

STXM が明らかにした微生物 - 代謝生成物境界における鉄化学種の変化

菅大暉¹, 菊池早希子², 武市泰男³, 宮本千尋⁴, 井波暢人³,
間瀬一彦³, 小野寛太³, 宮原正明¹, 高橋嘉夫^{3,4}

¹ 広島大学院理, ² 海洋研究開発機構, ³ KEK-PF, ⁴ 東京大学院理

Iron speciation at the microbe – metabolite interface using STXM

Hiroki SUGA¹, Sakiko KIKUCHI², Yasuo TAKEICHI³, Chihiro MIYAMOTO⁴, Nobuhito INAMI³, Kazuhiko MASE³,
Kanta ONO³, Masaaki MIYAHARA¹, Yoshio TAKAHASHI^{3,4}

¹ Department of Earth and Planetary Systems Science (DEPSS), Hiroshima University,

² Institute of Biogeosciences, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC),

³ Institute of Materials Structure Science, High-Energy Accelerator Research Organization (KEK),

⁴ Department of Earth and Planetary Science, The University of Tokyo

Abstract

走査型透過 X 線顕微鏡 (STXM) を用いて, 広島大学ぶどう池に沈殿している微生物起源の鉄酸化物 (BIOS) を観察した。STXM による炭素・窒素・酸素・鉄の分布像および炭素・窒素・酸素の K 端 NEXAFS により, BIOS 中から微生物代謝物 (Sheath) 付近に存在する微生物を発見し, 鉄の L 吸収端 NEXAFS から微生物・微生物-Sheath 間・Sheath のそれぞれに存在する鉄の化学種の違いを確認した。本研究結果は, STXM が天然試料中の微生物 - 代謝生成物境界を化学種の観点から直接観測する際の強力なツールになることを示した。

1. はじめに

水酸化鉄は地球上の様々な場所に存在する [1]。加えて, 表面積の広さから高い元素 (イオン) 吸着能を持つため, 地球表層での微量元素の循環などに影響を与えられている [2]。天然に存在する水酸化鉄のほとんどは微生物 (鉄酸化細菌など) を含むため, 無機的な沈殿によって生成された水酸化鉄に加えて [3], 微生物代謝起源の水酸化鉄を含んでいると考えられている [4]。後者は微生物起源の鉄酸化物 (Biogenic/Bacteriogenic Iron Oxides: BIOS) と呼ばれ [1, 5], 現在において人類の鉄生産を支えている縞状鉄鉱層 (Banded Iron Formation: BIF) の起源の一つになった可能性が議論されている [6]。BIOS は, 微生物に加えて, 微生物 (主に鉄酸化細菌) の代謝によって作られた微細な酸化鉄と, 微生物由来の有機物 (EPS, Sheath, Stalk) から構成されている [7, 8]。EPS は細胞外多糖 (Extracellular Polysaccharide) の略称であり, Sheath と Stalk は鉄酸化細菌の代謝によって形成される代謝生成物の固有名詞である。Sheath は筒状, Stalk はツイスト状の構造をしている。上記のように, BIOS はマイクロメートルスケールでの不均一性をもつ有機-無機複合体であるため, BIOS への正確な元素吸着挙動を理解するには微生物や代謝生成物をその場環境に近い状態 (*semi-in-situ*) で直接観察して, これらへの元素吸着挙動を調べる必要がある。このような局所領域での *semi-in-situ* 化学種分析には, 高空間分解能 (数 10 nm) をもち, 微生物と鉱物双方の主構成元素のエネル

ギー領域 (例えば炭素 K 端と鉄の L 端) での NEXAFS が取得できる走査型透過 X 線顕微鏡 (Scanning Transmission X-ray Microscope: STXM) が最も適している。

