

「マイクロXAFS法を使った環境試料分析」

FISH法と μ -XAFS法を組み合わせた
バイオミネラリゼーション *in situ* (その場) 観察法の開発



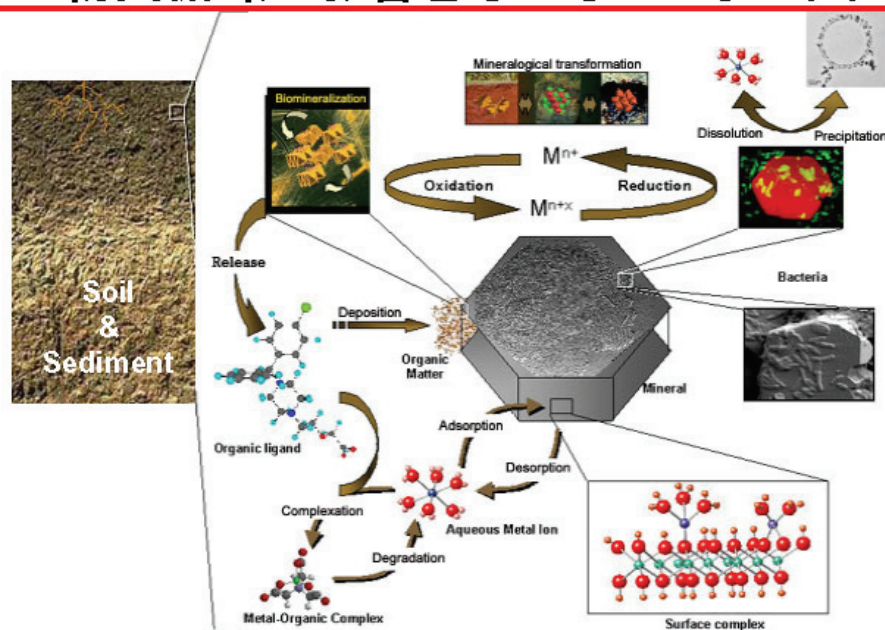
鉄マット表面の鉄酸化細菌

光延 聖 (静岡県立大学)



バイオミネラルの面白み: 地球化学者の視点

1. 物質循環に影響を与えるバイオミネラル



2. 生物活動の指標としてのバイオミネラル



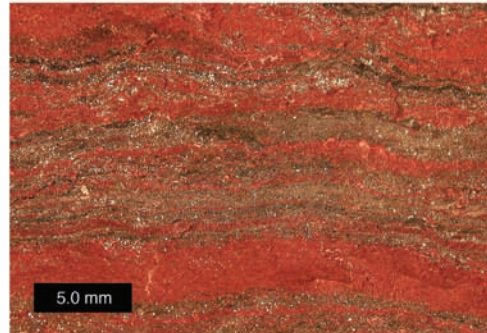
物質循環に影響を与えるバイオミネラル

微生物活動が影響を与えた重大な地球史イベント

- ・先カンブリアン代(19-27億年前) 縞状鉄鉱床 (BIF; Banded Iron Formation)



西オーストラリア, ハマースレイ



BIF形成: 鉄酸化細菌による酸化鉄沈殿が主要プロセス
(Kappler et al., 2005, *Geology*)

- ・海洋無酸素事変 (OAEs; Oceanic Anoxic Events)

硫酸還元菌による硫化物生成 (Arnold et al., *Science*, 2004)

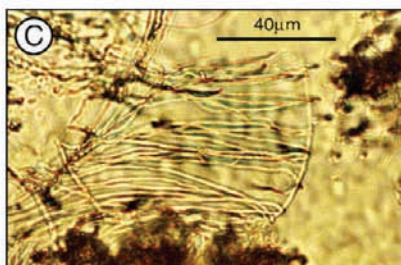
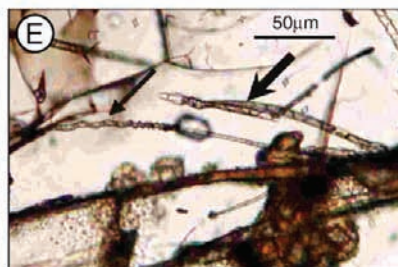
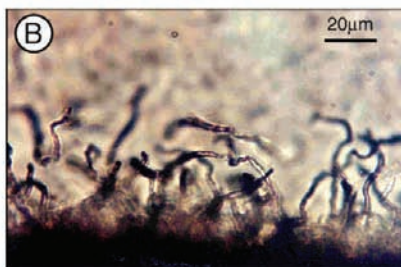


バイオミネラリゼーション研究手法

例1. 形態的な特徴から探る

顕微鏡による観察 (SEM & TEM)

火成岩ガラス中のチューブ状組織: 微生物起源?



