuhisa Mizutani, "Primary protein responses of myoglobin after ligand dissociation revealed by time-resolved resonance Raman spectroscopy", Yasuhisa Mizutani, Telluride Science Research Center Workshop on Protein Dynamics, Telluride, Colorado, USA, July 30-August 3, 2007.
5. K. Fuke, "Spectroscopy of cooled molecular ions in gas-phase." Asian CORE Symposium on Advanced Laser Spectroscopy, September 24-26, 2007 Kobe.
6. Hideki Kandori, "FTIR study of photoreceptive proteins in action", *International Workshop of the Collaborative Research Center on "Protein-Cofactor Interactions in Biological Processes"*, September 2007, Berlin, Germany
7. Hideki Kandori, "The determinants of light-energy and light-signal conversion in rhodopsins", *International Symposium on "Retinal Proteins: Experiments and Theory"*, September 2007,

Bremen, Germany

8. Hideki Kandori, "The determinants of light-energy and light-signal conversion in rhodopsins", *International Conference on Computational Methods in Sciences and Engineering*, September 2007, Bremen, Germany
9. S. Saito, "Theoretical two-dimensional spectroscopy of water", *Japan-Korea symposium*, Jedu, Korea, July 5-7 (2007)
10. S. Saito, "Theoretical two-dimensional spectroscopy of water", *Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 and 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan 'Molecular Approaches to Complex Liquids System'*, Fukuoka, November 21-25 (2007).
11. S. Yamaguchi, S. Hirai, M. Banno, K. Ohta, K. Tominaga, "Infrared Nonlinear Spectroscopy on Hydrogen Bonding Complexes in Solution", 5th Asian Conference on Ultrafast Phenomena, Singapore, 7-9 January (2008).
12. Tatsuya Iwata, Mark L. Paddock, Melvin Y. Okamura and Hideki Kandori "Structural changes of water molecules upon the reduction of quinones in the reaction center from Rhodospirillum rubrum", *17th International Symposium on Fine Chemistry and Functional Polymers & IUPAC 3rd International Symposium on Novel Materials and Synthesis*, October 2007, Shanghai, China.
13. Hideki Kandori, "The determinants of light-energy and light-signal conversion in rhodopsins", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
14. Motonari Tsubaki, "Properties of two distinct heme centers of cytochrome b561 as studied by EPR spectroscopy and their roles in transmembrane electron transfer", *Molecular Photoscience Research Center International Workshop "Low Energy Excitations in Condensed Phases"*, November 13, 2007, Kobe.

国内

1. 富永圭介、「超短パルスレーザー分光による凝縮相における反応と緩和のダイナミクス」、分子研シンポジウム 2007、岡崎、平成 19 年 6 月 8 日-9 日
2. 神取秀樹、「レチナールの色と反応を制御するロドプシンという蛋白質場の役割」、理化学研究所研究会「分子系の構造と電子状態—『生物物質科学』を目指して」 2007年4月、和光
3. 神取秀樹、「ロドプシンの赤外分光法：より生理的な測定を目指して」、分子科学研究所研究会「生細胞の分子科学」2007年5月、岡崎
4. 水谷泰久、「時間分解共鳴ラマン分光法によるタンパク質ダイナミクスの観測：構造変化と機能」、第20回九州分析化学若手の会春の講演会、九州大学筑紫、地区総合研究棟1階筑紫ホール、平成19年5月12日
5. 富永圭介、「赤外非線形分光法による水素結合ダイナミクス」、レーザー学会学術講演会第28回年次大会、名古屋、平成20年1月30日-2月1日
6. 富永圭介、「テラヘルツ分光による分子格子の固有振動と分子構造同定」、テラヘルツ光学フォーラム (The 4th Tera Medical Forum)、仙台、平成20年2月14日
7. 神取秀樹、「水分子の水素結合強度が決めるロドプシンの機能」、赤外ラマン分光部会シンポジウム、2007年12月、豊中
8. 神取秀樹、「赤外分光によるプロトンポンプ蛋白質のメカニズム研究」、水素量子アトムミクス研究会、2007年12月、札幌
9. 神取秀樹、「分子ポンプを考える」、日本生物物理学会第45回年会シンポジウム、2007年12月、横浜
10. 古谷祐詞、神取秀樹、「赤外分光法によるタンパク質間相互作用の解析—ロドプシンをモデルとして—」、日本生物物理学会第45回年会シンポジウム、2007年12月、横浜
11. 水谷泰久、「タンパク質ダイナミクスと水素結合」、北大低温研共同利用研究集会、「低温凝縮系における水素の化学と物性」、北海道大学、平成19年12月13-15日
12. 水谷泰久、「時間分解共鳴ラマン分光法で観たタンパク質ダイナミクス：ピコ秒からミ

リ秒まで、可視領域から紫外領域まで」、日本生物物理学会第45回年会シンポジウム「振動分光法が拓く生命科学；分子から細胞まで」、パシフィコ横浜、平成19年12月21-23日

②口頭発表（国内 81 件、国際 18 件）

H15

国際

1. 太田薫、前川宏明、水谷泰久、富永圭介、“VIBRATIONAL DYNAMICS OF FERROCYANIDE IN WATER WITH THIRD-ORDER NONLINEAR INFRARED SPECTROSCOPY”、XXIst International Conference on Photochemistry, Nara, July 26–31, 2003.
2. 岡井信裕、高畑晶弘、森田真之、野々瀬真司、富宅喜代一（神戸大理）“Ultrafast Relaxation Process of NH_4 in Ammonia Clusters”、第 21 回国際光化学会議（2003、奈良）
3. 富宅喜代一、野々瀬真司、岩岡咲枝、“Photo-Induced Reactions of $\text{Hemin}^+(\text{DMSO})_n$ Clusters ($n=0-3$) produced with Electrospray Ionization”、Gordon Research Conference、(2003, USA)
4. 野々瀬真司、岩岡咲枝、富宅喜代一、“Photo-Induced Reactions of Biological Molecules produced with Electrospray Ionization”、Okazaki Conference、(2003、岡崎)
5. Yasuhisa Mizutani, “Ultrafast Protein Dynamics of Myoglobin and Hemoglobin Probed by Iron-histidine Stretching Mode”, 11th International Conference of Time-resolved Vibrational Spectroscopy, Casigione della Pescaia (Italy), May, 2003.

国内

1. 前川宏明、太田薫、富永圭介、「赤外非線形分光による逆ミセル内における水の振動ダイナミクス」、分子構造総合討論会、京都 平成 15 年 9 月
2. 太田薫、前川宏明、水谷泰久、富永圭介、「赤外非線形分光法による $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ の振動緩和過程と溶媒和ダイナミクス」、分子構造総合討論会、京都 平成 15 年 9 月
3. 佐藤卓、飯間雄介、戸田政明、富永圭介、「逆ミセル・ウォータール内における色素分子の励起状態ダイナミクス：蛍光減衰の励起波長依存性」、光化学討論会、松江、平成 15 年 11 月
4. 岡井信裕、高畑晶弘、野々瀬真司、富宅喜代一、“アンモニウムラジカルクラスターの励起状態緩和ダイナミクス”、分子構造総合討論会（2003、京都）
5. 岡井信裕、高畑晶弘、荒西研吾、富宅喜代一、“メチルアンモニウムラジカルクラスターの構造と反応性”、日本化学会第 84 春期年会（2004、大阪）
6. 瀧上忠一、武内総子、中川将司、長谷俊治、鏑木基成、“Stopped-flow 法によるアスコルビン酸と cytochrome b561 との電子伝達機構の解析”、第 30 回生体分子科学討論会（京都）2003 年 6 月
7. 星野創、小井川浩之、加藤太朗、松下道雄、“単一分子分光による光合成アンテナ複合体の研究”、日本物理学会 2004 年春の年会（福岡、2004 年 3 月）
8. 柴田幹大、神取秀樹、“バクテリオロドプシン中で負電荷に水和した内部結合水の振動解析”、第 30 回生体分子科学討論会 2003 年 6 月、京都
9. 谷本太郎、古谷祐詞、神取秀樹、“バクテリオロドプシン中のプロトン移動における水分子の役割”、第 10 回光生物学協会講演会 2003 年 7 月、奈良
10. 野崎大、岩田達也、徳富哲、加川貴俊、和田正三、神取秀樹、“低温赤外分光法による phy3LOV2 ドメインの光励起構造変化”、第 10 回光生物学協会講演会 2003 年 7 月、奈良
11. 水谷泰久、長井雅子、“ヘモグロビンとミオグロビンのダイナミクスにおける差異の由来”、第 30 回生体分子科学討論会、平成 15 年 6 月、京都
12. 水谷泰久、“反応速度をとおして観たミオグロビンの構造不均一性と揺らぎ”、第 84 回日本化学会春季年会、平成 16 年 3 月、西宮

H16

国際

なし

国内

1. 田邊文、瀬恒潤一郎、“置換基を持つ環拡大ポルフィリンの合成”、第34回複素環化学討論会 3O-12, 2004年10月19日
2. 戸田雅之、吉田高史、瀬恒潤一郎、“2-ピリルボロネートとアリアルジハライドから得られるビピロール誘導体をビルディングブロックとする環拡大ポルフィリンの合成”、日本化学会第85春季年会3B2-27、2005年3月28日
3. 塚島亜希、渡邊純子、瀬恒潤一郎、“ジメチルジピリルメタンと2,2'-ビピロールを有するポルフィリノイドの合成と性質”、日本化学会第85春季年会3B2-28、2005年3月28日
4. 森めぐみ、Lintuluoto Juha、瀬恒潤一郎、“ジメチルジピリルメタンと2,2'-ビピロールを有するポルフィリノイドの合成と性質”、日本化学会第85春季年会3F5-41、2005年3月28日
5. 瀬恒潤一郎、塚島亜希、“ π 共役テトラピロール構成単位から成る大環状ポルフィリノイドのコバルト錯体、合成と構造”、日本化学会第85春季年会1C6-15、2005年3月26日
6. 岡井信裕、荒西研吾、西川大介、富宅喜代一、“Mg 原子の水和過程”、日本化学会春季年会、横浜、平成 17 年 3 月 26 日—29 日
7. 岡井信裕、荒西研吾、富宅喜代一、“クラスター中での金属イオンの反応と溶媒和の超音速ダイナミクス”、分子構造総合討論会、広島、平成 16 年 9 月 27—30 日
8. 星野創、内山大輔、松下道雄、末守良春、出羽毅久、南後守、“脂質膜中の光合成アンテナ複合体の単一分子分光”、日本物理学会2004年秋季大会、青森、平成16年9月12日
9. 柴田幹大、宗田法和、井原邦夫、佐々木貴規、出村誠、神取秀樹、“光駆動塩素イオンポンプタンパク質、ハロロドプシン(HR)中の内部結合水の構造解析”、第 31 回生体分子科学討論会、水戸、平成 16 年 7 月
10. 晝間祐介、水谷泰久、“還元型チトクロム c 折れたたみ初期過程におけるヘム周辺構造変化の追跡”、第 31 回生体分子科学討論会、水戸、平成 16 年 7 月
11. 佐藤亮、水谷泰久、“タンパク質高次構造ダイナミクスの検出にむけたピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光装置の製作”、2004年分子構造総合討論会、広島、平成16年9月
12. 水谷泰久、林高史、原田勝好、中川知之、Biswajit Pal、北川禎三、“ミオグロビンヘム周辺の水素結合ネットワーク”、2004年分子構造総合討論会、広島、平成16年9月

H17

国際

1. Juha M. Lintuluoto, Jun-ichiro Setsune, “Cyclopolypyrroles: Synthesis and properties”, The 14th European Symposium of Organic Chemistry, 2005 年 7 月 5 日
2. Yasuhisa Mizutani, “Picosecond Protein Dynamics of Myoglobin upon Ligand Dissociation Studied by Ultraviolet Resonance Raman Spectroscopy”, The Twelfth International Conference of Time-resolved Vibrational Spectroscopy, Gaithersburg, USA, May 23-27 (2005).
3. Hideki Kandori, "Mechanism of Light-Driven Ion Pumps", Sanken International Symposium 2006 on "Advanced Science and Technology for Materials, Biology, and Information by Quantum Beams", February 2006, Osaka, Japan
4. Yasuhisa Mizutani and Akira Sato, "Ultraviolet resonance Raman spectroscopy revealed picosecond protein dynamics of myoglobin upon ligand photodissociation", Pacifichem 2005, Honolulu, Hawaii, USA, December 15-20, 2005.
5. A. Oka and K. Tominaga, “Terahertz Spectra of Solutions; Dynamics and Interactions of Solute Molecules in Non-polar Solvents”, *International Workshop on Terahertz Technology 2005 (TeraTech '05)*, Osaka, Nov. 16-18 (2005).