本研究の目標は, STXM によって BIOS 中の微生物や代謝生成物などを見分けた後, それぞれに吸着 (あるいは共沈) した鉄の化学種を解明することである。これまでに, 無機的な水酸化鉄に対してと, BIOS に対してとでは幾つかの元素の吸着挙動が異なるとの報告もあり [9], 本手法を確立することで, いずれは天然 BIOS への正確な元素吸着挙動の解明に貢献できると考えている。BIOS のような微生物と鉱物を含んだ天然試料への STXM の応用は既に行われているが [10], 日本国内では STXM が 2012 年度まで存在しなかったため, 近年まで行われていない。加えて, 国外では培養された BIOS や, 天然の BIOS の STXM 観察は行われているが [11-13], 天然の BIOS 中の微生物 - 代謝生成物間での鉄の化学種に注目した研究は殆ど無い。本稿では, 実際に STXM で微生物代謝物 (Sheath) とその付近に存在する微生物を観察し [14], 微生物・微生物-Sheath 間・Sheath のそれぞれに存在する鉄から得た, 鉄の L 吸収端 NEXAFS に違いが確認されたことについて報告する。

2. STXM とは?

STXM を簡単に説明すると「数 10 nm スケールの空間分解能条件下で, NEXAFS のマップが取得できる透過型顕微鏡」である [15]。この NEXAFS のマップを取得するため,

エネルギーステップ毎の画像を取得した後に、特定の部位の NEXAFS スペクトルを抽出する「Image Stack」という手法を良く使用する。画像であれば位置のずれの補正も可能なため、1ピクセル単位から正確な位置情報を持ったスペクトルを得ることができる。そして一度「Image Stack」データを取得しておけば、その視野内から抽出したい任意の場所のスペクトルをいつでも抽出できる。

現在、世界の様々な放射光施設に広く普及しており、それぞれが特徴ある活躍をしている STXM であるが [16, 17]、日本では 2012 年度まで導入されていなかった（あくまで炭素などの軽元素領域をターゲットとした、いわゆる軟 X 線を FZP で集光して透過検出する一般的な STXM という意味であり、走査型 X 線顕微鏡自体は存在した [18]）。このような背景を受けて、2012 年に UVSOR に Bruker 社製の STXM が導入されて共同利用が始まった。時を同じくして、PF では日本独自に設計された compact STXM の開発が始まり、2013 年まで行なわれた。2013 年度からは S2 課題 (2013S2-003) のメンバーのみの使用ではあるが、研究への実質的な運用が始まった [19]。また今年度からは、PF にて「STXM 炭素学」と題して、炭素を通した材料-環境物質の総理解を目指した新たな S2 課題 (2016-S2002) が始まっている。

ここで、本研究で使用した日本独自開発の compact STXM の概略を Fig. 1 に示す。compact STXM の開発は以前本誌でも取り上げられた。詳細は参考文献 [20] をご覧いただくとして、以下に開発の主要な点を述べる。まず、新たに専用ビームラインを建設するスペースの無い PF 独自の改良として、「全軸小型ピエゾ制御ステージの使用による顕微鏡の小型化（ビームラインの移動が可能）」を行っている。加えて「四象限スリットによる STXM 仮想光源点を設置し、この仮想光源点から STXM チャンバを一枚の光学定盤に乗せることにより、測定に十分な除振を実現した機構の設計」や、「ステージの移動と位置制御や透過 X 線の検出などの機能を顕微鏡の制御 PC とは独立に field-programmable gate array (FPGA) 回路で制御することによる、高速スキャンの実現」、さらに「ユーザーフレンドリーなグラフィカルユーザーインターフェース (GUI) の作製」などの工夫が凝らされている [14, 20, 21]。現在までに、地球科学・環境科学分野 [22-24] のみならず、磁性材料分野、有機材料分野 [25] に加えて、企業による様々な材料物質分析など、多岐にわたる分野で成果が出ている。

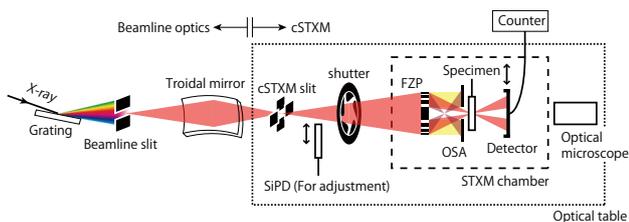


Figure 1 Schematic image of the compact STXM (reference from [14]).

