

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19200

研究課題名(和文) RNAプローブと網羅的単一分子分光による新規合成途上光合成色素タンパク質の解析

研究課題名(英文) Analysis of Assembly Intermediates of Photosynthetic Pigment Proteins by RNA-Probe-Based Exhaustive Single-Molecule Spectroscopy

研究代表者

柴田 穰 (Shibata, Yutaka)

東北大学・理学研究科・准教授

研究者番号：20300832

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：強光により損傷と修復を繰り返すことが知られる光化学系II(PSII)について、そのAssembly中間体をRNAプローブを用いて検出することを試みた。モデル生物である緑藻クラミドモナスを研究材料とした。PSIIで修復過程の対象となるのは、D1と呼ばれる複合体中心部のサブユニットであり、そのmRNAの相補鎖となるRNA断片にAlexa555を蛍光標識したRNAプローブを作成した。強光に晒した後弱光で30分インキュベートしてD1修復を活性化させたクラミドモナスからチラコイド膜を単離しRNAプローブを添加した。その結果、Alexa555の蛍光が検出されたことから、本手法の有効性が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光合成タンパク質のAssembly過程の解明は、光合成研究において未だ解明されていない難問の一つである。水から電子を引き抜く過程は、分子に大きな酸化力の実現を要求し、同時に大量の酸素分子を発生させる。高い酸化力が内在することや、反応性の高い酸素分子が大量発生することは、どちらもタンパク質の損傷の原因となる。こうした困難な状況をやり繰り返すため、生物は壊れないタンパク質を進化させるのではなく、壊れても迅速に修復が可能となるシステムを進化させた。人工の新規タンパク質を設計し合成することが可能となりつつある現代において、光合成系の修復機構解明は人工光合成を実現させる上でも示唆に富むものとなる。

研究成果の概要(英文)：Photosystem II (PSII) has been known to be repeatedly damaged and repaired in photosynthesis organisms. Here I proposed and tried a method to detect the assembly intermediates of PSII using designed RNA probes. A model organism Chlamydomonas was used. Since D1 subunit at the center of the PSII complex is the target of the repair process, I designed an RNA probe which is complementary to the mRNA sequence of D1 subunit and contains Alexa555 at its both ends as the fluorophore. Chlamydomonas cells were incubated under high light and then under mild light to activate the repair process. Thylakoid membranes were isolated from the cells treated as above and the RNA probe was hybridized with the thylakoids. I detected the fluorescence signal of Alexa555 from the hybridized thylakoid membranes, confirming the validity of the method proposed in the present project.

研究分野：光生物物理学

キーワード：単一分子分光 RNAプローブ 光化学系修復

### 1. 研究開始当初の背景

植物や藻類、シアノバクテリアの光合成を担うタンパク質は、葉緑素であるクロロフィル(Chl)を多数結合する巨大な膜タンパク質である。光合成タンパク質の複雑な立体構造は、2000年以降の結晶化技術の向上により次々と明らかにされ、さらに近年はクライオ電子顕微鏡技術の進展により、これまでには不可能であった光合成タンパク質超複合体の立体構造も高解像度で解明されてきていた。このような状況の中、立体構造の解明にともなって光合成で光吸収後に最初に起こる一連の光誘起反応の機構も詳しく解明されつつあった。一方で、複雑な光合成タンパク質の生体中での構造形成(Assembly)過程については、現在に至っても理解が進んでいない。Assembly過程には、0から複合体を合成するde novo合成と、光反応に伴い一部が損傷した複合体を元の状態に復元する修復過程が含まれる。de novo合成、修復過程のどちらについても、それらに必須となる補助タンパク質の同定は進んでいるが、その分子レベルでの作用機序については未だよく分かっていない。特に、多数の色素分子がタンパク質の所定の位置に精密に埋め込まれる機構については、ポリペプチド合成と同時に起こると考えられてはいるがその証拠はなく、ベールに包まれている。このような課題へのアプローチの一つとして、リボソームプロファイリング法による研究がある。この手法により、光合成タンパク質の翻訳がどこまで進めば膜への挿入が始まるか、といった基本情報が明らかにされつつある[2015PNAS, Zoschke and Barkan]。しかし、こうした研究で直接観測されるのはRNA分子であり、色素分子がいつ、どのようにして挿入され、どのような状態にあるのか、といった問題は全く明らかにされない。合成途上複合体は過渡的な分子種で不安定なため、精製して解析することも現実的ではない。