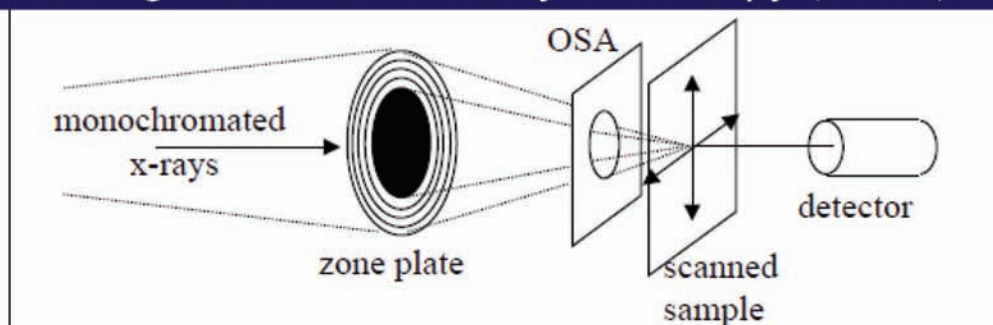
(Staudigel et al., 2008)

鉄鉱物

270 nm
(y, 1996)



Scanning Transmission X-ray Microscopy (STXM)



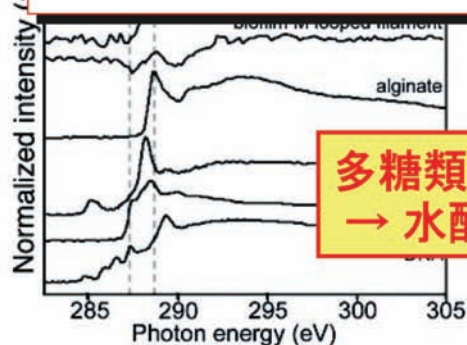
- エネルギー領域：200-1900 eV
- 手法：マイクロXAFS (透過配置)
- ビーム径：40 nm (ゾーンプレート + レーザー干渉計)
- 試料雰囲気：ヘリウム 1 atm (Si_3N_4 窓)
- 検出器：フォトマル、フォトダイオード