国内

1. 塚島亜希・瀬恒潤一郎、「calix[8]phyrin 金属錯体の合成と不斉構造」、日本化学会第 86 春季年会、講演要旨集 1F1-38*A、3/27, 2006

2. 中山佳奈・森めぐみ・リントウルオト ユハ・瀬恒潤一郎、「オクタフィリン(1.0.1.0.1.0.1.0)の不斉構造反転と光学活性カルボン酸による不斉誘起」、日本化学会第86春季年会、講演要旨集 1G6-47*A、3/27, 2006
3. 森めぐみ・リントウルオト ユハ・瀬恒潤一郎、「オクタフィリン(1.0.1.0.1.0.1.0)銅錯体の合成と構造」、日本化学会第86春季年会、講演要旨集 2F1-37*A、3/28, 2006
4. 戸田雅之・渡辺恵悟・瀬恒潤一郎、「2,2'-ビピロールとビス(2-ピリル)ベンゼンからなる混成オクタフィリンの合成と性質」、日本化学会第86春季年会、講演要旨集 3J5-04*A、3/29, 2006
5. 渡辺恵悟・戸田雅之・瀬恒潤一郎、「1,3-フェニレンスペーサーを有するシクロテトラピロール誘導体の合成と構造」、日本化学会第86春季年会、講演要旨集 3J5-05*A、3/29, 2006
6. 神取秀樹、「光を情報とエネルギーに振り分ける古細菌型ロドプシンのメカニズム」、日本植物生理学会シンポジウム「植物光センサーの多様性と光受容分子機構」、2006年3月、筑波
7. 岩田達也、野崎大、佐藤義彰、佐藤恭介、二科安三、志賀潔、徳富哲、神取秀樹、「13C及び15N標識による phy3-LOV2 ドメインの振動シグナルの解析」、第47回日本植物生理学会年会 2006年3月、筑波
8. 柴田幹大、井原邦夫、出村 誠、神取秀樹、「低温赤外分光法によるハロロドプシン、バクテリオロドプシン変異体の塩化物イオンポンプ機構」、第2回日本生物物理学会中部支部討論会 2006年3月、名古屋
9. 水谷泰久、「ヘモグロビンの高次構造ダイナミクス：ミオグロビンと比較して考える」、第6回生体分子のダイナミクス研究会、東京、平成17年7月26日~27日
10. 佐藤亮、水谷泰久、「リガンド脱離にともなうミオグロビンのピコ秒高次構造ダイナミクス」、2005年分子構造総合討論会、東京、平成17年9月27日~30日
11. 上門久美子、水谷泰久、「四次構造を固定したヘモグロビンの構造ダイナミクス」、2005年分子構造総合討論会、東京、平成17年9月27日~30日
12. 村川由佳、水谷泰久、「酸素の脱離に伴うヘモグロビンの構造ダイナミクス：生理的なダイナミクスの解明に向けて」、2005年分子構造総合討論会、東京、平成17年9月27日~30日
13. 柴田幹大、井原邦夫、神取秀樹、「塩素イオンをポンプするバクテリオロドプシン変異体の低温赤外分光」、第32回生体分子科学討論会、2005年6月、神戸
14. 川鍋 陽、古谷祐詞、Kwang-Hwan Jung、神取秀樹、「低温赤外分光法による Anabaena Sensory Rhodopsin のシッフ塩基近傍の構造解析」、第32回生体分子科学討論会、2005年6月、神戸
15. 塚島亜希、渡邊純子、瀬恒潤一郎、「Calix[n]phyrin の9族金属錯体の合成と構造」、第55回錯体化学討論会講演要旨集 13A12、2005年9月21日
16. 戸田雅之、吉田高史、瀬恒潤一郎、「環サイズの異なるポルフィリノイドを用いた多核RhおよびPd錯体の合成とその性質」、第55回錯体化学討論会講演要旨集 22A09、2005年9月21日
17. 岡井信裕・西川大介・荒西研吾・石川春樹・富宅喜代一、「水クラスター内でのアルカリ土類金属原子の自発的イオン化」、化学反応討論会(2005年6月1-3日、大阪)
18. 太田 薫、位田 卓、富永 圭介、「サブピコ秒時間分解赤外分光法によるフェノール会合体の振動ダイナミクス」、分子構造総合討論会、東京、平成17年9月27日

H18

国際

1. K. Ohta and K. Tominaga, "Vibrational Fluctuation of Ions in Hydrogen-Bonding Solvents", *XXI IUPAC Symposium on Photochemistry*, Kyoto, April 4 (2006).
2. 佐藤亮、Gao Ying、北川禎三、水谷泰久、「リガンド解離に誘起されるミオグロビンの

高次構造変化—ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光法による部位特異的観測」、第33回生体分子科学討論会、名古屋、平成18年7月14日～15日

3. J. M. Lintuluoto, K. Nakayama, J. Setsune, Cyclic Oligopyrroles as Sensors for Absolute Configuration Determination of Carboxylic Acids IUPAC International Symposium on Advanced Polymers for Emerging Technologies, Jeju, Korea, 10/10-13, 2006

国内

1. Victor A. Lorenz Fonfria, 神取秀樹, "Room-temperature FTIR spectroscopy of active internal water molecules in the bacteriorhodopsin photocycle", 第33回生体分子科学討論会、名古屋、平成18年7月14日～15日
2. 水野操, 濱田格雄, 徳永史生, 水谷泰久, 「ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光による Photoactive Yellow Protein のタンパク骨格構造変化の観測」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日～23日
3. 小山舞, 根矢三郎, 水谷泰久, 「ミオグロビンの構造ダイナミクスにおけるプロピオン酸基の効果」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日～23日
4. 太田薫, 富永圭介, 「無極性溶媒中でのフェノール会合体の振動エネルギー緩和過程」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日～23日
5. 藤原亮正, 松本浩幸, 前川亜耶子, 石川春樹, 富宅喜代一, 「エレクトロスプレーイオン源を備えた温度可変分光解析装置の制作」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日～23日
6. 古谷祐詞, 住井昌代, Leonid S. Brown, Stephen A. Waschuk, Arandi G. Bezzera Jr., 神取秀樹, 「真核生物由来の古細菌型ロドプシンにおけるプロトンポンプ活性と内部結合水の水素結合強度との相関について」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日～23日
7. Juha M. Lintuluoto, 瀬恒潤一郎, 中山佳奈, 戸田雅之, 「環拡大オクタフィリンによるカルボン酸のキラリティーセンシング」、日本化学会第87春季年会 2007年(3月25～28日)
8. 中山佳奈, Juha M. Lintuluoto; 瀬恒潤一郎, 「オクタフィリン(1.0.1.0.1.0.1.0)を用いる光学活性カルボン酸の不斉センシング活性、日本化学会第87春季年会 2007年(3月25～28日)
9. 森めぐみ, 瀬恒潤一郎, 「オクタフィリン(1.0.1.0.1.0.1.0)銅錯体の立体選択的合成」、日本化学会第87春季年会 2007年(3月25～28日)
10. 渡辺恵悟, 瀬恒潤一郎, 「ピリジン含有シクロテトラピロールの合成とその金属配位能」、日本化学会第87春季年会 2007年(3月25～28日)
11. 藤芳暁, 松下道雄, 「ヘリウム温度における反射型二光子蛍光顕微鏡の開発」、日本化学会第87春季年会 2007年(関西大学千里山キャンパス、3月25～28日)

H19

国際

1. M. Banno, K. Ohta, K. Tominaga, "Carbonyl Stretch Vibrational Dynamics of Acetic Acid in Water and Alcohol Studied by Time-Resolved IR Spectroscopy", *13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, Freising, May 19-25, 2007.
2. Misao Mizuno, Norio Hamada, Fumio Tokunaga, and Yasuhisa Mizutani, "Observation of Primary Structural Changes of Photoreactive Proteins by Picosecond Time-Resolved Ultraviolet Resonance Raman Spectroscopy", *13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, Freising, May 19-25, 2007.
3. J. Setsune, K. Nakayama, M. Mori, A. Tsukajima, J. M. Lintuluoto, Dynamic Figure Eight Structure, of Octaphyrins, Application to Chirality Sensing. *The 12th International Symposium on Novel Aromatic Compounds*, Awaji Island, Japan, 7/22-27, 2007
4. P. Dutta, K. Tominaga, "Low-Frequency Spectra of Polar Solute Molecules in Non-Polar Solvents by Terahertz Time-Domain Spectroscopy", *Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 and*

30th Symposium on Solution Chemistry of Japan Molecular Approaches to Complex Liquids System, Fukuoka, 21-25 November, 2007

5. K. Tominaga, S. Hirai, S. Yamaguchi, K. Ikeshima, M. Banno, K. Ohta, "Vibrational Dynamics of Hydrogen-Bonded Complexes Studied by Infrared Pump-Probe Spectroscopy", *The Sixth Asia Pacific Laser Symposium (APLS 2008)*, Nagoya, January 30-February 1, 2008.