構造構築途上の中間体は生体中に僅かにしか蓄積しないことから、その機能解析が困難であり、このことが構造構築過程の研究を難しくしていた。一方私は、開発してきた極低温顕微分光装置を利用して単一分子分光を行い、それにより光合成タンパク質の構造揺らぎやそれに伴うエネルギー移動経路の変動などを研究してきた。また、開発した極低温顕微鏡については、励起スペクトルや蛍光寿命も同時取得可能とする技術改良も行ってきた。このような状況のもと、数多くの単一分子を網羅的に検出する分光手法を用いることで、生体中に僅かにしか存在しない光合成タンパク質のAssembly中間体を検出可能とする「極低温単一分子分光法による生体試料に含まれる全色素タンパク質の網羅的分光解析」というアプローチを着想した。この方法では、単一分子分光法により多数の個々のタンパク質の分光測定が可能になることを利用する。生体中に含まれる色素タンパク質をガラス基板上に固定し、極低温で何百、何千という数の単一分子を網羅的に分光測定することで、微量にしか含まれない希少分子種の検出を可能とする。実際に、この手法を強光に晒した植物葉から抽出した色素タンパク質に適用し、既知の光合成タンパク質である光化学系I(PSI)、光化学系II(PSII)、アンテナタンパク質のLHCIIなどのどれにも同定できないスペクトルを持つ希少分子種の同定に成功している(図1)。

しかし、この手法では希少分子種の検出は可能であるが、それらがどのようなタンパク質に由来するかは明らかにできない。そこで、この手法をさらに進展させ、標的となるタンパク質のmRNAの相補鎖に蛍光色素を結合したRNAプローブを用いて、mRNAと結合を維持しているAssembly中間体を検出する(図2)ことを着想した。

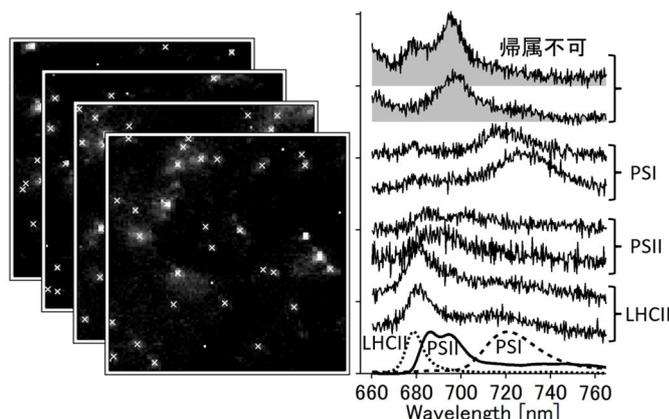


図1. 単一分子輝点の例(左)と各輝点のスペクトル(右)。右図下は、単離した光合成タンパク質のスペクトル。

### 2. 研究の目的

本研究では、強光に晒して光合成タンパク質の修復過程を活性化させた葉から精製したチラコイド膜に、ターゲットとなるタンパク質のmRNAに相補的かつ蛍光色素を共有結合したRNA断片(RNAプローブ)を添加してハイブリダイズさせる。その後色素タンパク質を可溶化し、極低温で単一分子分光測定を行う。特異的なハイブリダイズが出来ていれば、Assembly途上の中間体は、リボソーム、mRNA、RNAプローブ、および生成途上の光合成タンパク質を含む複合体として可溶化されるはずである。単一分子分光により、RNAプローブの蛍光を持つ輝点を検出し、そのChl蛍光の分光解析を行うことで、Assembly中間体において色素分子がど