3. なぜ STXM を使用するのか

現在、微生物と鉱物の混合物（や微生物）を観測する上で最も一般的な方法は、形態観察の出来る走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope: SEM) 観察であろう [26]。また、透過型電子顕微鏡 (Transmission Electron Microscope: TEM) による構造観察も行われているが、電子線と高真空環境下での観察のため細胞の破壊や有機物の変質などが起こる可能性がある [11, 12]。細胞固定を行えばある程度はダメージを防げるが、本来の状態は観察していない。細胞固定ではタンパク質同士を架橋する際にアミノ基に作用すると言われているため、窒素の結合に影響が出る可能性があるためである。SEM/TEM-EDS による元素分析も行なわれているが、化学種までは明らかに出来ない。また、近年では微生物種の分布を明らかにするために蛍光顕微鏡 (例えば共焦点レーザー走査型顕微鏡: Confocal Laser Scanning Microscopy: CLSM) に DNA 染色を組み合わせた蛍光 *in-situ* ハイブリダイゼーション法 (Fluorescence *in-situ* Hybridization: FISH 法) も行なわれている [27]。FISH 法では目的の微生物のみを染色し発光させて観察することができ、天然試料中から微生物を発見して空間分布情報を得たり種類分けを行うことができる。しかし、検出感度が微生物の rRNA 含有量に依存するため、培養系などに比べ

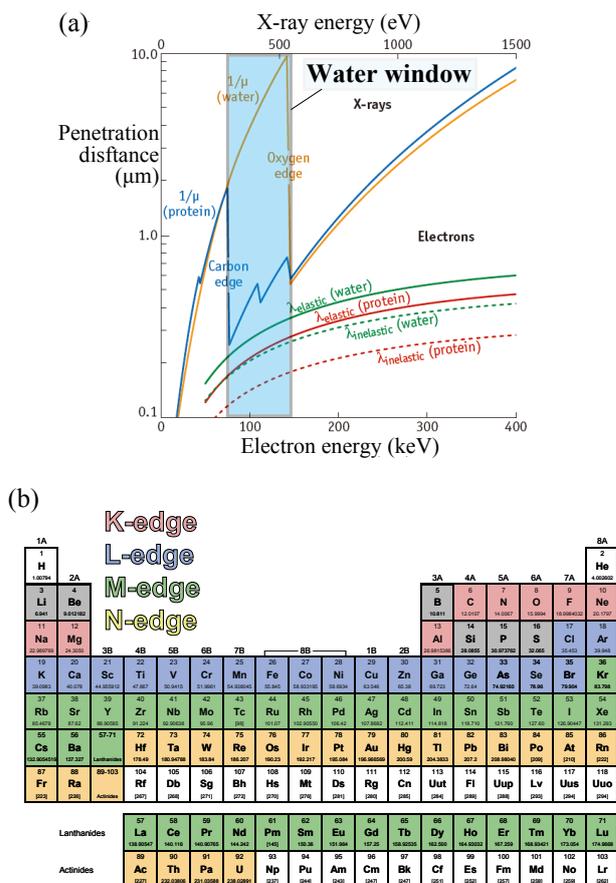


Figure 2 (a) Explanation of water window on the graph of photon energy vs penetration distance [29]. (b) Measurable elements by compact STXM (250-1600 eV). The grey elements cannot be measured by compact STXM.

て貧栄養な環境に存在する rRNA 含有量の少ない微生物に対しては十分な蛍光感度が得られないこともあり、天然の微生物や難培養性微生物に対しては有効でない場合も報告されている [28]。また、FISH 法では元素分析は出来ない。このように、上記の手法では本研究目的である天然 BIOS 中の各要素に吸着した鉄の化学種の解明は難しい。

そこで登場するのが、試料をそのままの状態（ある程度乾燥はさせてしまうが）で微生物の観測・元素分析・化学種同定が *semi-in-situ* で可能な STXM である。前述の SEM/TEM で使用する電子線では、試料を透過可能な厚さ（数百 nm）まで加工しなければ細胞小器官の観察は出来ないため、未処理の生体物質を直接観測することは難しい（Fig. 2(a) に電子線の透過深度を載せている）[29]。しかし X 線の場合は、生体の主成分元素である炭素・窒素・酸素の吸収端のあるエネルギー領域（285 eV- 548 eV、波長では 2.3-4.4 nm）において、一般的なタンパク質に比べて水の透過深度が約一桁大きい（Fig. 2(a) [29, 30]）。そのため、X 線で微生物を観測すると、未処理の生体試料に対しても、細胞質基質中の細胞小器官をハッキリと観測することが出来る。このエネルギー領域を「水の窓」と呼ぶ [15, 30]。また、透過 X 線顕微鏡 (Transmission X-ray Microscope: TXM) に比べて照射ダメージ（時間）が少ない点から本研究では STXM を用いた（TXM は立命館 SR にて稼働中 [31]）。