国内

1. 太田薫、富永圭介、「赤外非線形分光法による溶液中での振動エネルギーの揺らぎの計測」、第23回化学反応討論会、神戸、平成19年6月13日-15日
2. 古谷祐詞、高橋はづき、佐々木純、須藤雄気、John L. Spudich、神取秀樹、「赤外分光法によるセンサリーロドプシンIの光情報伝達過程での構造変化および相互作用変化の解析」、第34回生体分子科学討論会、2007年6月、仙台
3. 岩田達也、Mark L. Paddock、Melvin Y. Okamura、神取秀樹、「紅色細菌の光化学反応中心のキノン還元に伴う内部結合水の構造変化」、第34回生体分子科学討論会、2007年6月、仙台
4. 稲垣厚志、水谷泰久、「シリカゲル中に閉じ込めたヘモグロビンの構造ダイナミクス：ダイナミクスの四次構造依存性」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日-20日
5. 須藤雄気、古谷祐詞、神取秀樹、John L. Spudich、「光センサーに変換したバクテリオロドプシンの構造と構造変化」、第14回日本光生物学協会年会、2007年7月、奈良
6. 柴田幹大、出村誠、神取秀樹、「赤外分光法によるハロロドプシンの細胞外側領域の構造解析」、第14回日本光生物学協会年会 2007年7月、奈良
7. 川鍋陽、古谷祐詞、Kwang-Hwan Jung、神取秀樹、「Anabaena sensory rhodopsin の光反応過程の研究」、第14回日本光生物学協会年会、2007年7月、奈良
8. 山本渥史、岩田達也、徳富 哲、神取秀樹、「ホウライシダ neochrome1-LOV2 ドメインの光誘起構造変化における Phe-1010 の役割」、第14回日本光生物学協会年会 2007年7月、奈良
9. 藤芳暁、藤原正規、松下道雄 「可視蛍光をプローブとした低温の単一タンパク質分光」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日-20日
10. 内山大輔、古屋陽、藤芳暁、松下道雄、出羽毅久、南後守、「人口脂質膜中における光合成アンテナ複合体の会合体の分光」、日本物理学会第62回年次大会（札幌、2007年9月21-24日）
11. 平井聡里、伴野元洋、太田薫、富永圭介、「赤外ポンプ-プローブ分光法によるアルコール中の9-フルオレノンのCO伸縮振動ダイナミクス」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日-20日
12. 伴野元洋、太田薫、富永圭介、「時間分解赤外分光法による水・アルコール中での酢酸の振動緩和ダイナミクス」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日-20日
13. 山口小百合、伴野元洋、太田薫、富永圭介、「サブピコ秒時間分解赤外分光法による溶液中における安息香酸の振動ダイナミクス」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日-20日
14. 太田薫、富永圭介、「赤外非線形分光法による極性溶媒中でのSCN⁻の振動ダイナミクス」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日-20日
15. 古谷祐詞、吉沢道人、藤田誠、神取秀樹、「自己組織化により形成されたM6L4型かご状錯体内部に存在する水クラスターの光化学反応に対する赤外分光法による解析」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日-20日
16. 岡崎菜穂、塚島亜希、瀬恒潤一郎、Juha. M. Lintuluoto、Masami Lintuluoto、「シクロオクタピロールへの金属挿入反応に於ける不斉誘起と速度論的光学分割」、第57回錯体化学討論会、名古屋、平成19年9月25-27日
17. 渡辺恵悟、瀬恒潤一郎、「ジピリルピリジンユニットからなる三次元籠状レセプターの

合成とそのバインディング特性」、第37回構造有機化学討論会、札幌、平成19年10月27-29日

18. 渡辺恵悟, 瀬恒潤一郎、「ジピリルピリジンユニットからなるクリプタント状ポルフィリノイドによる光学活性カルボン酸のキラリティセンシング」、日本化学会第88春季年会、東京、平成20年3月26-30日
19. 西中健, 渡辺恵悟, 瀬恒潤一郎、「クリプタント状ポルフィリノイドとアルコールのバインディング」、日本化学会第88春季年会、東京、平成20年3月26-30日
20. 久永聡, 瀬恒潤一郎、「C2対称性構造を持つシクロオクタピロールの合成」、日本化学会第88春季年会、東京、平成20年3月26-30日
21. 岩田達也, Mark L. Paddock, Melvin Y. Okamura, 神取秀樹、「紅色光合成細菌の反応中心のQB周囲の内部結合水」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
22. 柴田幹大, 出村誠, 神取秀樹、「ファラオニスハロロドプシンのクロライドポンプにおけるプロリン残基の役割」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
23. 川鍋陽, 古谷祐詞, Kwang-Hwan Jung, 神取秀樹、「Anabaena sensory rhodopsinのL中間体における細胞質側での構造変化」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
24. 伊藤元博, 須藤雄気, 古谷祐詞, 沖津貴志, 和田昭盛, John. L. Spudich, 神取秀樹、「ファラオニスセンサーロドプシンIIの光情報伝達を開始させる特異なタンパク質-発色団相互作用について」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
25. 井戸一智, 古谷祐詞, 小川誠, 神取秀樹、「粘土層間におけるロドプシン発色団の性質」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
26. 山本渥史, 岩田達也, 佐藤義彰, 松岡大介, 徳富哲, 神取秀樹、「シロイヌナズナphot1におけるLOV2ドメインからJ α ヘリックスへの光誘起構造変化の伝達メカニズム」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
27. 吉次麻衣子, 池田大亮, 柴田幹大, 古谷祐詞, 神取秀樹、「乾電池型プロテオロドプシン変異体の研究」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
28. 橋本匡平, 古谷祐詞, Ah Reum Choi, Kwang-Hwan Jung, 神取秀樹、「Gloeobacter rhodopsinにおけるレチナルの光異性化にともなうプロトドナーの構造変化」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜

③ポスター発表 (国内 130 件、国際 89 件)

H15

国際

1. 前川宏明, 太田薫, 富永圭介, “Vibrational Dynamics of the -N=C=N- Anti-symmetric Stretching Mode Studied by Infrared Nonlinear Spectroscopy”, XXIst International Conference on Photochemistry, Nara, July 26-31, 2003
2. 赤尾梢, 山本晃司, 太田薫, 水谷泰久, 富永圭介, “VIBRATIONAL STRUCTURES AND EXCITED STATE DYNAMICS OF AQUA-COMPLEXES OF TRANSITION METAL IONS IN WATER”, XXIst International Conference on Photochemistry, Nara, July 26-31, 2003
3. 野々瀬真司, 岩岡咲枝, 森啓輔, 富宅喜代一, “Structure and Reactions of Biological molecular ions Produced with Electrospray Ionization”, 第21回国際光化学会議 (2003, 奈良)

国内

1. 山本晃司, 富永圭介, 「テラヘルツ時間領域分光法による電荷移動錯体の低振動モードの追跡」、分子構造総合討論会、京都 平成15年9月
2. 佐藤卓, 飯間雄介, 戸田政明, 富永圭介, 「逆ミセルウォータープール内における色素分子の励起状態ダイナミクス; 励起波長依存性」、分子構造総合討論会、京都 平成15年9月
3. 赤尾梢, 巴山顕作, 太田薫, 水谷泰久, 富永圭介, 「水溶液中における遷移金属イオンの

d-d 遷移に対するフェムト秒ポンププローブ分光」、分子構造総合討論会、京都 平成 15 年 9 月

- 植村卓典、水谷泰久、富永圭介、「時間分解インコヒーレントアンチストークスラマン分光の偏光条件」、分子構造総合討論会、京都 平成 15 年 9 月
- 岡阿佐子、富永圭介、「テラヘルツ時間領域分光法による凝縮系のダイナミクスの研究 (ポスター)」、日本物理学会春季大会、福岡、平成 16 年 3 月
- 岡井信裕、高畑晶弘、森田真之、野々瀬真司、富宅喜代一、「フェムト秒レーザーを用いた $\text{NH}_4(\text{NH}_3)_n$ の励起状態緩和ダイナミクス」、第 19 回化学反応討論会 (2003、仙台)
- 野々瀬真司、岩岡咲枝、森啓輔、富宅喜代一、「生体分子の溶媒和クラスターイオンの構造と反応」、第 19 回化学反応討論会 (2003、仙台)
- 岩岡咲枝、野々瀬真司、森啓輔、富宅喜代一、「水和ペプチドクラスターのイオンの構造と安定性」、分子構造総合討論会 (2003、京都)
- 野々瀬真司、岩岡咲枝、森啓輔、富宅喜代一、「エレクトロスプレーイオン化法を用いた生体分子クラスターイオンの生成、構造と反応」、ナノ学会 (2003、神戸)
- 瀧上忠一、中西伸行、長谷俊治、鰐木基成、「Zea mays cytochrome b561 の cDNA クローニングと DHFR 融合タンパク質の発現」、第 41 回日本生物物理学会 (新潟) 2003 年 9 月
- Tadakazu Takigami, Fusako Takeuchi, Masashi Nakagawa, Toshiharu Hase, Motonari Tsubaki, “Stopped-flow analyses on the reaction of ascorbate with cytochrome b561 purified from bovine chromaffin vesicles”, 第 76 回日本生化学会 (横浜) 2003 年 10 月
- 小井川浩之、星野創、加藤太朗、松下道雄、「単一分子分光のための低温共焦点蛍光顕微鏡の製作」、分子構造総合討論会 2003 (京都、2003 年 9 月)
- 加藤太朗、小井川浩之、星野創、内山大輔、キムチャンマン、松下道雄、「単一分子分光のための低温共焦点顕微装置の製作」、日本物理学会 2004 年春の年会 (福岡、2004 年 3 月)
- 岩田達也、野崎大、松岡大介、神取秀樹、徳富哲、「FTIR 分光測定で検出された構造変化に基づくフォトトロピン LOV ドメインの機能分担」、第 41 回日本生物物理学会年会 2003 年 9 月、新潟
- 野崎大、岩田達也、徳富哲、神取秀樹、「phy3LOV2 ドメイン中でのアダクト形成反応における温度効果」、第 41 回日本生物物理学会年会 2003 年 9 月、新潟
- 柴田幹大、谷本太郎、神取秀樹、「バクテリオロドプシン変異体による負電荷に水和した水分子の構造解析」、第 41 回日本生物物理学会年会 2003 年 9 月、新潟
- 谷本太郎、Johan Lugtenburg, Judith Herzfeld, 神取秀樹、「バクテリオロドプシンのプロトンポンプにおける Thr89 の役割」、第 41 回日本生物物理学会年会 2003 年 9 月、新潟
- 水谷泰久、「リガンド再結合の時間スケールにみられるミオグロビンの構造揺らぎ」、2003 年分子構造総合討論会、平成 15 年 9 月、京都
- 名本陽介、水谷泰久、「ニッケルオクタエチルポルフィリンの光誘起配位反応：配位子の配位サイト数による違い」、2003 年分子構造総合討論会、平成 15 年 9 月、京都

H16

国際

- A. Tanabe and J. Setsune, “Synthesis of Expanded Porphyrins with Functional Groups”, The 3rd International Conference of Porphyrins and Phthalocyanines, New Orleans, Abstract 857, 2004年7月15日
- M. Toda, T. Yoshida, and J. Setsune, “Synthesis of Expanded Rosarins Using Bipyrrrole Derivatives”, The 3rd International Conference of Porphyrins and Phthalocyanines, New Orleans, Abstract 865, 2004年7月15日
- 岡井信裕、荒西研吾、富宅喜代一, “Multiphoton Ionization and Oxidation Processes of $\text{Mg}^+(\text{NH}_3)_n$ ”, 国際シンポジウム「化学反応の立体ダイナミクス」、大阪、平成 16 年 11 月 28 日 - 12 月 3 日

4. K. Fuke, A. Fujiwara, T. Miyata, N. Okai, K. Hashimoto, "Formation of Ion-pair States and Solvation Dynamics in Small Clusters", Gordon Research Conference, France, 2004.
5. Fusako Takeuchi, Hiroshi Hori, Eiji Obayashi, Yoshitsugu Shiro, Motonari Tsubaki, "Properties of two distinct heme centers of cytochrome b561 from bovine chromaffin vesicles studied by EPR, resonance Raman, and ascorbate reduction assay", The 7th International Conference on Plasma Membrane Redox Systems and Their Role in Biological Stress and Disease, Asilomar (CA, USA), April 14-18, 2004.
6. M. Shibata, and H. Kandori, "FTIR Studies of Internal Water Molecules in the Schiff Base Region of Bacteriorhodopsin", 14th International Congress on Photobiology, June 2004, Jeju, Korea
7. D. Nozaki, T. Iwata, T. Ishikawa, T. Todo, S. Tokutomi, and H. Kandori, "Role of Gln1029 in the Photoactivation Processes of the LOV2 Domain in *Adiantum* Phytochrome3", The 58th Yamada Conference "Light Sensing and Signal Transduction in Plant Photomorphogenesis", June 2004, Okazaki, Japan