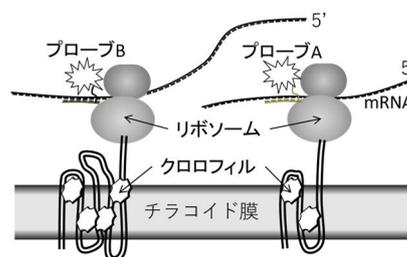


図2. mRNA上の異なる位置に結合する核酸プローブ

のような状態にあるのかを解明することを目指した。

### 3. 研究の方法

図 3 に、本研究で計画した実験手順を模式的に示す。1) 強光条件など、葉緑体内で活発に光合成タンパク質が新規合成される条件においた植物や藻類の試料を液体窒素で氷結破砕し、翻訳を停止させる抗生物質の存在下で葉緑体を精製する。本研究では、分子生物学的な解析が進んでいるモデル生物である緑藻クラミドモナスを対象とした。図 3 では、標的となる合成途上複合体を円で囲んでいる。2) 浸透圧ショックにより葉緑体を破砕しチラコイド膜断片を得、標的の光合成タンパク質の mRNA 相補鎖からなる蛍光 RNA プローブを添加し合成途上複合体とハイブリダイズさせる。3) 界面活性剤により可溶化した膜タンパク質を、10 pM 程度にまで希釈してガラス基板上に固定し、応募者が開発した極低温共焦点顕微鏡により固定されたタンパク質一つの蛍光分光解析を行う。RNA プローブの蛍光スペクトル(図 3 点線)を持つ輝点が合成途上複合体であり、プローブの蛍光ピークと異なる波長域にあるクロロフィルの蛍光(図 3 実線)について詳細な分光解析を行う。この手法では、各タンパク質分子が顕微鏡像の輝点として観測される(図 1 左)。応募者が開発してきた顕微鏡システムの一つでは、1 度のスキャンで各輝点の蛍光スペクトル(図 3 右)と励起スペクトルが得られる。さらに、別の顕微鏡では蛍光スペクトルと蛍光寿命の同時測定も可能である。これらの極低温顕微鏡技術を駆使し、検出された Assembly 中間体に結合する色素の分光解析を行う。精製された光合成タンパク質(PSI や PSII など)はそれぞれ特徴的な蛍光スペクトルを示す(図 3 右下)。それらと、合成途上複合体の蛍光スペクトルを比較すれば、その成熟度が分かる。蛍光寿命測定では、光合成活性の有無を明らかにする。励起スペクトル測定では、蛍光を発する色素以外のアンテナ色素組成の情報を得る。

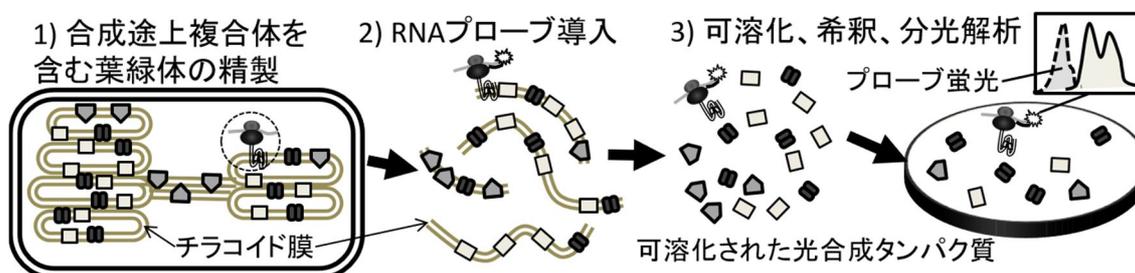


図 3. 研究手法の概要。点線の円で囲んだ複合体が標的となる合成途上複合体。チラコイド膜に結合せずに浮遊する mRNA は、チラコイド膜精製時に膜画分には残らないため検出されない。