上記のような X 線と試料の関係以外の利点として、STXM では K 端に加えて L 端・M 端を含んで考えると、理論的には炭素からウランまでのほぼ全元素を検出し、その NEXAFS から化学種を明らかにすることが可能であることが挙げられる。参考までに PF の compact STXM のエネルギー領域：250-1600 eV で、理論的に検出可能な元素を Fig. 2(b) に載せている。この特徴を活かすと、BIOS のような有機物と無機物の混合体の測定を有意義に進めることができるだろう。もちろん、検出可能な元素は STXM ビームラインで使用できる光エネルギー領域に依存するため、ビームラインごとに異なっている。

加えて、STXM で使用する窒化シリコン膜付の TEM グリッドは（その他のグリッドも使用するが、基本的にそれらは TEM 用のものであるため）形状や強度などから、上記の電子顕微鏡観測や FISH 法との相補的な使用が可能であり [10]、それによって新しいサイエンスの展開が可能になる。

4. 試料作製と分析方法

本研究で用いた BIOS 試料は広島大学東広島キャンパス内にある「ぶどう池」から採取した（Fig. 3）。この池には定常的に二価鉄に富む地下水が供給されており、供給域付近に深さ約 15 cm の鉄沈殿物（上部は BIOS）が形成されている。BIOS 形成場の水温は 15-22°C、pH は 6.2-6.5、溶存鉄濃度 288 μM・溶存酸素濃度 29-299 μM である [32]。また、DNA 解析からこの BIOS には鉄酸化細菌の存在も確認されている [33]。

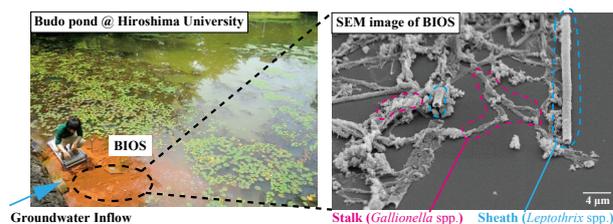


Figure 3 Budo pond and deposited BIOS in the Hiroshima University Higashi-Hiroshima campus. BIOS contained metabolite called sheath and stalk (shown in right side photo).

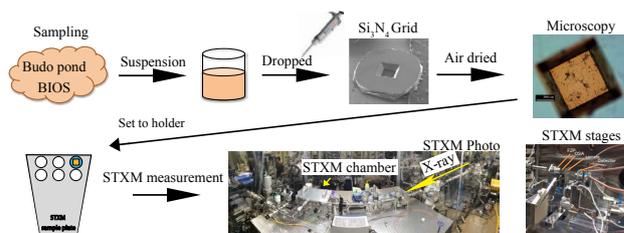


Figure 4 Sample preparation flow chart for the STXM measurement.

BIOS 中の有機物や鉱物の変成を防ぐため、試料採取から STXM 測定までの全工程を 36 時間以内に行った。広島からつくばまで運搬する際に採取したシリンジ底部に沈殿した BIOS は、その状態で再懸濁され、Si 製 TEM グリッドの穴部分（500 × 500 μm）に貼られた 50 nm 厚の窒化シリコン（Si₃N₄）膜上にピペットで添加した後、大気環境下で風乾させた。その後 STXM によって炭素・窒素・酸素の K 端および、鉄の L 端エネルギーでの観測を行った。使用した STXM は日本で初めて導入された UVSOR の BL-4U にある Bruker 社製の STXM と [34]、日本独自の設計で開発されて Photon Factory の BL-13A に設置された compact STXM である [14]。本稿で示す NEXAFS は主に Image Stack 法によって得られた。また画像解析および NEXAFS の取り出しは aXis2000 を使用し、NEXAFS の解析は REX2000 を使用した。試料作製から測定までの略図を Fig. 4 に示す。