国内

1. 戸田政明、富永圭介、“逆ミセル・ウォータープールにおけるプロトン移動”、分子研研究会、岡崎、平成 16 年 7 月 21 日
2. 巴山顕作、太田薫、富永圭介、“水溶液中における遷移金属イオンのフェムト秒ポンププローブ分光”、分子研研究会、平成 16 年 7 月 21 日
3. Md. Humayun Kabir、林倫年、富永圭介、“Computational Study of the Hexamethylbenzene-Tetracyanoethylene Charge-Transfer Complexes”、分子構造総合討論会、広島、平成 16 年 9 月 27~30 日
4. 飯間雄介、佐藤卓、富永圭介、“逆ミセル内における色素分子の溶媒和ダイナミクスと蛍光の異方性減衰”、平成 16 年 11 月 1 日、光化学討論会、筑波
5. 巴山顕作、太田薫、富永圭介、“水溶液中における遷移金属イオンのフェムト秒ポンププローブ分光”、光化学討論会、筑波、平成 16 年 11 月 2 日
6. 戸田政明、富永圭介、“逆ミセル・ウォータープール内における励起状態プロトン移動”、光化学討論会、筑波、平成 16 年 11 月 3 日
7. 岡阿佐子、富永圭介、“テラヘルツ電磁波分光による無極性溶媒中における極性溶質分子の低振動スペクトル”、光化学討論会、筑波、平成 16 年 11 月 3 日
8. 森めぐみ、大川稔文、瀬恒潤一郎、“オクタフィリンおよびその金属錯体の動的構造”、第54回錯体化学討論会IPC149, 2004年9月24日
9. Lintuluoto Juha、瀬恒潤一郎、“メソテトラアリアルオクタフィリン(1.0.1.0.1.0.1.0)の溶液中ダイナミクス”、日本化学会第85春季年会3PA-007、2005年3月28日
10. 森啓輔、藤原亮正、柴田洋平、岩岡咲枝、野々瀬真司、富宅喜代一、“水和ペプチドイオンの光解離過程”、分子構造総合討論会、広島、平成 16 年 9 月 27-30 日
11. 宮田知代子、藤原亮正、富宅喜代一、“ $\text{Na}_m(\text{H}_2\text{O})_n$ クラスターの光電子脱離分光”、分子構造総合討論会、広島、平成 16 年 9 月 27-30 日
12. 荒西研吾、岡井信裕、富宅喜代一、“気相クラスター中での水和電子の生成初期過程”、分子構造総合討論会、広島、平成 16 年 9 月 27-30 日
13. 岡井信裕、高畑晶弘、富宅喜代一、“溶媒和金属イオンクラスターの多価イオン化と酸化反応ダイナミクス”、化学反応討論会、東京、平成 16 年 6 月 23-25 日
14. 岡井信裕、荒西研吾、富宅喜代一、“一置換アンモニウムラジカルクラスターの生成機構と反応性”、化学反応討論会、東京、平成 16 年 6 月 23-25 日
15. 藤原亮正、宮田知代子、大極光太、橋本健朗、富宅喜代一、“金属クラスターの溶解過程”、ナノ学会、東京、平成 16 年 5 月 9-11 日
16. 中西伸行、武内総子、堀洋、鏑木基成、“Diethyl pyrocarbonate 処理に伴う cytochrome b5 の redox 変化”、第31回生体分子科学討論会、水戸、平成 16 年 7 月 2 日
17. 武内総子、堀洋、鏑木基成、“チトクロム b561 システイン残基の 4-PDS 修飾に伴う小胞内へムへの特異的影響”、第 77 回日本生化学会大会、横浜、平成 16 年 10 月 14 日

18. 中西伸行、武内総子、堀洋、岡本英嗣、田村厚夫、鏑木基成、“シトクロム b5 の DEPC 処理によって明らかにされたアスコルビン酸依存性シトクロム b561 の還元機構”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、平成 16 年 12 月 14 日
19. 小井川浩之、加藤太朗、キムチャンマン、松下道雄、“単一分子分光による極低温でのタンパク質の構造揺らぎの観察”、日本物理学会 2004 年秋季大会、青森、平成 16 年 9 月 14 日
20. 内山大輔、星野創、松下道雄、末守良春、出羽毅久、南後守、“脂質膜中の光合成アンテナ複合体 LH2 の単一分子分光”、分子構造総合討論会 2004、広島、平成 16 年 9 月 28 日
21. 小井川浩之、キムチャンマン、松下道雄、末守良春、出羽毅久、南後守、“単一分子分光による光合成アンテナ複合体の発光励起スペクトルの 5K から 40K における温度変化”、日本物理学会第 60 回年次大会、東京理科大学野田キャンパス、平成 17 年 3 月 27 日
22. 野崎大、岩田達也、佐藤義彰、佐藤恭介、二科安三、志賀潔、徳富哲、神取秀樹、“フォトリポソムのフラビン発色団に対する同位体標識の試み”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、2004 年 12 月
23. 直原一徳、岩田達也、松岡大介、藤堂剛、神取秀樹、徳富哲、“シロイヌナズナ FKF1-LOV ドメインの低温における光反応: FTIR と UV-vis 吸収による測定”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都 2004 年 12 月
24. 岩田達也、野崎大、徳富哲、神取秀樹、“ホウライシダフィトクロム 3 における 2 つの LOV ドメインの光反応の相違”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、2004 年 12 月
25. 柴田幹大、宗田法和、佐々木貴規、下野和実、出村誠、加茂直樹、神取秀樹、“赤外分光法によるファラオニスハロドロプシンの塩素イオンポンプ機構”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都 2004 年 12 月
26. 野崎大、岩田達也、石川智子、藤堂剛、徳富哲、神取秀樹、“Phy3-LOV2 ドメインの光誘起構造変化に対する Gln1029 と Asn1008 の役割: 赤外分光法を用いた Q1029L と N1008V 変異体の振動解析”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、2004 年 12 月
27. 佐藤義彰、岩田達也、野崎大、徳富哲、神取秀樹、“低温ではなぜ光反応しないフォトリポソム分子が存在するのか?”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、2004 年 12 月
28. 水出紀子、柴田幹大、神取秀樹、“バクテリオドロプシン変異体を用いた「水和スイッチモデル」の検討”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、2004 年 12 月
29. 宗田法和、柴田幹大、佐々木貴規、下野和実、出村誠、加茂直樹、神取秀樹、“ファラオニスハロドロプシンにおける陰イオン依存的な内部結合水とシッフ塩基振動モードの解析”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、2004 年 12 月
30. 岩田達也、野崎大、徳富哲、神取秀樹、“植物の青色光センサー蛋白質における光情報変換のメカニズム”、分子科学研究所研究会「物理化学から生命科学を展望する: 分子組織体から細胞へ」、岡崎 2004 年 12 月
31. 柴田幹大、神取秀樹、“イオン輸送タンパク質における内部結合水のはたらき”、分子科学研究所研究会「物理化学から生命科学を展望する: 分子組織体から細胞へ」、岡崎、2004 年 12 月
32. 村川由佳、長井雅子、水谷泰久、“酸素の脱離に伴うヘモグロビンの構造ダイナミクス”、第 42 回日本生物物理学会年会、京都、2004 年 12 月

H17

国際

1. Asako Oka and Keisuke Tominaga, “Terahertz Spectroscopy of Polar Solute Molecules in Non-Polar Solvents”, the 5th International Discussion Meeting on Relaxations in Complex Systems (SIDMRCS) Lille, France, 7-13 July (2005).
2. Asako Oka and Keisuke Tominaga, “Study on the molecular motion of the polar and non-polar solute molecule in the non-polar solvent by THz-TDS”, 6th Liquid Matter Conference of the European Physical Society, Utrecht, the Netherlands, 2-6 July (2005).
3. Mikihiro Shibata and Hideki Kandori, "Structural Analysis of Internal Water Molecules of Bacteriorhodopsin by Low-Temperature FTIR Spectroscopy", The 3rd Open Workshop for "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules", January 2006, Okazaki,

Japan

4. Yuusuke Iima, Keisuke Tominaga, "Solvation dynamics and orientational relaxation of dye molecule in reverse micelles: Excitation wavelength dependence (poster)", *Pacificchem 2005*, Honolulu Hawaii, Dec. 15-20 (2005).
5. Masaaki Toda, Keisuke Tominaga, "Reaction dynamics in a reverse micelle: Proton transfer reaction in the excited state", *Pacificchem 2005*, Honolulu Hawaii, Dec. 15-20 (2005).
6. M. Mori, J. M. Lintuluoto, J. Setsune, "Conformational stability of the figure eight structure of octaphyrin (1.0.1.0.1.0.1.0)", Program No. 886. The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
7. A. Tsukajima, J. Watanabe, J. Setsune, "Synthesis of giant calixpyrins and their structure control by metallation. Program No. 908. The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
8. J. M. Lintuluoto, M. Toda, M. Mori, J. Setsune, "Cyclopolypyrroles: New sensors for the absolute configuration determination of carboxylic acids", Program No. 1030. The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
9. M. Toda, T. Yoshida, J. Setsune, "Synthesis and coordination chemistry of meso-aryl expanded porphyrins composed of bis (2-pyrryl) arene units", Program No. 1436. The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
10. N. Okai, A. Takahata and K. Fuke, "Spectroscopy and Dynamics of Ammonium Radical in Clusters", The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
11. N. Okai, H. Ishikawa and K. Fuke, "Hydration Process of Mg and Ca Atoms in Water Clusters", The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
12. A. Fujihara, C. Miyata, K. Daigoku, K. Hashimoto, H. Ishikawa and K. Fuke, "Solvation Process of Metal Aggregates in Water Clusters", The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
13. A. Fujihara, Y. Shibata, H. Matsumoto, K. Mori, H. Ishikawa and K. Fuke, "The Stability and Reactivity of the Hydrated Peptide Ions", The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
14. K. Fuke, N. Okai, S. Yoshida, and A. Takahata, "Multiphoton Ionization and Oxidation Processes of Mg-Ammonia Clusters in Intense Laser Field", The 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
15. Yuka Murakawa and Yasuhisa Mizutani, "Ligand dependence in structural dynamics of hemoglobin: differences between oxygen and carbon monoxide", *Pacificchem 2005*, Honolulu, Hawaii, USA, December 15-20, 2005.
16. Mikihiro Shibata and Hideki Kandori, "Complete assignment of the O-D stretching vibrations of internal water molecules in the K minus bacteriorhodopsin difference infrared spectra", *Pacificchem-2005*, Symposium on Photoisomerization Processes, Torsional Relaxation and the Hula-twist, Dec. 19, Honolulu (USA).
17. A. Oka and K. Tominaga, "Terahertz time-domain spectroscopy on solutions: dynamics and interactions of solute molecules in non-polar solvents", *4th Asian Conference on Ultrafast Phenomena*, Hong Kong, January 9-11 (2006).