高い空間分解能で
炭素(C)や窒素(N)の官能基組成を明らかにする

微生物のテンプレートが水酸化鉄を作る

STXMの弱点

- 軽元素の分析に特化：金属元素など重元素用ではない
- XANESのみ：詳細な状態決定は不得意
- サンプル調製が難しい：天然環境の状態を保持できない



多糖類のテンプレート
→ 水酸化鉄のナノファイバー生成



バイオミネラル研究でわかってないこと

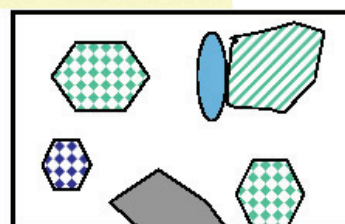
地球表層でのバイオミネラルの生成メカニズムは未解明な点が多い

その最大の理由として。。

- ・天然試料は様々な物質を含んだ混合物
- ・ミクロスケールで化学条件・微生物相は変化

- ・微小領域でのダイナミクス
- ・実際の反応速度

バルク試料の分析では不十分

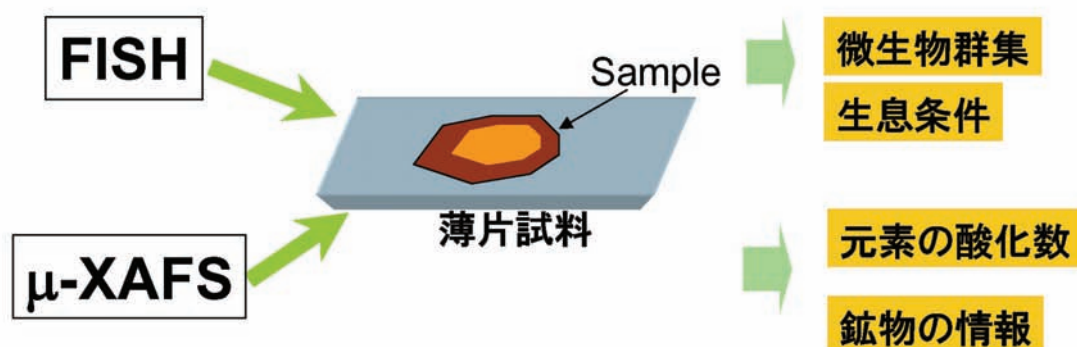


新しい *in situ*(その場)観察法が必要



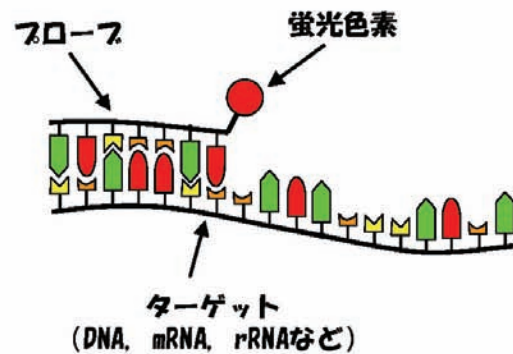
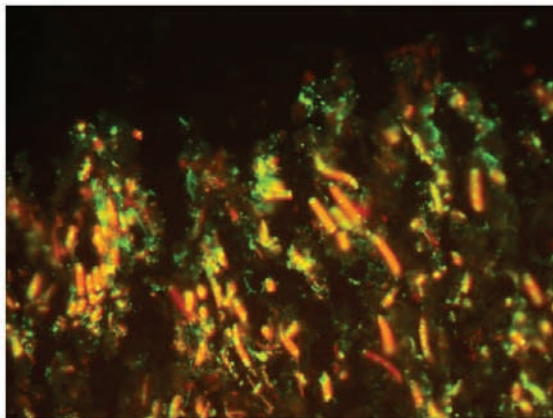
Our idea & approach