5. 結果と考察：微生物の観測

STXM による炭素と鉄の分布像を Fig. 5(a) に示す。この画像から桿菌状の構造が代謝生成物（Sheath）側面に存在していることがわかる。本研究では STXM/NEXAFS による微生物の同定を試みた。桿菌状の構造部分と Sheath 部分から得た炭素 K 端 NEXAFS を Fig. 5(b) に示す。今回の炭素・窒素・酸素および鉄の標準試料の NEXAFS は、Chan *et al.* および Mitsunobu *et al.* による報告されたものを元に議論していく [11, 23]。Sheath 付近に観測された桿菌状の構造から得た炭素の NEXAFS は 289.3 eV に DNA 特有のピークをもつ。一方で、Sheath には 289.3 eV のピークは確認できない。次に、炭素 NEXAFS と同じ領域から得た窒素と酸素の NEXAFS を Fig. 5(c, d) に示す。まず Fig. 5(c) の窒素の NEXAFS は、桿菌状の部分では 401 eV

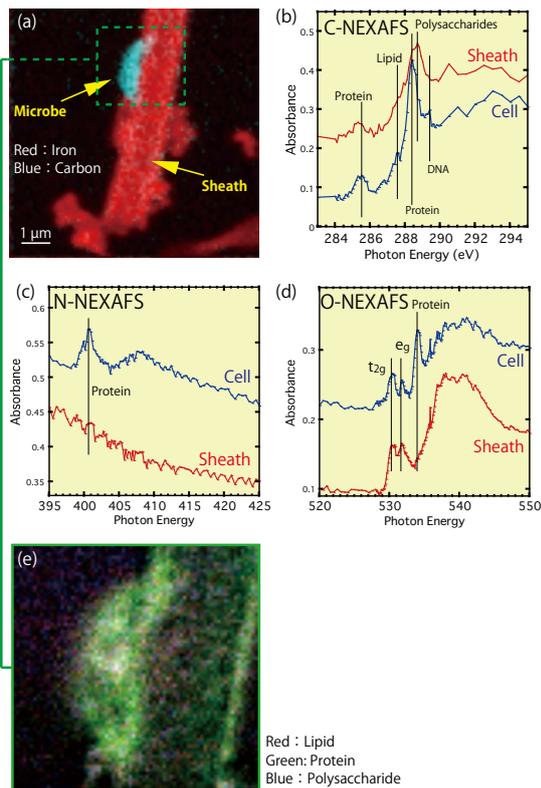


Figure 5 (a) Composition map of carbon (blue) and iron (red). Yellow arrow indicate microbe. (b) Carbon NEXAFS obtained from microbe (cell) and metabolite (sheath) region. (c, d) Nitrogen and oxygen NEXAFS of cell and sheath. Each spectrum obtained from about the same region of (b). (e) RGB image of functional groups of carbon. Lipid (red), protein (green), and polysaccharide (blue) were composited.

に微生物由来と考えられるタンパク質のピークを示すが、Sheath 部分では確認されない。続けて Fig. 5(d) 酸素 NEXAFS であるが、これは 525-535 eV の低エネルギー領域と、535 eV 以上の高エネルギー領域に分けることができる [35]。低エネルギー領域では、桿菌状の部分・Sheath 部分の両者に 530.7 と 532.1 eV のピークが確認された。これらは共に水酸化鉄の 3d 軌道電子の t_{2g} 軌道と e_g 軌道への遷移に由来すると考えられる。加えて、桿菌状の部分ではタンパク質に由来すると考えられる 534 eV のピークが確認された。以上の結果から、この桿菌状の構造は微生物であると解釈することが妥当であろう。この解釈は、STXM 分析後に行った SEM による二次電子像から（潰れた）微生物の形状を観測し、その範囲の XRF からリンのピークを検出したこととも整合する。

Fig. 5(e) に炭素の官能基別のイメージを示す。炭素の NEXAFS から分かる通り、微生物と Sheath の官能基組成は似ているため、全域が同じような色になっている。そして微生物部分の方が Sheath 部分よりも炭素に富むことがわかる。これは、それぞれの炭素 NEXAFS のバックグラウンドに対する吸収度も整合的である。また、Sheath 部分に網目のような構造が確認できるが、これは Sheath を形成している網目状構造の炭素（既報論文ではネットワーク構造と呼ばれている）を観測したのであろう [36]。