国内

1. 戸田政明、富永圭介、「逆ミセル・ウォータールール中における励起状態反応ダイナミクス」、第21回化学反応討論会、大阪、平成17年6月1日
2. 戸田政明、富永圭介、「制限空間におけるピラニンの励起状態ダイナミクス」、光化学討論会、福岡、平成17年9月13日
3. 飯間雄介、富永圭介、「蛍光プローブ分子を用いた逆ミセル中での遅いダイナミクスの観測」、光化学討論会、福岡、平成17年9月13日
4. 岡阿佐子、富永圭介、「THz-TDSを用いた無極性溶媒中の極性分子の運動の研究」、日本物理学会2005年秋季大会、京都、平成17年9月22日
5. 太田 薫、富永 圭介、「極性有機溶媒中での SCN⁻の振動エネルギー緩和過程」、分子構造

総合討論会、東京、平成 17 年 9 月 28 日

6. 森めぐみ、Lintuluoto Juha、瀬恒潤一郎、“ 32π 及び 34π 電子系オクタフィリンの動的構造”、第 35 回構造有機化学討論会講演要旨集 p84、2005 年 9 月 9 日
7. 瀬恒潤一郎、戸田雅之、吉田高史、“新規なビピロール誘導体を構成単位とする大環状ポルフィリノイド金属錯体の合成”、第 52 回有機金属化学討論会講演要旨集 P130、2005 年 9 月 16 日
8. 藤原亮正・柴田洋平・松本浩幸・森啓輔・石川春樹・富宅喜代一、“水和ポリペプチドイオンの安定性と光化学反応過程”、化学反応討論会(2005 年 6 月 1-3 日、大阪)
9. 岡井信裕、石川春樹、富宅喜代一、“アルカリ土類金属原子の水和過程と溶媒和ダイナミックス”、分子構造総合討論会(2005 年 9 月 26-30 日、東京)
10. 柴田洋平、藤原亮正、松本浩幸、石川春樹、富宅喜代一、“温度可変 2 2 極子イオントラップの製作とクラスターイオンへの応用”、分子構造総合討論会(2005 年 9 月 26-30 日、東京)
11. 藤芳暁、キムチャンマン、松下道雄、“単一タンパク分光を目指した多光子顕微鏡の開発”、日本物理学会第 61 回年次大会、同志社大学、平成 17 年年 9 月 19-22 日
12. 小井川浩之、藤芳暁、松下道雄、末守良春、出羽毅久、南後守、“単一分子分光による光合成アンテナ複合体のスペクトル拡散の観察”、2005 分子構造総合討論会、東京、平成 17 年年 9 月 29 日
13. キムチャンマン、藤芳暁、松下道雄、“紫外域の単一分子分光を目指した多光子顕微鏡の開発”、2005 分子構造総合討論会、東京、平成 17 年年 9 月 29 日
14. 柴田幹大、宗田 法和、佐々木 貴規、下野 和実、加茂 直樹、出村 誠、神取秀樹、「赤外分光法による塩素イオンポンプ機構の研究」、分子研究会「ロドプシンの仲間・G 蛋白質共役型レセプターの機能と構造」、2005 年 6 月、岡崎
15. Victor Lorenz-Fonfria、神取秀樹、“Time-resolved step-scan FTIR spectroscopy of bacteriorhodopsin including the O-H and O-D stretching regions”、分子研究会「ロドプシンの仲間・G 蛋白質共役型レセプターの機能と構造」、2005 年 6 月、岡崎
16. 小山舞、根矢三郎、水谷泰久、“ミオグロビンの振動エネルギー緩和におけるプロピオン酸基の効果”、2005 年分子構造総合討論会、東京、平成 17 年 9 月 27 日~30 日
17. 村川由佳、水谷泰久、「酸素の脱離に伴うヘムの構造ダイナミクス：ミオグロビンに関する研究」、日本生物物理学会第 43 回年会、札幌、平成 17 年 11 月 23 日~25 日
18. 晝間祐介、菊地晶裕、城宜嗣、水谷泰久、「リガンド脱離に伴う酸素センサータンパク質(FixL)の構造ダイナミクス」、日本生物物理学会第 43 回年会、札幌、平成 17 年 11 月 23 日~25 日
19. 藤原杏季子、水谷泰久、「グルコース酸化酵素の光誘起電子移動反応：ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光法による研究」、日本生物物理学会第 43 回年会、札幌、平成 17 年 11 月 23 日~25 日
20. 岸本梨紗、飯間雄介、富永圭介、「蛍光異方性減衰による電解質水溶液中の色素分子の配向緩和」、第 28 回溶液化学シンポジウム、京都、平成 17 年 11 月 17 日
21. Nobuyuki Nakanishi, Tadakazu Takigami, Fusako Takeuchi, Toshiharu Hase, Sam-Yong Park, Motonari Tsubaki, “Difference in the electron accepting reaction from ascorbate between bovine cytochrome b561 and Zea mays cytochrome b561”、第 78 回日本生化学会大会 (神戸、2005 年 10 月 20 日)
22. Fusako Takeuchi, Yohei Yamamoto, Sam-Yong Park, Motonari Tsubaki, “Cytochrome b561 protein-protein interaction in chromaffin vesicles”、第 78 回日本生化学会大会 (神戸、2005 年 10 月 20 日)
23. 神取秀樹、古谷祐詞、柴田幹大、住井昌代、水出紀子、宗田法和、池田大亮、川鍋 陽、加茂直樹、出村 誠、井原邦夫、K.-H. Jung、L. S. Brown、「ロドプシンがプロトンをポンプするためには強い水素結合を形成した内部結合水が必要である」、第 43 回日本生物物理学会年会、11 月 24 日、札幌

24. 水出紀子、柴田幹大、M. Sheves、神取秀樹、「低温赤外分光法による暗順応型バクテリオロドプシンの構造解析」、第43回日本生物物理学会年会、11月24日、札幌
25. 柴田幹大、井原邦夫、神取秀樹、「クロライドイオンをポンプするバクテリオロドプシン変異体の低温赤外分光」、第43回日本生物物理学会年会、11月24日、札幌
26. 宗田法和、柴田幹大、佐々木貴規、出村 誠、加茂直樹、神取秀樹、「プロトンをポンプするアジド結合同型ハロロドプシンの低温赤外分光」、第43回日本生物物理学会年会、11月24日、札幌
27. V. A. Lorenz Fonfria、神取秀樹、“Room temperature FTIR difference spectra of L and M intermediates of bacteriorhodopsin at 5000-800 cm⁻¹”、第43回日本生物物理学会年会、11月24日、札幌
28. 佐藤義彰、岩田達也、野崎 大、佐藤恭介、二科安三、志賀 潔、徳富 哲、神取秀樹、「低温赤外分光法による phy3-LOV2 ドメインの励起三重項状態の構造解析」、第43回日本生物物理学会年会、11月24日、札幌
29. 岩田達也、野崎 大、佐藤義彰、佐藤恭介、二科安三、志賀 潔、徳富 哲、神取秀樹、「13C 標識試料を用いた phy3-LOV2 ドメインの C=O 伸縮振動の帰属」、第43回日本生物物理学会年会、11月24日、札幌
30. 小井川浩之、藤芳暁、松下道雄、末守良春、出羽毅久、南後守、「極低温における単一分子分光でみられる光合成アンテナ複合体のスペクトル拡散について」、日本物理学会第61回年次大会、28pPSB-55 2006年3月28日(愛媛大学・松山大学)
31. 山本渥史、岩田達也、徳富哲、神取秀樹、「ホウライシダ Phytochrome3LOV2 ドメインにおける光誘起的構造変化の水和量依存性」、第47回日本植物生理学会年会 2006年3月、筑波

H18

国際

1. Takeuchi, F., Yamamoto, Y., Nishimura, Y., Park, S.-Y., and Tsubaki, M., "Protein-protein interaction of cytochrome b561 in chromaffin vesicle membranes studied by two-dimensional blue-native/sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis and co-immunoprecipitation analysis", (poster, P23), *8th International Conference on Membrane Redox Systems and Their Role in Biological Stress and Disease* (4-8 April, 2006), Szeged, Hungary.
2. Tsubaki, M., Takeuchi, F., Nakanishi, N., and Park, S.-Y., "Expanding roles and versatile transmembrane electron transfer abilities of cytochrome b561 protein family as predicted by a new classification system and protein sequence motif analyses", (poster, 1P-A-313), *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress* (18-23 June, 2006), Kyoto, Japan.
3. Nishimura, Y., Takeuchi, F., Park, S.-Y., and Tsubaki, M., "Protein-protein interaction of cytochrome b561 in chromaffin vesicle membranes studied by two-dimensional blue-native/sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis", (poster, 1P-A-314), *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress* (18-23 June, 2006), Kyoto, Japan.
4. Hamada, J., Nakanishi, N., Qu, P., Takeuchi, F., Park, S.-Y., and Tsubaki, M., "Transmembrane insertion of a C-tail-anchored protein, human cytochrome b5, into protein-free phospholipid vesicles", (poster, 1P-A-315), *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress* (18-23 June, 2006), Kyoto, Japan.
5. Juha M. Lintuluoto and Jun-ichiro Setsune, "Flexible Octaphyrins Capable of Sensing Chirality of Carboxylic Acids", *7th International Symposium on Functional pi-Electron Systems*, 5/15-20, 2006, Osaka, Abstract P179 (5/17, 2006).
6. K. Panda and Jun-ichiro Setsune, Dipyrrolyl-dipyrromethene based macrocycle: A new class of expanded porphyrinoid Pradecepta, *7th International Symposium on Functional pi-Electron Systems*, 5/15-20, 2006, Osaka, Abstract P232 (5/17, 2006).
7. V. A. Lorenz Fonfria and H. Kandori, "Room-Temperature FTIR Spectroscopy of Active Internal Water Molecules in the Bacteriorhodopsin Photocycle", *12th International Conference on Retinal*