### 4. 研究成果

第一のターゲットとして、強光下で激しく損傷が起こり修復過程も活発である PSII を選んだ。特に PSII では、強光下では複合体の中心部を構成するサブユニットである D1 タンパク質のみが損傷して新しいポリペプチドとの交換が繰り返されていることが分かっている。そこで、D1 タンパク質の mRNA をターゲットとした。また、D1 タンパク質のポリペプチド翻訳過程では、mRNA のいくつかの箇所翻訳過程が一次的に停止する部分があることが知られる。これらの部分において色素分子の導入が行われていることも予想されており、重要な意味があると考えられている。そこで本研究では、PSII の mRNA のうち翻訳停止が起こるとの報告がある部分の下流約 40 塩基対を RNA プローブのハイブリダイズの対象とすることにした。以下はエンドウの D1 タンパク質の DNA 配列である。このうち、二重下線部は翻訳一時停止領域として報告されている部分の一つである。そこで、この領域を含む下流域(下線部)の相補鎖を RNA プローブの対象配列とした。

```

ATGACTGCAATTTTAGAGAGACGCGATAGCGAAAACCTATGGGGTCGCTTCTGTAAGT
GATAACCAGCACTGAAAACCGTCTTTACATTGGATGGTTTGGTGTGTTTGGATGATCCCTAC
CTTATTGACCGCAACTTCTGTATTTATTATCGCTTTTCATTGCTGCCCTCCAGTAGATATT
GATGGTATTTCGTGAGCCTGTTTCTGGATCTCTACTTTACGGAACAATATTATTTCTGGT
GCCATTATTCCTACTTCTGCGGCTATCGGTTTGCACTTTTACCCGATATGGGAAGCTGCA
TCCGTTGATGAATGGTTATACAACGGCGGTCCCTTATGAACTAATTGTTCTACTTCTTA
CTTGGTGTAGCTTGTACATGGGTTCGTGAGTGGGAACCTTAGTTTTCTGCTGCGGTATGCG
CCCTTGGATTGCTGTTGCATATTCAGCTCCCGTTGCAGCTGCTACTGCAGTTTTCTTAAT
CTACCCAATTGGTCAAGGAAGCTTTTCAGATGGTATGCCTCTAGGAATCTCTGGTACTTT
CAACTTTATGATTGATTTTCAGGCTGAGCATAATATTTCTTATGCACCCATTTACATGTTA
GGTGTAGCTGGTGTATTTCGGCGGCTCCCTATTCAGTGCTATGCACGGTTCCCTGGTAAC
TTCTAGTTTGATCAGGGAAACCACAGAAAATGAATCTGCTAATGAAGGTTACCGATTTCG
GTCAAGAGGAAGAAACCTATAATATTGTAGCTGCTCACGGTTATTTTGGCCGATTGATCT
TCCAATATGCTAGTTTCAACAATTCTCGCTCTTTACATTTCTTCCCTAGCTGCTTGGCCTG
TAGTAGGTATCTGGTTTACCGCGTTAGGTATCAGCACTATGGCTTTCAATTTAAATGGTT
CAATTTTAAACCAATCTGTAGTTGATAGTCAAGGTCGTGTAATTAATACCTGGGCTGATA
TTATTAACCGTGCTAACCTTGGTATGGAAGTTATGCATGAACGTAATGCTCATAATTTCC
    
```

CTCTAGACCTAGCTGCGGTTGAGGCTCCATCTATAAATGGATAA

上記の翻訳一時停止部位の報告はエンドウを対象にしていたが、この部分のアミノ酸配列はクラミドモナスと相同であり、一時停止部位は保存されていると考えられる。クラミドモナスの対応する遺伝子配列は以下であり、このアンチセンス鎖を RNA プローブとした。

5'-UAA GUU GAA UGC CAU AGU UGA UAA ACC UAA AGC AGU GAA CCA AAU-3'

RNA を修飾する色素としては、Chl の蛍光波長である 680 nm から十分に離れた蛍光ピーク波長を持つものが望ましい。532 nm での励起を想定して、Alexa555 (図 4) を上記の RNA 配列の両端に 1 分子ずつ共有結合した分子を設計し、業者に委託して合成した。プローブとしては、RNA よりも安定で扱いやすく mRNA とのハイブリダイズも可能な DNA や、一部を二重鎖形成能が改善されている LNA (Locked nucleic acid) に置換したものも作成した。また、ターゲットの mRNA とはハイブリダイズしないはずのセンス鎖にプローブを結合したのも、コントロールとして作成した。

図 5 は、強光に晒した後に弱光でインキュベートすることで、実際に PSII の修復過程が活性化していることを確認するデータである。図 5 の縦軸は、PSII 活性測定の標準的手法である Pulse Amplitude Modulation (PAM) により定量化した PSII の活性である。強光下での PSII 活性低下とその後の回復過程を確認することができた。この結果から、弱光下への移行後約 30 分でチラコイド膜を精製し、RNA プローブのハイブリダイズを行うこととした。