ここまでの結果をまとめると、Sheath 側面に存在している微生物を発見し、酸素 NEXAFS から微生物部分より水酸化鉄の存在を確認した。そして、微生物内での官能基の特異的な分布は確認されなかった。まず Sheath 側面に微生物が存在していた理由として、鉄酸化細菌が Sheath を形成しようとする際、その初期段階では綿毛状の EPS をまとめて Sheath 側面に存在することが報告されており [37]、同じような状態の微生物を観測した可能性が高い。さらに微生物部分から鉄を検出したことに対してであるが、通常、微生物内の鉄濃度は 0.05-0.5 μM 以下であり、STXM での検出は難しい [38]。体内に鉄酸化物を含有する走磁性細菌も存在するが [39]、ぶどう池の DNA 解析では報告されていない [32, 33]。加えて、炭素の官能基分布から特異的な分布は確認されず、鉄の分布イメージからも微生物部分で特異的な鉄の分布も見られなかったため、微生物が体内に水酸化鉄を保持しているとは考えにくい。これらのことから、微生物の持つ EPS に水酸化鉄が吸着していると考えるのが妥当である。実際、鉄還元微生物である *Shewanella* 属の TEM 観測で、微生物の周囲に存在する EPS 中に 100 nm 以下の水酸化鉄から成るナノ粒子が確認された例もある [40]。

6. 結果と考察：微生物 - 代謝生成物間での鉄化学種の変化

前章で述べた通り、酸素 K 端 NEXAFS から微生物部分に水酸化鉄が存在していることが明らかとなった。そこで、鉄の L 端 NEXAFS を微生物・微生物-Sheath 間・Sheath の 3 箇所から取得して、それぞれの化学種の比較をした (Fig. 6(a))。取得した鉄 L 端 NEXAFS データは REX2000 によってバックグラウンド減算を行っている。標準物質と比較すると、3 箇所から取得した鉄の NEXAFS のすべてが、水酸化鉄の一つであるフェリハイドライトであることを示しており、主に Fe(II) の存在を示す 707.55 eV (t_{2g}) と Fe(III) の存在を示す 709.15 eV (e_g) の特徴的なピークが確認された (2つのピークの相対的な差: 1.6 eV は [25] を参照した)。これは微生物部分に水酸化鉄 (フェリハイドライト) が吸着していることを示唆しており、酸素 NEXAFS とも調和的な結果である。その後、それぞれの NEXAFS を 707.55 eV で規格化して比較すると、取得した場所ごとに e_g ピークの高さに違いが確認され、Sheath, 微生物-Sheath, 微生物の順にピーク高が減少していることが明らかとなった (Fig. 6(b))。また、酸素 NEXAFS でも同じ傾向が確認でき (Fig. 5(d))、これは微生物-Sheath の間で鉄の化学種に何らかの違いがあるためと考えられる。次に、Fig. 6(c) に鉄 NEXAFS の L_{III} 吸収端の領域のみを拡大したものを示す。ここで、 e_g ピークを見てみると、Sheath, 微生物-Sheath, 微生物の順に、 e_g ピークが減衰するとともに、ピーク構造が変わり割れていることがわかる。この e_g ピークの減衰はそれぞれの領域での鉄化学種の変化を意味しており、割れから Fe(III)-多糖類の結合を示すピーク (708.9 eV) の存在度に起因する可能性がある。そして、微生物部分で最もその寄与が大きいことが示唆される。ま