- Proteins*, Awaji Island, Japan, May 2006.
8. Mikihiro Shibata, Kunio Ihara and Hideki Kandori, "FTIR Studies of the Hydrogen-Bonding Interaction of the Protonated Schiff Base with Halides in a Chloride-Pumping Bacteriorhodopsin Mutant", *12th International Conference on Retinal Proteins*, Awaji Island, May 2006.
 9. Daisuke Ikeda, Yuji Furutani, Mikihiro Shibata and Hideki Kandori, "Strongly Hydrogen-Bonded Water Molecule only Present in the Alkaline Form of Proteorhodopsin", *12th International Conference on Retinal Proteins*, Awaji Island, May 2006.
 10. Kazutomo Ido, Yuji Furutani, Masako Sasaki Makoto, Ogawa and Hideki Kandori, "Clay Acts as a Novel Matrix to Mimic Visible Absorption Spectra of the Protonated Retinal Schiff Base in Rhodopsin", *12th International Conference on Retinal Proteins*, Awaji Island, May 2006.
 11. Maiko Yoshitsugu, Mikihiro Shibata, Noriko Mizuide, Kunio Ihara and Hideki Kandori, "Halide-bound D212N mutant protein of Bacteriorhodopsin", *12th International Conference on Retinal Proteins*, Awaji Island, May 2006.
 12. Yuki Sudo, Hideki Kandori and J. L. Spudich, "Functional Importance of a Hydrogen Bond between Thr204 and Tyr174 of Sensory Rhodopsin II and its Alteration during the Functional Signaling Process", *12th ICRP Satellite Meeting in Nagoya "Structure, Function & Evolution of Rhodopsins: Mechanisms of Proton Transfer and Color Tuning"*, Nagoya, June 2006.
 13. A. Sato, Y. Gao, T. Kitagawa and Y. Mizutani, "Site-specific Observation of Ultrafast Structural Relaxation of Photodissociated Carbonmonoxy Myoglobin", *International Workshop on Protein Dynamics and Biological Applications of Time-Resolved Spectroscopy*, Kobe, August 18-19, 2006.
 14. M. Mizuno, N. Hamada, F. Tokunaga and Y. Mizutani, "Picosecond Structural Dynamics of the Protein Backbone of Photoactive Yellow Protein: A Time-Resolved Ultraviolet Resonance Raman Study", *International Workshop on Protein Dynamics and Biological Applications of Time-Resolved Spectroscopy*, Kobe, August 18-19, 2006.
 15. K. Ohta, and K. Tominaga, "Vibration Dynamics of Hydrogen Bonded Systems with Nonlinear Infrared Spectroscopy", *International Workshop on Protein Dynamics and Biological Applications of Time-Resolved Spectroscopy*, Kobe, August 18-19, 2006.
 16. V. A. Lorenz Fonfria, H. Kandori, "Room-temperature FTIR spectroscopy of active internal water molecules in the bacteriorhodopsin photocycle", *International Workshop on Protein Dynamics and Biological Applications of Time-Resolved Spectroscopy*, Kobe, August 18-19, 2006
 17. M. Shibata, K. Ihara, H. Kandori, "FTIR studies of the hydrogen-bonding interaction of the protonated Schiff base with halides in a chloride-pumping bacteriorhodopsin mutant", *International Workshop on Protein Dynamics and Biological Applications of Time-Resolved Spectroscopy*, Kobe, August 18-19, 2006.
 18. A. Inagaki and Y. Mizutani., "Structural Dynamics of Hemoglobin Encapsulated in Silica gels", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006)
 19. K. Ikeshima and K. Tominaga, "The low-frequency spectra of normal and deuterated methanols by terahertz time-domain spectroscopy", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006)
 20. A. Fujiwara and Y. Mizutani, "Photoinduced Electron Transfer in Glucose Oxidase: a Picosecond Time-resolved Ultraviolet Resonance Raman Study", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006)
 21. A. Sato, Y. Gao, T. Kitagawa and Y. Mizutani, "Site-specific Observation of Ultrafast Structural Relaxation of Photodissociated Carbonmonoxy Myoglobin", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006)
 22. M. Mizuno, N. Hamada, F. Tokunaga and Y. Mizutani, "Picosecond Structural Dynamics of the Protein Backbone of Photoactive Yellow Protein: A Time-Resolved Ultraviolet Resonance Raman Study", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006)
 23. M. Koyama, S. Neya and Y. Mizutani, "Effect of Heme Propionates on Dynamics of Myoglobin", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006)
 24. S. Yamaguchi and K. Tominaga, "Intermolecular vibrations of benzoic acid dimer in solution by terahertz time-domain spectroscopy", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*, Yokohama, August 20-25 (2006)
 25. K. Ohta and K. Tominaga, "Vibrational Dynamics of Hydrogen-Bonded Phenol Studied by Ultrafast Pump-Probe Spectroscopy", *20th International Conference on Raman Spectroscopy*,

- Yokohama, August 20-25 (2006)
26. K. Panda and Jun-ichiro Setsune, "Synthesis and study of expanded rosarin using fluorene Pradeepta", *4th International Conference of Porphyrins and Phthalocyanines*, Rome, Italy, 6/30-7/6
 27. Motohiro Banno, Kaoru Ohta, and Keisuke Tominaga, "Liquid Dynamics and Intermolecular Interactions in Aqueous Solutions and Biological Systems Studied by Femtosecond Laser Spectroscopy", *The 4th Open Workshop "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules"*, Kyoto December 18-19, (2006).
 28. Tatsuya Iwata, Dai Nozaki, Yoshiaki Sato, Satoru Tokutomi and Hideki Kandori, "LIGHT-INDUCED SWITCHING MECHANISM OF A BLUE-LIGHT SENSOR PROTEIN IN PLANTS", *International Conference on Advanced Ceramics*, October 2006, Nagoya.
 29. Mikihiro Shibata, Maiko Yoshitsugu, Noriko Mizuide, Kunio Ihara and Hideki Kandori, "Halide-bound D212N mutant protein of Bacteriorhodopsin", 第5回東アジア生物物理学シンポジウム・第44回日本生物物理学会年会合同会議, 平成18年11月12日～16日, 沖縄.
 30. Tatsuya Iwata, Dai Nozaki, Satoru Tokutomi and Hideki Kandori, "Identification of the N-H stretch of Asn1008 by FTIR spectroscopy in the LOV2 domain of Adiantum Phytochrome3", 第5回東アジア生物物理学シンポジウム・第44回日本生物物理学会年会合同会議, 平成18年11月12日～16日, 沖縄
 31. Mikihiro Shibata, Makoto Demura and Hideki Kandori "Structural changes in the L2-intermediate of pharaonis halorhodopsin studied by FTIR spectroscopy", 第5回東アジア生物物理学シンポジウム・第44回日本生物物理学会年会合同会議, 平成18年11月12日～16日, 沖縄.
 32. Atsushi Yamamoto, Tatsuya Iwata, Satoru Tokutomi and Hideki Kandori, "Role of Phe-1010 in the light-induced structural changes of LOV2 domain of Adiantum Phytochrome3", 第5回東アジア生物物理学シンポジウム・第44回日本生物物理学会年会合同会議, 平成18年11月12日～16日, 沖縄.
 33. Maiko Yoshitsugu, Mikihiro Shibata and Hideki Kandori, "H-D unexchangeable N-H group of Trp182 in Bacteriorhodopsin", 第5回東アジア生物物理学シンポジウム・第44回日本生物物理学会年会合同会議, 平成18年11月12日～16日, 沖縄.
 34. Akiko Fujiwara and Yasuhisa Mizutani, Photoinduced Electron Transfer in Glucose Oxidase: A Picosecond Time-resolved Ultraviolet Resonance Raman Study, 第5回東アジア生物物理学シンポジウム・第44回日本生物物理学会年会合同会議, 平成18年11月12日～16日, 沖縄.
 35. Atsushi Inagaki and Yasuhisa Mizutani, Dynamics of Hemoglobin in Fixed Quaternary Structure, 第5回東アジア生物物理学シンポジウム・第44回日本生物物理学会年会合同会議, 平成18年11月12日～16日, 沖縄.
 36. Motohiro Banno, Kaoru Ohta, and Keisuke Tominaga, "Ultrafast vibrational dynamics of C=O stretch of acetic acid in aqueous solution studied by IR pump-probe spectroscopy", *1st Asian Spectroscopy Conference & Asian Biospectroscopy Conference*, Bangalore, India, January 29-February 3 (2007).
 37. Y. Furutani, H. Kandori, "Structural changes of an archaeal rhodopsin for light signal transduction", *SOKENDAI International Symposium on Electro-chemical signaling by membrane proteins*, March 2007, Okazaki (Japan).
 38. M. Shibata, M. Demura, H. Kandori, "FTIR studies of the light-driven chloride pump from pharaonis halorhodopsin", *SOKENDAI International Symposium on Electro-chemical signaling by membrane proteins*, March 2007, Okazaki (Japan).
 39. A. Kawanabe, Y. Furutani, K-H. Jung, H. Kandori, "Hydrogen-bonding network in Anabaena sensory rhodopsin", *SOKENDAI International Symposium on Electro-chemical signaling by membrane proteins*, March 2007, Okazaki (Japan).
 40. M. Yoshitsugu, M. Shibata, N. Mizuide, K. Ihara, H. Kandori, "Halide-bound D212N mutant protein of bacteriorhodopsin", *SOKENDAI International Symposium on Electro-chemical signaling by membrane proteins*, March 2007, Okazaki (Japan).
 41. Hiroyuki Oikawa, Satoru Fujiyoshi, Michio Matsushita, Takehisa Dewa, and Mamoru Nango, "Temperature dependence of thermal motion of a single protein followed by spectral diffusion of chromophores between 5 and 40 K", *Light-Harvesting Processes* (Banz Monastery, Germany,

March 21-24, 2007).

国内

1. 西野曜子、藤原亮正、岡井信裕、石川春樹、富宅喜代一、「溶媒和Mg原子の構造と反応性」、第22回化学反応討論会、岡崎、6月7日
2. 稲垣厚志、水谷泰久、「ゲル中にトラップしたヘモグロビンの構造ダイナミクス：アロステリックエフェクターの効果」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
3. 池嶋康二、太田薫、富永圭介、「超高速振動分光法による液体メタノールの振動ダイナミクスと重水素効果」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
4. 伴野元洋、太田薫、富永圭介、「サブピコ秒時間分解赤外分光法による水溶液中の酢酸およびグリシンCO二重結合の振動ダイナミクスとそのpH依存性」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
5. 山口小百合、伴野元洋、太田薫、富永圭介、「超高速時間分解分光法による溶液中における安息香酸二量体の振動ダイナミクス」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
6. 古々本麻理、水谷泰久、「マイクロ秒一分子蛍光スペクトル測定法の開発」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
7. 岸本梨紗、富永圭介、「蛍光異方性減衰測定による電解質水溶液中での色素分子の回転緩和の研究」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
8. 松本浩幸、藤原亮正、前川亜耶子、石川春樹、富宅喜代一、「プロトン化したペプチドイオンの光解離過程」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
9. 内山大輔、藤芳暁、松下道雄、末守良春、出羽毅久、南後守、「人工脂質膜における光合成アンテナ複合体LH2の構造」、分子構造総合討論会、静岡、平成18年9月20日-23日
10. 内山大輔、藤芳暁、松下道雄、末守良春、出羽毅久、南後守、「ミセルと脂質膜における光合成アンテナ複合体の構造の研究」、日本物理学会2006年秋季大会、千葉、9月23~26日
11. K. Watanabe, J. Setsune, "Synthesis and Properties of Multinuclear Complexes Ligated by Cyclooligomers of Heterocycles", 第53回有機金属化学討論会、大阪、9/8-9/9
12. A. Tsukajima, J. Setsune, "Synthesis, Structure and Reaction Behavior of Isocorrole Metal Complexes", 第53回有機金属化学討論会、大阪、9/8-9/9
13. 塚島亜希、瀬恒潤一郎、「C2対称性calix[8]phyrin金属錯体の光学分割と不斉選択的合成」、第56回錯体化学討論会、広島、9/16-18
14. 森めぐみ、戸田雅之、瀬恒潤一郎、「環拡大ポルフィリンの多核金属錯体の合成」、第56回錯体化学討論会、広島、9/16-18
15. 中山佳奈、Juha M. Lintuluoto、瀬恒潤一郎、「光学活性カルボン酸によるオクタフィリン(1.0.1.0.1.0.1.0)の不斉誘起」、第21回生体機能関連化学シンポジウム、京都、9/28-30
16. 岡崎菜穂、瀬恒潤一郎、「メソ-テトラピリジルオクタフィリンの合成と錯体形成」、日本化学会第87春季年会 2007年(3月25-28日)
17. 皮間未来、瀬恒潤一郎、「ビピリジンスペーサーを有するポルフィリノイドの合成と性質」、日本化学会第87春季年会 2007年(3月25-28日)

H19

国際

1. S. Hirai, M. Banno, K. Ohta, D. K. Palit, K. Tominaga, "Vibrational Dynamics of the CO Stretching of Fluorenone in Various Alcohols", *13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, Freising, May 19-25, 2007.
2. K. Ohta and K. Tominaga, "Vibrational Population Relaxation of Hydrogen-Bonded Phenol in Solution Studied by Ultrafast Infrared Pump-Probe Spectroscopy", *13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, Freising, May 19-25, 2007.