実際の実験では、弱光移行後 30 分の時点で精製したチラコイド膜に、RNA プローブとなるアンチセンス鎖およびコントロールとなるセンス鎖からなる RNA または DNA 断片をハイブリダイズさせた。その後、チラコイド膜の蛍光スペクトルを確認し、プローブには Alexa555 由来の 560 nm の蛍光が見られ、コントロールとなるセンス鎖をハイブリダイズさせた場合には Alexa555 の蛍光が検出されなければ、想定通りの結果と言える。ハイブリダイズする条件として、RNA プローブや DNA プローブの濃度やハイブリダイズ温度、時間などをいくつか試したが、期待される結果が得られなかった。そこで、RNA や DNA の高次構造を変性させる効果のあるホルムアルデヒドを添加してハイブリダイズさせることで、アンチセンス鎖でのみ Alexa555 の蛍光バンドが検出される条件を見つけることが出来た(図 5)。観測された Alexa555 の蛍光バンドは非常に微弱であるが、修復途上の PSII が希少分子種であることを考えると、理に適った結果である。

以上のように、本研究で Assembly 中間体に含まれる mRNA とプローブが確かにハイブリダイズされることが分かった。しかし、その後チラコイド膜を可溶化して単一分子分光測定を行う段階までには残念ながら到達できなかった。今後、さらなるハイブリダイズ条件の探索を進めて

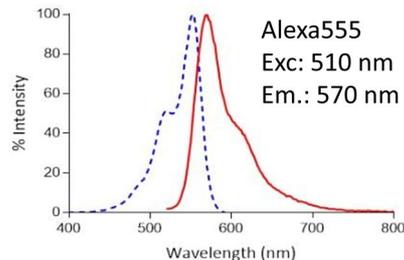


図 4. Alexa555 の吸収スペクトル (点線) と蛍光スペクトル (実線)

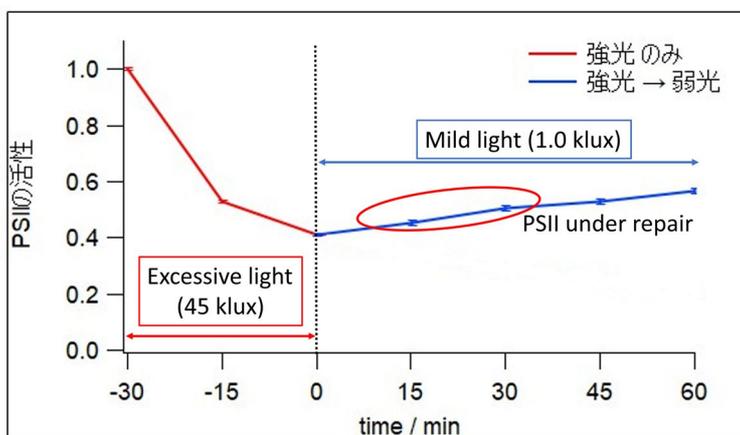


図 5. Pulse Amplitude Modulation 蛍光測定による PSII 活性の低下と回復過程の確認

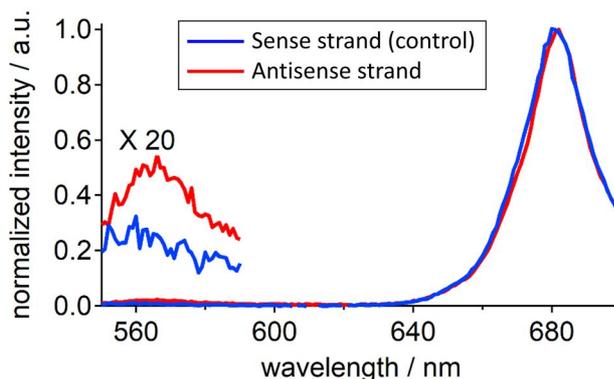


図 6. アンチセンス鎖(プローブ分子)とセンス鎖(コントロール)をハイブリダイズさせたチラコイド膜の蛍光スペクトル。

条件の最適化を図り、可溶化後の単一分子分光測定に着手する予定である。また、別のアプローチとしてクラミドモナスリボソームの抗体に蛍光標識したものをプローブとして用いる研究も開始した。この場合は、mRNA の特異的な結合を利用してターゲットとなる分子のみを検出することは出来ないが、リボソームと結合を維持しているタンパク質を広く検出することが可能となる。抗体の作成までで研究期間が終了となってしまったが、引き続きこの手法による研究も推進していく。