高い空間分解能をもつ2つの手法を組み合わせる

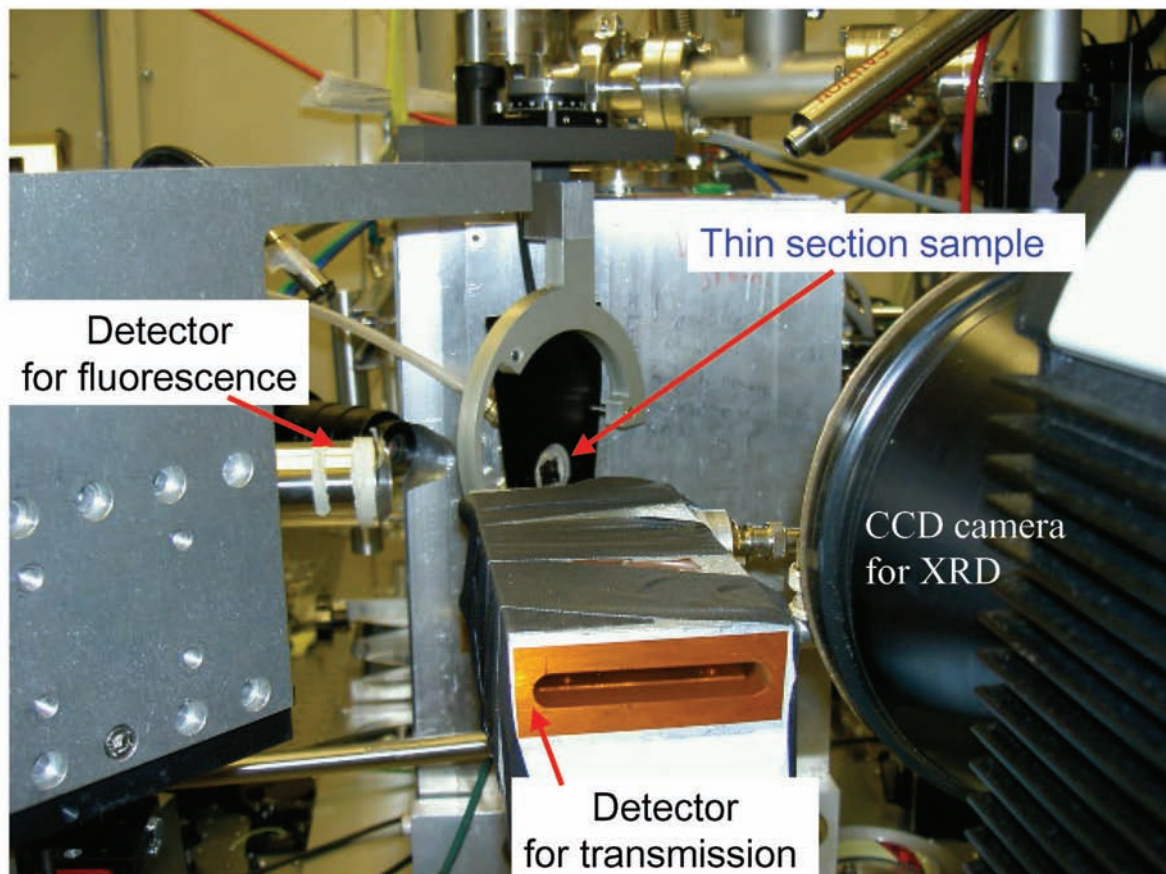


より直接的に微生物が
「どんなものを作るのか?」、「何をしているのか?」、わかるはず

FISH法 (蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション)