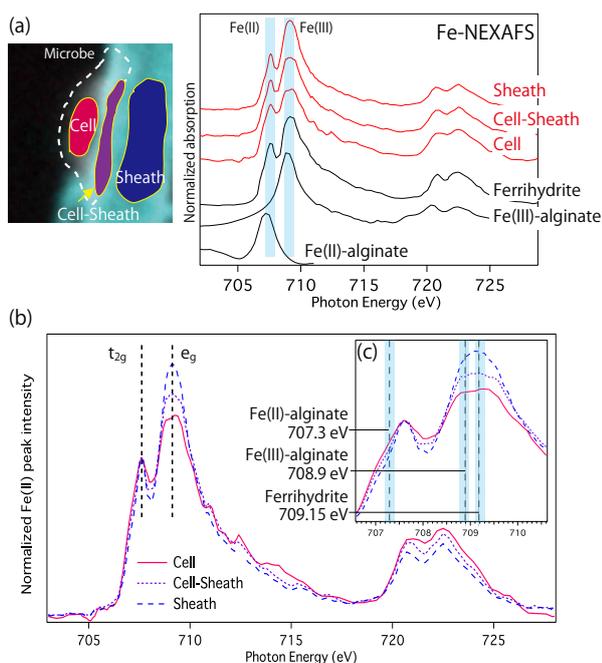


Figure 6 (a) Iron L-edge NEXAFS obtained from cell, cell-sheath interface, and sheath region. ferrihydrate, Fe(III)-alginate (one of the polysaccharides), and Fe(II)-alginate was shown as a standard spectra in the same graph. (b) Iron L-edge NEXAFS obtained from cell, cell-sheath interface, and sheath region (same spectra of (a)). These spectra was normalized Fe(II) peak intensity (at 707.55 eV). (c) Expansion graph of (b), L_{III} region.

た、Sheath から微生物に向かうにつれて、フェリハイドライトの割合は減少していると考えられる。

さらに、Fe(III) - 多糖類 (708.9 eV) から約 1.6 eV 低エネルギー側に存在する Fe(II)- 多糖類のピークが 707.3 eV がショルダーとして確認された。そして、このショルダーの高さ (NEXAFS 抽出部分の二価鉄の割合に関係) は、Sheath から微生物部分に向かうに連れて高くなっていることがわかる。このことは、Sheath に比べて微生物部分では Fe(II) の割合が高いことを意味し、Fe(II) と Fe(III) の比が連続的に変化していることを示唆している。前章の結果も踏まえて考察すると、これら検出した鉄のほとんどは微細な水酸化鉄として EPS に吸着しているが、一部の Fe(II)・Fe(III) は微生物の EPS に直接吸着した状態で存在していると考えるのが妥当である。このように、BIOS に含まれる微生物や代謝生成物の周囲で鉄の化学種が連続的に変化していることを直接観測した研究はなく、本研究で報告すべき成果の一つと言える。

7. まとめ

本研究の主な結果を以下に列挙する。

- (i) 天然試料中 (有機 - 無機複合体) から微生物を細胞固定や染色などの特殊な処理なく直接観察し、炭素と鉄の分布の様子を調べた。
- (ii) 微生物部分の鉄化学種は、EPS に吸着した状態とフェリハイドライトであり、Sheath 部分の鉄化学種はフェ

リハイドライトのみであった。

- (iii) 微生物 - 代謝生成物間にある EPS に含有された鉄も主にフェリハイドライトであったが、一部は細胞外多糖類に直接吸着した状態であり、代謝生成物から微生物に向かうほどフェリハイドライトの量は減少し、微生物の細胞外多糖類と Fe(II) および Fe(III) の直接吸着の寄与が大きくなることがわかった。

またこれらの結果に加えて、STXM によって天然 BIOS 試料中の微生物 - 代謝生成物間という数 10 nm スケールの局所領域での化学種分析が十分に可能であることを確認した。

8. おわりに

本研究を通して、微生物を細胞固定や染色などの特殊な処理なく、発見・直接観測出来る STXM が微生物や微生物 - 代謝生成物 (あるいは鉱物) での鉄化学種を把握するツールとして非常に有用であることを確認できた。このように局所領域での化学種解析の強力なツールとなり得る STXM ではあるが、装置の小ささ (現在は PF と UVSOR のみ)・認知度の低さなどから日本では十分に普及しておらず、発展途上の分析手法となっている。本稿を通して、少しでも多くの読者に STXM で可能な分析や、その魅力を知っていただければ幸甚である。また、現在 compact STXM が設置されている BL-13A では、同じビームラインに対して多様な実験課題・実験希望者が集中しているため、是非とも PF に STXM 専用ビームラインを建設して頂き、一般公募が可能な程度のマシンタイムの確保と、ビームラインサイエンティストおよび補助スタッフの充実を図っていただきたい。そして専用ビームラインには、PF の強みとなっている光学系の汚染炭素の除去機構も装備して頂き [41]、定常的に炭素の NEXAFS 測定が可能なラインとなることを期待する。最後に、STXM による局所領域での官能基分析・化学種解析が将来の地球微生物学や地球化学の試料分析の場において、より一層普及することを期待して、終わりの一文とする。