本研究では、上述の RNA プローブの実証実験を進めると同時に、顕微鏡の装置開発も進めてきた。励起スペクトルと蛍光スペクトルを同時に高速に取得する顕微鏡の開発をしてきた[2020 Biophys. J. Jana&Shibata, 2021 Plant Cell Physiol. Zhang et al., 2022 PNAS Zhang et al.]が、本研究期間にこの装置を極低温でも動作可能とするように改造した。この装置を用いて、PSI の単一分子励起-蛍光スペクトル同時測定の研究を進めており、検出する蛍光波長が異なると励起スペクトルの形状も異なることがあることを見出した。この成果は現在査読付き雑誌に投稿中であり、また preprint server の research square にて公開中である[2023 Research. Sq. Zhang et al.]。また、蛍光寿命とスペクトルの同時測定を行う顕微鏡により、クラミドモナスのアンテナタンパク質の調節機構であるステート遷移の研究も行った。この研究では、ステート遷移において、アンテナタンパク質が PSI と PSII のどちらにも結合せずにチラコイド膜中を浮遊し、蛍光寿命が非常に短くなった状態になっていることを明らかにした[2022 J. Photochem. Photobiol. B Fujita et al.]。これらの成果からも、我々の顕微鏡装置の能力が高く、Assembly 中間体の分光解析を行う上でも極めて有力な手法になることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Xian Jun Zhang, Yuki Fujita, Ryutaro Tokutsu, Jun Minagawa, Shen Ye and Yutaka Shibata	4. 巻 62
2. 論文標題 High-Speed Excitation-Spectral Microscopy Uncovers In Situ Rearrangement of Light-Harvesting Apparatus in Chlamydomonas during State Transitions at Submicron Precision	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 872-882
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcab047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 柴田 穰	4. 巻 61
2. 論文標題 単一分子蛍光分光で見える光合成アンテナ系の揺らぐエネルギー移動経路	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 23-26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2142/biophys.61.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Zhang XianJun, Fujita Yuki, Kaneda Naoya, Tokutsu Ryutaro, Ye Shen, Minagawa Jun, Shibata Yutaka	4. 巻 119
2. 論文標題 State transition is quiet around pyrenoid and LHClI phosphorylation is not essential for thylakoid deformation in <i>Chlamydomonas</i> 137c	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2122032119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fujita Yuki, Zhang XianJun, Mohamed Ahmed, Ye Shen, Shibata Yutaka	4. 巻 236
2. 論文標題 Accumulation of quenched LHClI around PSI in Chlamydomonas cells in state2 revealed by cryo-fluorescence lifetime imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology	6. 最初と最後の頁 112584 ~ 112584
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphotobiol.2022.112584	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kosugi Makiko, Kawasaki Masato, Shibata Yutaka, Hara Kojiro, Takaichi Shinichi, Moriya Toshio, Adachi Naruhiko, Kamei Yasuhiro, Kashino Yasuhiro, Kudoh Sakae, Koike Hiroyuki, Senda Toshiya	4. 巻 14
2. 論文標題 Uphill energy transfer mechanism for photosynthesis in an Antarctic alga	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-36245-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 XianJun Zhang, Rin Taniguchi, Ryo Nagao, Tatsuya Tomo, Takumi Noguchi, Shen Ye, Yutaka Shibata	4. 巻 -
2. 論文標題 Access to the Antenna System of Photosystem I via Single-Molecule Excitation-Emission Spectroscopy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Research Square	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21203/rs.3.rs-3002323/v1	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 張 先駿, 藤田 祐輝, 得津 隆太郎, 皆川 純, 叶 深, 柴田 穰
2. 発表標題 Excitation-spectral microscopy uncovers in-situ rearrangement of LHCII in Chlamydomonas during state transitions
3. 学会等名 第11回日本光合成学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 張 先駿, 藤田 祐輝, 得津 隆太郎, 皆川 純, 叶 深, 柴田 穰
2. 発表標題 Excitation-spectral microscopy uncovers in-situ rearrangement of LHCII in Chlamydomonas during state transition
3. 学会等名 第28回光合成セミナー2021: 反応中心と色素系の多様性