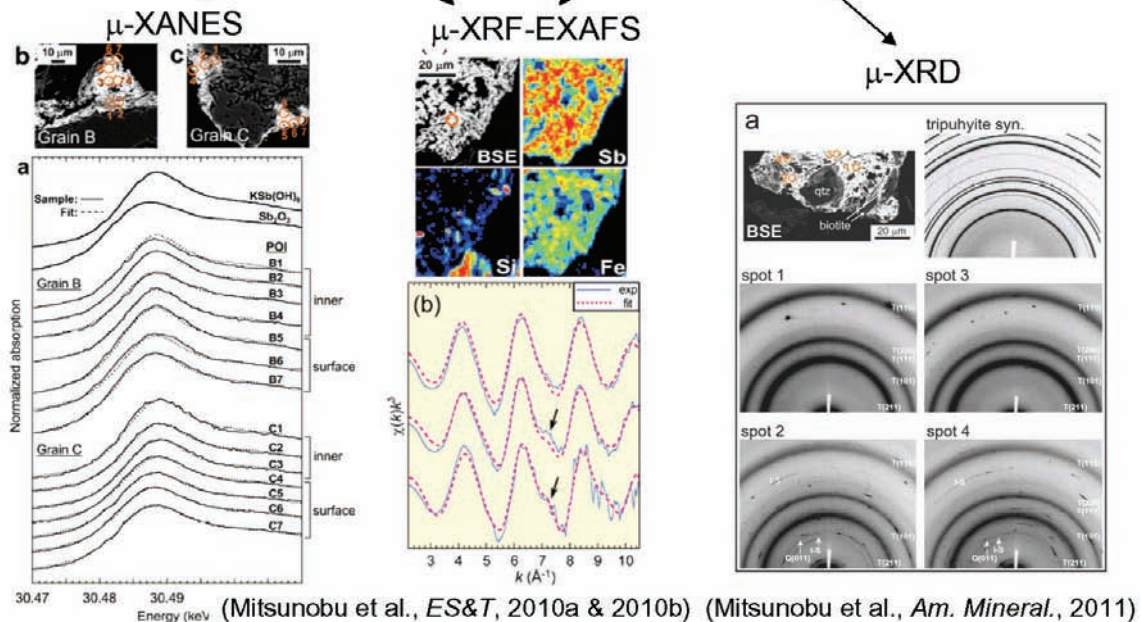


- ・ 蛍光標識DNAプローブを直接ハイブリダイズ
- ・ 種特異的、グループ特異的、如何様にも設計可



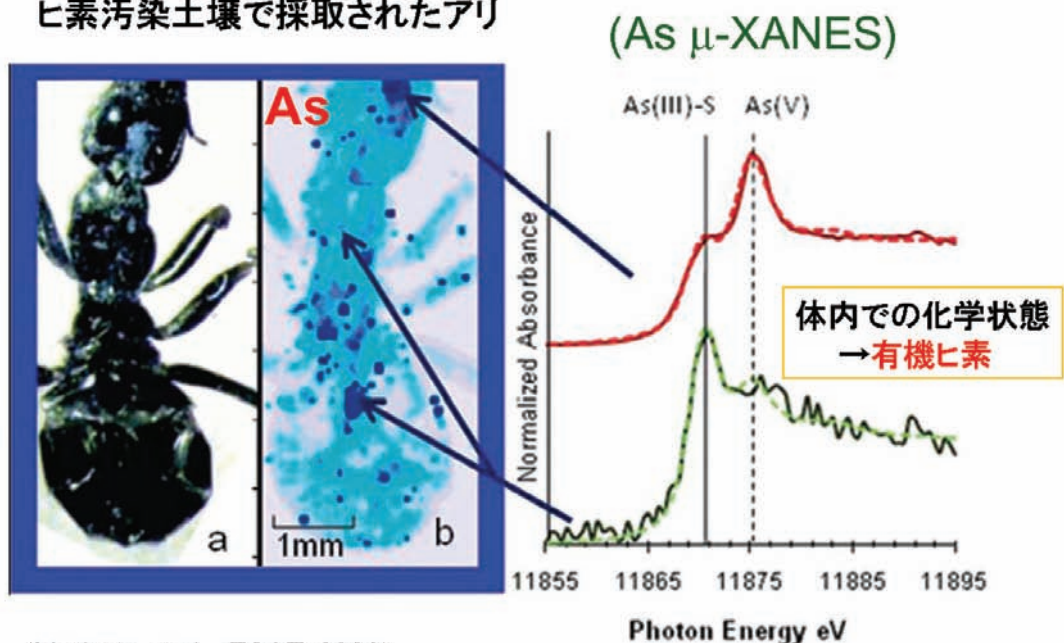
μ -XAFS法の環境試料への適用例 (土壌)

局所領域の価数、元素、化学種、鉱物種の分布がわかる



μ -XAFS法の環境試料への適用例 (生物)

ヒ素汚染土壌で採取されたアリ



(Moriarty et al., *ES&T*, 2009)



バクテリアがつくる鉄マット

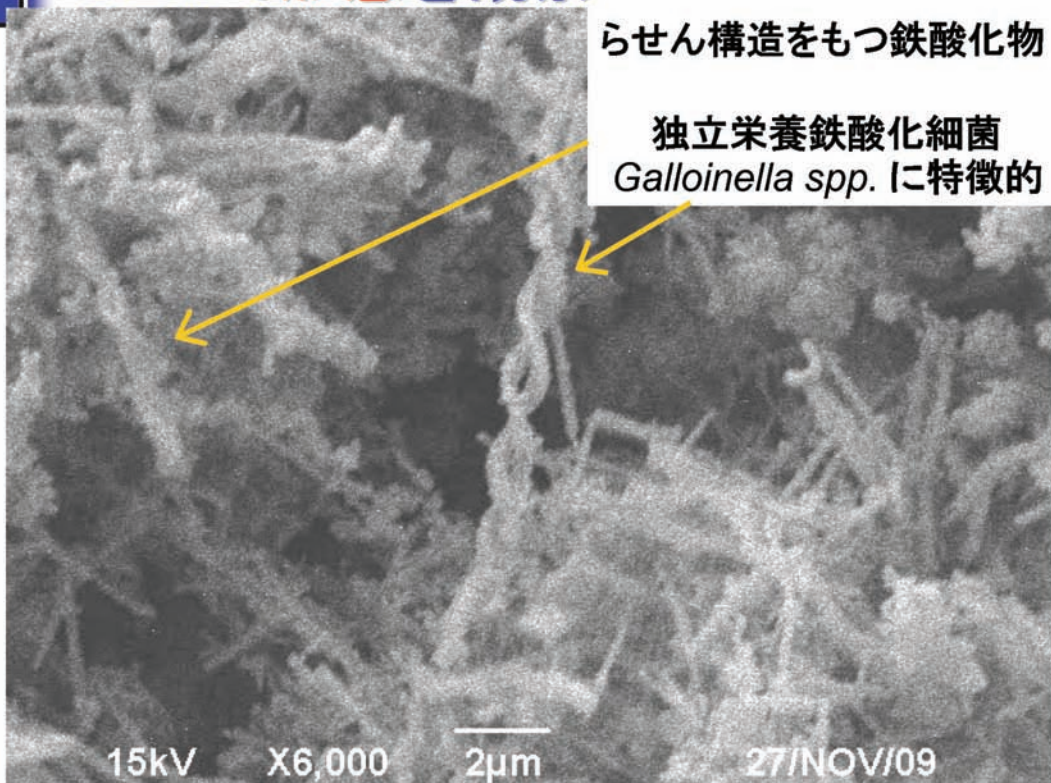
三瓶温泉(島根県)