3. K. Ikeshima, M. Banno, K. Ohta, K. Tominaga, "Vibrational Relaxation of OH and OD Stretching of Methanol in Isotopically Diluted Solutions", *13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, Freising, May 19-25, 2007.
4. S. Yamaguchi, M. Banno, K. Ohta, K. Tominaga, "Vibrational Dynamics of Benzoic Acid in Solutions Studied by Sub-Picosecond Time-Resolved Infrared Spectroscopy", *13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, Freising, May 19-25, 2007.
5. K. Ohta, K. Tominaga, "Vibrational Dynamics in Hydrogen-Bonding and Non-Hydrogen Bonding Liquids and Complexes", *13th International Conference on Time-Resolved Vibrational Spectroscopy*, Freising, May 19-25, 2007.
6. T. Yagasaki and S. Saito, "Theoretical two-dimensional spectroscopy of water", *International symposium on molecular theory of real systems*, Kyoto, July 27-29 (2007).
7. J. Tayama, K. Ohta, K. Tominaga, "Infrared Three-Pulse Photon Echo Study of Thiocyanate Anion in Primary Alcohols", *Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 and 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan Molecular Approaches to Complex Liquids System*, Fukuoka, 21-25 November, 2007.
8. K. Ikeshima, S. Saito, K. Tominaga, "Hydrogen Bond Dynamics of Normal and Deuterated Methanols Studied by Low-Frequency Spectral Measurement", *Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 and 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan Molecular Approaches to Complex Liquids System*, Fukuoka, 21-25 November, 2007.
9. S. Kawaguchi, M. Shibata, H. Kandori, K. Tominaga, "Terahertz Time-Domain Spectroscopy; Effect of Hydration", *5th Asian Conference on Ultrafast Phenomena*, Singapore, 7-9 January, 2008.
10. P. Dutta, K. Tominaga, "Low-Frequency Spectra of Polar Solute Molecules in Non-Polar Solvents by Terahertz Time-Domain Spectroscopy", *5th Asian Conference on Ultrafast Phenomena*, Singapore, 7-9 January, 2008.
11. J. Tayama, K. Ohta, K. Tominaga, "Infrared Three-Pulse Photon Echo Study of Thiocyanate Anion in Primary Alcohols", *5th Asian Conference on Ultrafast Phenomena*, Singapore, 7-9 January, 2008.
12. S. Kawaguchi, M. Shibata, H. Kandori, K. Tominaga, "Low-frequency dynamics of Bacteriorhodopsin studied by terahertz time-domain spectroscopy; effect of hydration", *the 5th Open Workshop for "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules"*, Nara, 24-25 January, 2008.
13. K. Watanabe, J. Setsune, "Synthesis and Structures of Metal Complexes Coordinated by Arene-containing Cyclotetrapyrroles", *54th Symposium on Organometallic Chemistry*, Japan, Higashi-Hiroshima, 10/27-28, 2007.
14. Victor Lorenz-Fonfria and Hideki Kandori, "Active internal waters in the bacteriorhodopsin photocycle. A comparative FTIR study of the L and M intermediates at room and cryogenic temperatures", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
15. Mikihiro Shibata, Maiko Yoshitsugu, Kunio Ihara and Hideki Kandori, "Halide Binding by D85S and D212N Bacteriorhodopsin Mutants Affects Hydrogen-Bonding Network in the Active Site", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
16. Motohiro Ito, Yuki Sudo, Yuji Furutani, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Michio Homma, John L. Spudich, and Hideki Kandori, "Steric Constraint at the C14 Position of the Retinal Chromophore Initiates Light-Signal Transduction of pharaonis Sensory Rhodopsin II", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
17. Yuuya Kitade, Yuji Furutani, Yuki Sudo, Naoki Kamo, and Hideki Kandori, "Protein-Protein Interactions in pharaonis Phoborhodopsin-pHtrII Complex under Aqueous Environment Studied by ATR-FTIR Spectroscopy", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
18. Hazuki Takahashi, Yuji Furutani, Jun Sasaki, Yuki Sudo, John L. Spudich, and Hideki Kandori, "Interaction Changes of Sensory Rhodopsin with its Transducer Protein upon Formation of the

- S373 Intermediate Studied by FTIR Spectroscopy", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
19. Kyohei Hashimoto, Yuji Furutani, Ah Reum Choi, Kwang-Hwan Jung and Hideki Kandori, "Long-Ranged Protein Structural Changes upon Retinal Photoisomerization in a Cyanobacterial Rhodopsin Studied by FTIR Spectroscopy", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
 20. Keisuke Nakashima, Mikihiro Shibata, Makoto Demura and Hideki Kandori, "FTIR Study of Nitrate-bound pharaonis Halorhodopsin", *Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function*, November 2007, Okazaki, Japan.
 21. Md. Motiur Rahman, Nobuyuki Nakanishi, Tadakazu Takigami, Toshiharu Hase, Sam-Yong Park, Motonari Tsubaki, "Purification and biochemical analyses of Zea mays cytochrome b561 heterologously expressed in Pichia pastoris", 2007 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, November 12 2007, Nagoya.

国内

1. 西野曜子、藤原亮正、山田勇治、石川春樹、富宅喜代一、「 $\text{NH}_3 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ クラスター中での超原子価ラジカルの溶媒和と安定性」、第23回化学反応討論会、2007年6月 神戸
2. 藤原亮正、松本浩幸、前川亜耶子、石川春樹、富宅喜代一、「極低温冷却したプロトン化ジペプチドの構造と反応性」、第23回化学反応討論会、2007年6月 神戸
3. 藤原亮正、松本浩幸、前川亜耶子、石川春樹、富宅喜代一、「気相クラスターイオンの温度可変光解離分光装置の製作」、ナノ学会第5回大会、2007年5月 つくば
4. 川口新太郎、柴田幹大、神取秀樹、富永圭介、「テラヘルツ時間領域分光法によるバクテリオロドプシンの低振動スペクトル」、2007光化学討論会、松本、平成19年9月26日—28日
5. 石川春樹、大久保智子、山田勇治、富宅喜代一、「赤外分光法を用いた 7-アザインドール二量体の基底状態二重プロトン移動反応の研究」、2007年9月 分子科学討論会 仙台
6. 山田勇治、西野曜子、藤原亮正、石川春樹、富宅喜代一、「アンモニア・メタノールクラスター中での超原子価ラジカルの生成及び緩和機構の解明」、2007年9月 分子科学討論会 仙台
7. 岡崎菜穂、塚島亜希、瀬恒潤一郎、Juha M. Lintuluoto, Masami, Lintuluoto、「シクロオクタピロールへの金属挿入反応に於ける不斉誘起と速度論的光学分割」、第58回錯体化学討論会、名古屋工業大学、9/25-27, 2007
8. 水野操、水谷泰久、「ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光によるタンパク質二次構造の高速変化の観測」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日~20日
9. 古々本麻里、水谷泰久、「マイクロ秒一分子蛍光スペクトル測定法の開発：蛍光色素への応用」、第1回分子科学討論会、仙台、平成19年9月17日~20日
10. 高橋はづき、古谷祐司、佐々木 純、須藤雄気、Jhon L. Spudich、神取秀樹、「赤外分光法によるセンサリーロドプシン I の光情報伝達過程におけるタンパク質間相互作用の解析」、第14回日本光生物学協会年会、2007年7月、奈良
11. 中島啓介、柴田幹大、出村誠、神取秀樹、「硝酸イオン結合型ファラオニスハロロドプシンの低温赤外分光」、第14回日本光生物学協会年会、2007年7月、奈良
12. 橋本匡平、古谷祐詞、Kwang-Hwan Jung、神取秀樹、「FTIR 分光法による *Gloeobacter rhodopsin* の初期中間体における構造変化の研究」、第14回日本光生物学協会年会、2007年7月、奈良
13. 柴田幹大、出村誠、神取秀樹、「塩化物イオンをポンプするハロロドプシンの細胞外側領域の構造解析」、特定領域研究「細胞感覚」夏の班会議 若手の会 2007年8月、葉山
14. 川鍋陽、古谷祐詞、Kwang-Hwan Jung、神取秀樹、「*Anabaena* sensory rhodopsin の光反応機構の解析」、特定領域研究「細胞感覚」夏の班会議 若手の会、2007年8月、葉山
15. 北出祐也、古谷祐詞、加茂直樹、神取秀樹、「全反射赤外分光法による膜タンパク質間

- 相互作用の解析」、特定領域研究「細胞感覚」夏の班会議 若手の会、2007年8月、葉山
16. 平野充遥、藤原正規、藤原芳暁、松下道雄、伊関峰生、渡辺正勝、「二波長の励起光を同時に利用できる低温の単一タンパク質分光装置の開発」、第一回分子科学討論会（仙台、2007年9月17~20日）
 17. 炭竈享司、斉藤真司、大峰 巖、「モデルチャネルにおけるイオン透過機構；アニオンを付加したカーボンナノチューブにおける K^+ イオンのダイナミクスとイオン透過に関する自由エネルギー面」、第10回理論化学討論会、名古屋、平成19年5月14日
 18. 矢ヶ崎琢磨、斉藤真司、「水の分子間運動の二次元赤外分光に関する理論計算」、分子研研究会「分子科学における連成シミュレーションの基礎理論と応用」、岡崎、平成19年8月29日-31日
 19. 川口新太郎、柴田幹大、神取秀樹、富永圭介、「時間領域テラヘルツ分光によるバクテリオロドプシンの低振動スペクトル」、生物物理学会、横浜、平成19年12月21日~23日
 20. 川口新太郎、柴田幹大、神取秀樹、富永圭介、「テラヘルツ時間領域分光法によるバクテリオロドプシンの低振動ダイナミクス；水和の影響」、平成19年度 日本分光学会 テラヘルツ分光部会 シンポジウム「テラヘルツ分光法の最先端II ー多様化と進歩ー」、葉山、平成19年11月21日~22日
 21. 中山佳奈、戸田雅之、リントゥルオト ユハ、瀬恒潤一郎、「N-BOCアミノ酸との錯体形成によるシクロオクタピロール誘導体の分子不斉制御」、第37回構造有機化学討論会、札幌、平成19年10月27日-29日
 22. 岡崎菜穂、瀬恒潤一郎、「イソコロール鉄およびマンガン錯体の合成と構造」、日本化学会第88春季年会、東京、平成20年3月26-30日
 23. 皮間未来、瀬恒潤一郎、「2,9-ジピリルフェナントロリンを構成単位とするクリプタント状ヘキサピロールの合成」、日本化学会第88春季年会、東京、平成20年3月26-30日
 24. 古谷祐詞、Victor Lorenz-Fonfria、太田徹、神取秀樹、「ウシロドプシンのレチナル結合部位の構造安定性の解析-Thr118のH/D交換実験-」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
 25. 北出祐也、古谷祐詞、加茂直樹、神取秀樹、「ファラオニスフォボロドプシンの「水中」における膜タンパク質間相互作用の全反射赤外分光法による解析」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
 26. 小山貴之、山本渥史、岩田達也、佐藤義彰、松岡大介、徳富哲、神取秀樹、「種々のフォトトロピンにおけるLOV2ドメインと α -helixの光誘起構造変化」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
 27. 高橋はづき、古谷祐詞、佐々木純、須藤雄気、John L. Spudich、神取秀樹、「赤外分光法によるセンサーロドプシンIの赤色光照射時の構造変化および相互作用の変化」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
 28. 中島啓介、柴田幹大、出村誠、神取秀樹、「硝酸イオン結合型ファラオニスハロロドプシンの赤外分光」、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月、横浜
 29. 水野操、濱田格雄、徳永史生、水谷泰久、「イエロープロテインにおける光誘起構造変化の高速伝播：ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光による観測」、日本生物物理学会第45回年会、パシフィコ横浜、平成19年12月21-23日
 30. 中西伸行、Motiur Md. Rahman、堀 洋、長谷俊治、小林一雄、鏝木基成、「植物Zea mays cytochrome b561の電子伝達活性と変異体解析」、第34回生体分子科学討論会 平成19年6月22日、東北大学、仙台
 31. 水野操、濱田格雄、徳永史生、水谷泰久、「イエロープロテインにおける光誘起構造変化の高速伝播：ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光による観測」、日本生物物理学会第45回年会、横浜、平成19年12月21日~23日