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田直也, Sreedhar Nellaepalli, 高橋裕一郎, 柴田穰
2. 発表標題 光化学系 I assembly中間体の時間分解蛍光および単一分子分光解析
3. 学会等名 第28回光合成セミナー2021: 反応中心と色素系の多様性
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口凜, 篠田稔行, 鞆達也, 叶深, 近藤徹, 柴田穰
2. 発表標題 二次元蛍光寿命相関分光による光化学系 I タンパク質の単一分子電子移動速度の測定
3. 学会等名 第15回分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田直也, Sreedhar Nellaepalli, 高橋裕一郎, 叶深, 柴田穰
2. 発表標題 光化学系 I assembly中間体の単粒子分光と時間分解蛍光解析
3. 学会等名 2021年度 化学系学協会東北大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田 祐輝, 張 先駿, 金田 直也, 柴田 穰
2. 発表標題 ストリークカメラを検出器とした細胞内局所での時間分解顕微蛍光分光
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 張 先駿, 藤田 祐輝, 金田 直也, 得津 隆太郎, 皆川 純, 叶 深, 柴田 穰
2. 発表標題 励起スペクトル顕微鏡と超解像イメージングで明らかになったステート遷移におけるチラコイド膜の不規則な構造変化
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Makiko Kosugi, Masato Kawasaki, Yutaka Shibata, Kojiro Hara, Shinichi Takaichi, Toshio Moriya, Naruhiko Adachi, Yasuhiro Kamei, Yasuhiro Kashino, Sakae Kudoh, Hiroyuki Koike, Toshiya Senda
2. 発表標題 Uphill energy transfer mechanism for photosynthesis in the Antarctic alga
3. 学会等名 The 12th Symposium on Polar Science (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Fujita, XianJun Zhang, Ahmed Mohamed Ali, Shen Ye, Yutaka Shibata
2. 発表標題 Quenched LHCII Accumulation around PSI in Chlamydomonas Cells in State2 Revealed by Cryo-Fluorescence Lifetime and Spectral Microscopy
3. 学会等名 18th International Congress on Photosynthesis Research (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 XianJun Zhang, Yuki Fujita, Naoya Kaneda, Ryutaro Tokutsu, Jun Minagawa, Shen Ye, Yutaka Shibata
2. 発表標題 Site-Dependent State Transition and Ultrastructural Changes of Thylakoid in Chlamydomonas
3. 学会等名 18th International Congress on Photosynthesis Research (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rin Taniguchi, Toshiyuki Shinoda, Tatsuya Tomo, Shen Ye, Yutaka Shibata
2. 発表標題 Assignment of fluorescence bands of chlorophyll-f containing photosystem I by single-molecule spectroscopy
3. 学会等名 18th International Congress on Photosynthesis Research (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 XianJun Zhang, Yuki Fujita, Naoya Kaneda, Ryutaro Tokutsu, Shen Ye, Jun Minagawa, Yutaka Shibata
2. 発表標題 Site-Dependent State Transition and Ultrastructural Changes of Thylakoid in Chlamydomonas
3. 学会等名 International Symposium On Photosynthesis And Chloroplast Regulation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 酒井 颯太, 楠 祐佳, 森垣 憲一, 叶 深, 柴田 穰
2. 発表標題 Microspectroscopic study on artificial thylakoid membranes supported by polymerized lipid bilayers
3. 学会等名 2022年度 化学系学協会東北大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Fujita, XianJun Zhang, Shen Ye, Yutaka Shibata
2. 発表標題 Study on light-harvesting regulation mechanism in algal cells by space-wavelength-time-resolved analysis by cryogenic microscope
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rin Taniguchi, Toshiyuki Shinoda, Tatsuya Tomo, Shen Ye, Yutaka Shibata
2. 発表標題 Assignment of fluorescence bands of chlorophyll-f containing photosystem I to elucidate its reaction mechanism by near-infrared light
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

光で単一分子の挙動を測る  
[http://sub.web.tohoku.ac.jp/orgphys/content/files/research\\_Shibata.pdf](http://sub.web.tohoku.ac.jp/orgphys/content/files/research_Shibata.pdf)

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------