・鉄マット堆積物

・pH 6.0, $T = 37-42\text{ }^{\circ}\text{C}$



SEMで形態を観察



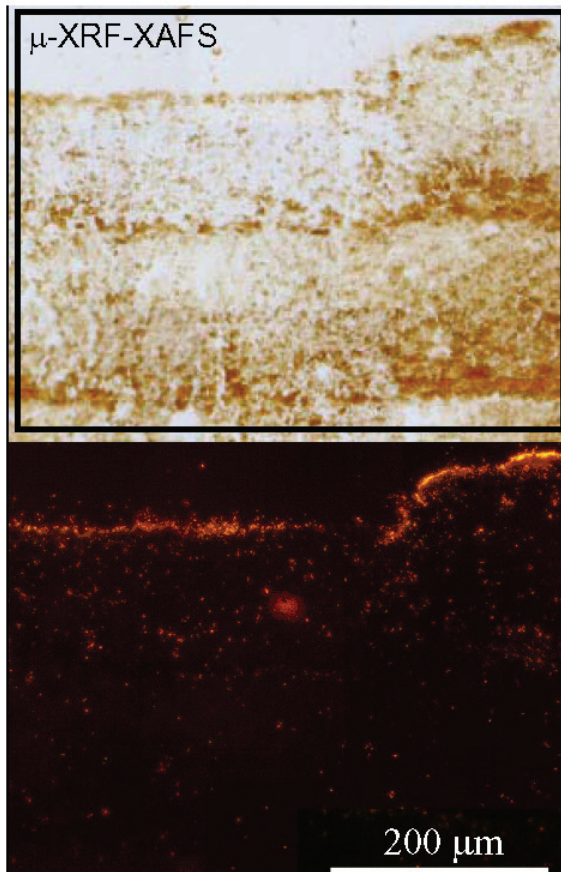
らせん構造をもつ鉄酸化物

独立栄養鉄酸化細菌
Gallionella spp. に特徴的

Microbial Community in Fe mats

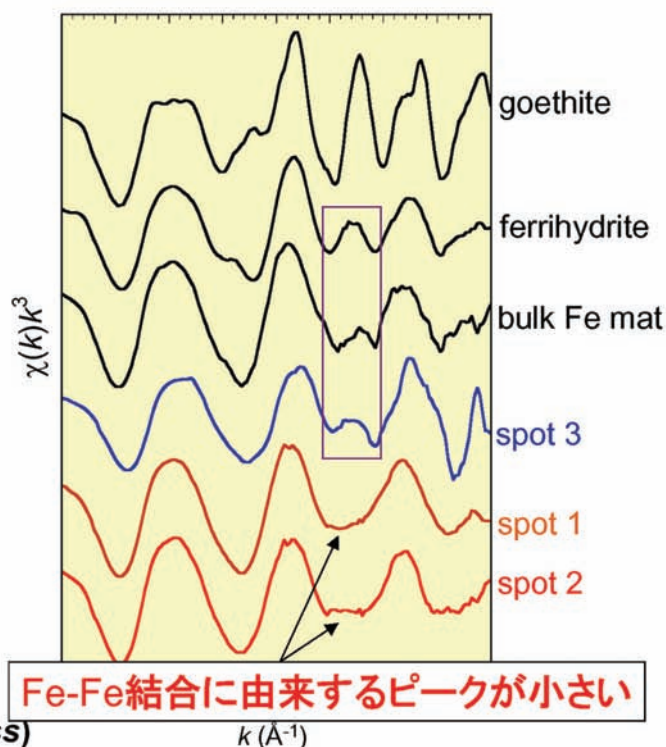
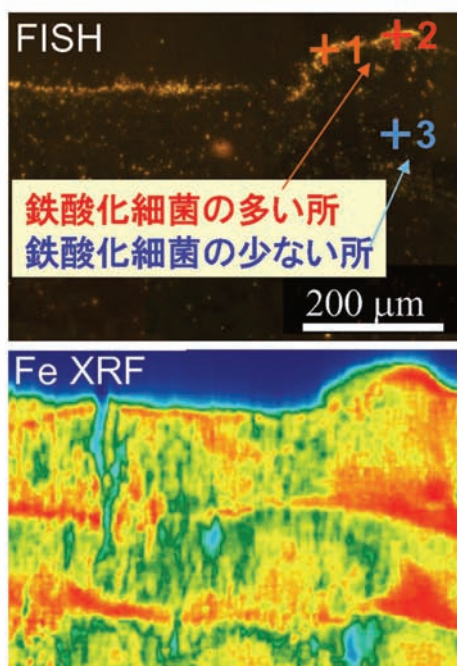