(4) 特許出願

なし

(5) 受賞等

《受賞や新聞報道等について具体的に記載ください。》

①受賞 なし

②新聞報道

日刊工業新聞2007年5月14日号「光センサーたんぱく質中の『スレオニン』。光信号伝達に必須。名工大（神取グループ）が解明」

日刊工業新聞2007年11月19日号「神戸大学（瀬恒グループ）、アミノ酸の絶対配置をシクロオクタピロロールで確認」

③その他（研究課題の採択）

1. 富宅 喜代一 科学技術振興機構 先端計測分析技術・機器開発事業、研究課題名「質量分析機能を備えた気体核磁気共鳴分光装置」、平成19年度 - 22年度
2. 水谷泰久、科研費特定領域研究「分子高次系機能解明のための分子科学」、平成19年度 - 23年度、班長、研究課題名「時間分解共鳴ラマン分光法によるタンパク質アロステリック機構の動的構造基盤の解明」
3. 神取秀樹、科研費特定領域研究「水と生体分子」平成15年度 - 19年度、計画研究代表者、研究課題名「プロトンポンプの方向性を決定する内部結合水の構造解析」
4. 松下道雄、科学技術振興機構さきがけ研究、研究課題名「単一分子分光による固体中の単一スピンの観測」、平成17年度
5. 富永圭介、科研費学術創成研究、平成17年度 - 21年度、研究課題名「THz波高分解吸収スペクトラム測定による分子・格子の固有振動と分子構造の同定」
6. 富宅 喜代一、科研費特定領域研究「分子高次系機能解明のための分子科学」、平成19年度 - 23年度、計画研究代表者、研究課題名「気相溶媒和金属イオンの温度可変分光解析装置の開発と生体分子への応用」

7 研究期間中の主な活動(ワークショップ・シンポジウム等)

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成15年 3月	チームミーティング	神戸大学	10名	キックオフミーティング
平成15年 9月6日	チームミーティング	神戸大学	25名	研究の進捗状況と今後の計画について議論した
平成16年 8月3日	ミニチームミーティング	神戸大学	4名	研究の進捗状況と今後の計画について議論した
平成16年 9月6日	チームミーティング	神戸大学	15名	研究の進捗状況と今後の計画について議論した
平成17年 3月20日	チームミーティング	神戸大学	15名	研究の進捗状況と今後の計画について議論した
平成19年9 月8日	チームミーティング	神戸大学	6名	まとめを行った

8 研究成果の展開

(1)他の研究事業への展開

《富宅》

本研究では、生体関連分子等、自己組織化の基本ユニットの相互作用を研究する生体分子分光解析装置の開発を行った。この結果、質量分析濃度程度の超希薄なペプチド類の紫外および赤外分光を温度可変で測定することに成功した。この研究過程で確立した低速度イオンの制御技術と捕捉技術を基にして、質量選別した気相イオンの核磁気共鳴分光法の実現に向けた、開発研究を始動している。

《松下》

本プロジェクトで開発した可視・紫外域用低温共焦点蛍光顕微分光装置については共同研究を準備中である。対象となるタンパク質は、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) である。PAC は総研大の渡辺正勝教授のグループによって同定された (Iseki, et al. Nature **415** (2002) 1047.)。渡辺教授、伊関助手と共同でこのタンパク質に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の関係を探る。

(2)実用化に向けた展開

特になし

9 他チーム、他領域との活動とその効果

(1)領域内の活動とその効果

富永グループと神取グループ：バクテリオロドプシンの光駆動プロトンポンプ機構に関するフェムト秒時間分解赤外分光と時間領域テラヘルツ電磁波分光に関する共同研究

富永グループと瀬恒グループ（富永グループ内）

瀬恒グループが合成した超分子についての赤外非線形分光の実験、逆ミセルウォータープール内の両親媒性プローブとして、長鎖アルキル基のついたクマリン色素の合成を瀬恒グループが行い、それを用いた測定実験を富永グループが行った。

神取グループと水谷グループ：バクテリオロドプシンの光駆動プロトンポンプ機構に関する紫外共鳴ピコ秒時間分解ラマン分光に関する共同研究

富永グループと斉藤グループ：赤外非線形分光の理論的研究、メタノールのテラヘルツスペクトルの解釈に関する共同研究

(2) 領域横断的活動とその効果

水谷グループと徳永チームとの共同研究：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。

神取グループのメンバーである古谷祐詞博士と藤田誠チームの吉沢道人博士の共同研究：吉沢氏が合成した、自己組織化により形成された M6L4 型かご状錯体内部に存在する水クラスターの光化学反応に対する赤外分光法を古谷氏が測定・解析した。第 1 回分子科学討論会にて口頭発表を行っている。若手の研究会において、二人の間のディスカッションから、共同研究が開始された。この成果はまだ論文に至っていないが、若手研究者のディスカッションの中から自発的に生まれてきた共同研究という点で、きわめて高く評価できる。

10 研究成果の今後の貢献について

(1) 科学技術の進歩が期待される成果

《富永》

液体論・溶液論、特にその動的な側面における研究は、近年計算機の性能向上も手伝い、急速に進展している。その中で本研究で得られた液体・溶液のダイナミクスに関する実験結果は、理論的研究に大きく資すると考えている。揺らぎの問題は、溶媒分子の分極効果がダイナミクスに及ぼす影響など、溶液論・液体論の中心的な課題であるものを含む。今後、本研究の成果が多く、理論的研究を刺激するものと期待している。

《瀬恒》

環拡大ポルフィリノイドの化学は近年急速に発展してきているが、その分子機能の開発はいまだ端緒についたばかりである。その特異な分子構造には大きな可能性が秘められており、生体機能を解明する為の重要な基礎科学である分子認識や超分子化学の分野で今後大きな展開が予想される。本研究プロジェクトでは生体酵素系でしばしば見られるアロステリック効果について、極めて単純化した形でその構造的要因を例示することができた。アロステリック効果は非線形応答や選択的応答の科学という観点から、より広い分野に波及効果を持つコンセプトであり、人工分子系でこれを実現できたことは環拡大ポルフィリノイドの化学の展開に止まらない。

《斉藤》

本研究により、水などの会合性液体の集団運動の解析方法として 2 次元ラマン分光法および 2 次元赤外分光法の計算手法を確立した。これらの理論計算手法を凝縮系の動的挙動の解析ツールとして発展させることができ、実験データの分子論的な解析が可能となりうるという点において大きな成果である。また、本研究により、水の溶媒としての重要な性質の 1 つである高速で高効率の緩和過程に必要なチャンネルが並進運動により開かれることを

明らかにできたことは、水の科学への大きな貢献である。

本研究では、Ras における GTP 加水分解反応に伴う構造変化や揺らぎに関するいくつかの知見を得た。このことは癌の発生（抑制）のメカニズムを知る上で非常に重要な進展である。また、Ras と分子モーターなどいくつかの ATPase タンパク質の反応との共通性も指摘されている。これらのタンパク質は伝達、代謝、輸送など重要な生体機能を司っており、本研究の展開によって、今後これらの生体機能のメカニズムの解明に大きな発展が期待できる。

《富宅》

本研究で開発、試作した温度可変分光装置は、従来、困難とされていた気相イオンや気相クラスターイオンの温度可変分光を可能にするため、溶液化学における揺らぎの気相からのアプローチの技術的障壁を押し下げ、新たな展開をもとらすことが期待される。またタンパク質のビルディングブロックであるペプチドの温度と構造の関係の詳細な情報が得られるようになり、機能と構造の相関の理解のさらなる深化が期待される。

(2) 社会・経済の発展が期待される成果

《富永》

近年、テラヘルツ電磁波を用いた応用研究が精力的に行われている。薬物や爆薬の検出など、テラヘルツ領域のスペクトルが指紋領域として機能することを活用した応用技術である。しかし、このテラヘルツ領域のスペクトルがどのような分子レベルでの情報を持っているかということについては、いまだ明確なことはわかっていない。本研究では、水素結合性液体やバクテリオロドプシンなどのテラヘルツ電磁波測定を通して、凝縮相では水素結合ネットワークの集団運動や高分子の構造揺らぎがこの周波数領域に対応していることを示した。今後、このような基礎的な研究を基盤として、テラヘルツ電磁波を用いた応用研究が広く行われていくものと思われる。

《瀬恒》

光学活性物質の不斉合成は近年になって大きな発展が見られ、その研究はますます加速している。これに伴い、光学活性新規物質の絶対配置の決定については、従来の化学反応や X 線結晶構造解析を用いる手法では対処できない状況にあり、微量のサンプルで簡便に絶対配置を決定できる手法は生化学分野や薬品開発などにおいて非常に有用である。本研究プロジェクトでは超分子錯体形成と exciton chirality 法を利用して、サブマイクロモルレベルの微量サンプルの絶対配置を決定できるホスト分子の開発を行った。特に、20種の天然アミノ酸誘導体すべてに対して正確に絶対配置を決定できるオクタフィリン誘導体は実用性があり、今後の展開が期待される。

1 1 結び

本研究で当初、可視ポンプ-赤外プローブ分光によるバクテリオロドプシンのプロトンポンプにおける水の水素結合ネットワークの変化に関する研究を神取グループとの共同研究を掲げていた。この研究に多くの時間を費やしたが、現在まだはっきりした結果を残すことができていない。16年度フィルム状のバクテリオロドプシンを試料として用いた場合、フェムト秒パルスによるサンプルの退色の問題があることを見出した。レチナルをポンプし、アミド振動の変化を捉えることには成功したが、目的とした内部結合水の振動変化を捉えるところまではまだいっていない。これは試料が予想以上に早く退色するためであり、回転セルの使用や励起光強度依存性の調査など、いくつかの点について検討したが、この退色の問題を解決するには至らなかった。しかし、このフィルム状試料の検討からテラヘルツ電磁波測定に用いる試料調整方法の探索を行うことができ、別の研究でその培わ

れたノウハウは活用された。この可視ポンプー赤外プローブの研究は今後も続けていく。神取グループと議論を重ね、フィルム状のバクテリオロドプシンを用いるのではなく、今後は溶液状態の試料をフローして実験を行うこととして現在進めている。

本研究チームは、分子分光を基礎とする物理化学、生物物理学の分野の研究者から構成されており、他のチームの方々とは初めて相互作用を持たせていただいた。その意味で、まったく新しい知識や情報が代表者会議などで吸収することができ、たいへん刺激的で、新鮮であった。特に、若手研究者の会を定期的に開催していただいたことには感謝している。私はこの会には一回しか参加することができなかったが、若手研究者の間では活発に議論をすることができ、そのいくつかは共同研究まで発展したものもある。また、共同研究の形ならなくても、このような異分野の研究者とつながりができたことは今後の彼らの研究活動に大きくプラスになるものであると確信している。若手研究者の会を組織、運営されたかたがたにこの場を借りてお礼を申し上げたい。