## 安定同位体標識を用いたラマンイメージングによる藻類細胞の貯蔵オルガネラ新生の追跡

(北大電子研<sup>1</sup>・鶴岡高専<sup>2</sup>・東大院工<sup>3</sup>・九大院工<sup>4</sup>) ○与那嶺雄介<sup>1</sup>・伊藤卓朗<sup>2</sup>・小関 泰之<sup>3</sup>・星野友<sup>4</sup>・三友秀之<sup>1</sup>・居城邦治<sup>1</sup>

Probing the Biogenesis of Storage Organelles in Algal Cells via Raman Imaging with Stable Isotope Labeling (¹Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University, ²National Institute of Technology, Tsuruoka College, ³Graduate School of Engineering, The University of Tokyo, ⁴Faculty of Engineering, Kyushu University) ○ Yusuke Yonamine,¹ Takuro Ito², Yasuyuki Ozeki,³ Yu Hoshino,⁴ Hideyuki Mitomo,¹ Kuniharu Ijiro¹

In this presentation, the biosynthesis of polysaccharide granules (paramylons) accumulated in a unicellular photosynthetic alga, *Euglena gracilis*, was spatiotemporally probed via stimulated Raman scattering (SRS) microscopy using a stable isotope (<sup>13</sup>C) as the tracking probe. The carbon source of the culture medium was switched from <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> to <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> during the production of the paramylon granules; this resulted in the distribution of the <sup>12</sup>C and <sup>13</sup>C constituents in the granules so that the biosynthetic process could be tracked. Taking advantage of high-resolution SRS imaging and label switching, the localization of the <sup>12</sup>C and <sup>13</sup>C constituents inside a single paramylon granule could be visualized in three dimensions, thus revealing the growth process of paramylon granules.

Keywords: Raman Imaging; Microalgae; Stable Isotope; Metabolism

微細藻類のユーグレナは、光合成を行いパラミロンと呼ばれる多糖( $\beta$ -1,3 グルカン)の顆粒を貯蔵する。パラミロンは、バイオ燃料として利用できる油脂成分に変換されため、パラミロンの新生機構を解明することで、その生産性を向上できる可能性がある。ラマン分光法では化合物を安定同位体(SI)で置換すると、分子振動の変化に起因するラマンスペクトルのシフトが起こる。この現象を利用して、SI 標識した基質を細胞に代謝させ、標的生成物のスペクトル変化を追うことで、その代謝プロセスを追跡できる。本研究では  $^{13}CO_2$  を代謝追跡プローブとして用い、ユーグレナ細胞の光合成による  $^{13}C$  のパラミロンへの取り込みを誘導ラマン散乱(SRS)顕微鏡により時空間的に追跡した(Figure~1)。  $^{12}C$  含有培地から  $^{13}C$  含有培地へ切替えてパラミロンを誘導したところ、顆粒の外縁に  $^{13}C$  成分が局在していた。さらに 3 次元 SRS 画像

を断面解析した結果、中心が <sup>12</sup>C で外殻が <sup>13</sup>C のコアシェル 構造が確認された。これらの 結果からパラミロン顆粒は新生した成分が表面に蓄積して 成長するモデルが示された。

## 【参考文献】

Y. Yonamine et al., *Anal. Chem.*, **93**, 16796-16803 (2021).

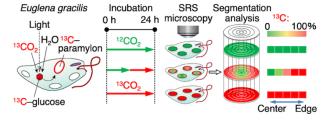


Figure 1. The biogenesis of paramylon granules in an algal cell was investigated via SRS microscopy employing <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> and <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> substrates that were exposed to different conditions and subsequent segmentation analysis of each granule.