独立營養 好氣的 鐵酸化細菌





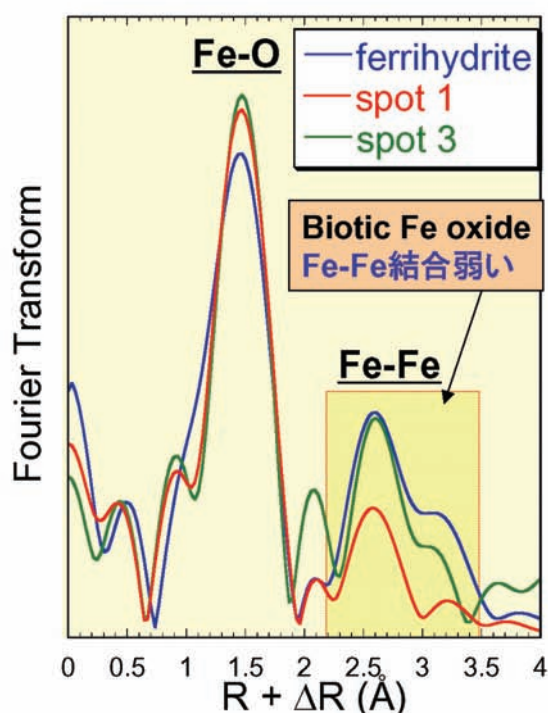
Fe μ -EXAFSで鉄鉱物の種類を決める



(Mitsunobu et al., *ES&T*, in press)



Fe μ -EXAFSでFeの局所構造を決める



<EXAFSシミュレーション結果>

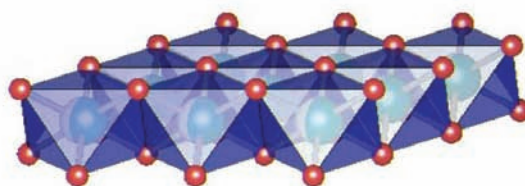
Sample	Shell	配位数	R ($\text{\AA}$)
Ferrihydrite	Fe-O1	3.0	1.92
	Fe-O2	3.0	2.04
	Fe-Fe1	3.5	3.05
	Fe-Fe2	1.4	3.45
Biotic Fe oxides	Fe-O1	2.8	1.94
	Fe-O2	2.8	2.07
	Fe-Fe1	1.8	3.06

結合距離 3.5 $\text{\AA}$ のFe-Fe結合が見当たらない

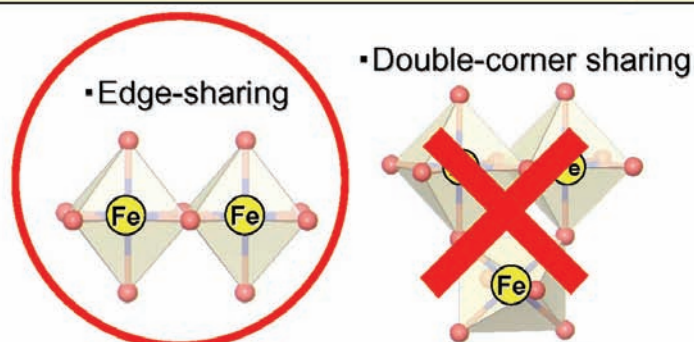


Biotic Fe oxideのユニークな結晶構造

Biotic Fe oxideの構造モデル



2次元的で短い連なりの Fe-Fe linkage をもつ



Biotic・・・Edge-sharingが卓越



Summary

FISH と μ -XAFS を組み合わせた バイオミネラルの *in situ* 観察手法

バクテリアが作った鉄マットに適用すると...

- ・鉄酸化細菌はごく表面に濃集
- ・濃集部の鉄酸化物は無機的なものとは違う
- ・Biotic 鉄酸化物は2次元的なユニークな構造

微生物の情報
生息条件の情報

鉱物の情報

<本手法のメリット>

- ・FISH と μ -XAFSはcultivation-independent methods
- ・ μ -XAFSは元素選択性・検出感度・空間分解能が高い
- ・ターゲット微生物の周りの鉱物をミクロスケールで分析可能
- ・ターゲット微生物が担う化学反応の特定まで可能かもしれない

様々な試料・元素・
微生物に応用可能