9. 謝辞

本研究は PF 研究課題 (2013S2-003) および、UVSOR 研究課題 (S-15-MS-2007) によって確保されたマシンタイムによって行なわれた。また、主な研究資金は日本学術振興会特別研究員奨励費 (No. 15J06471) および笹川科学研究助成 (26-635) により賄われた。本稿で使用した鉄の標準スペクトルは、愛媛大の光延聖准教授から許可をいただき使用した。そして UVSOR での STXM 測定の際には、大東琢治助教・稲垣裕一特任専門員の両名にご助力頂いた。

引用文献

- [1] K. O. Konhauser, Introduction to Geomicrobiology, Wiley-Blackwell, **Chapter 4** (2006).
- [2] R. M. Cornell and U. Schwertmann, The iron oxides: Structure, properties, reactions, occurrences and uses. Wiley-VCH. **Chapter 15** (2003).

- [3] F.J. Millero, *Mar. Chem.* **28**, 1 (1989).
- [4] D. Emerson, (2000). Microbial oxidation of Fe(II) and Mn(II) at circumneutral pH, in: Lovley, D.R. (Ed.), *Environmental metal-microbe interactions*. ASM Press, Washington, D.C., **Chapter 2** pp. 31-52.
- [5] L. Hallbeck, K. Pedersen, and J. Gen, *Microbiol.*, **137**, 2657 (1991).
- [6] D. Fortin and S. Langley, *Earth-Science Reviews*, **72**, 1 (2005).
- [7] T. Sakai, Y. Miyazaki, A. Murakami, N. Sakamoto, T. Ema, H. Hashimoto, M. Furutani, M. Nakanishi, T. Fujii, and J. Takada, *Org. Biomol. Chem.*, **8**, 336 (2010).
- [8] T. Suzuki, H. Ishihara, K. Toyoda, T. Shiraishi, H. Kunoh, and J. Takada, *Minerals*, **3**, 247 (2013).
- [9] I. A. Katsoyiannis, H.W. Althoff, H. Bartel, and M. Jekel, *Water Research*, **40**, 3645 (2006).
- [10] J. R. Lawrence, G. D. W. Swerhone, G. G. Leppard, T. Araki, X. Zhang, M. M. West, and A. P. Hitchcock, *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 5543 (2003).
- [11] C. S. Chan, S. C. Fakra, D. Emerson, E. J. Fleming, and K. J. Edwards, *ISME J.* **5**, 717 (2011).
- [12] C. S. Chan, G. De Stasio, S. A. Welch, M. Girasole, B. H. Frazer, M. V. Neaterova, S. Fakra, and J. F. Banfield, *Science*, **303**, 1656 (2004).
- [13] C. S. Chan, S. C. Fakra, D. C. Edwards, D. Emerson, and J. F. Banfield, *Geochim. Cosmochim. Acta.*, **73**, 3807 (2009).
- [14] Y. Takeichi, N. Inami, H. Suga, C. Miyamoto, T. Ueno, K. Mase, Y. Takahashi, and K. Ono, *Rev. Sci. Instrum.* **87**, 013704 (2016).
- [15] D. Attwood, *Soft X-Rays and Extreme Ultraviolet Radiation: Principles and Applications*, Cambridge university press, **Chapter 8** (2007).
- [16] A. L. D. Kilcoyne, T. Tyliszczak, W. F. Steele, S. Fakra, P. Hitchcock, K. Franck, E. Anderson, B. Harteneck, E. G. Rightor, G. E. Mitchell, A. P. Hitchcock, L. Yang, T. Warwick and H. Ade, *J. Synchrotron Rad.*, **10**, 125 (2003).
- [17] J. Raabe, G. Tzvetkov, U. Flechsig, M. Böge, A. Jaggi, B. Sarafimov, M. G. C. Vernooij, T. Huthwelker, H. Ade, D. Kilcoyne, T. Tyliszczak, R. H. Fink, and C. Quitmann, *Rev. Sci. Instrum.*, **79**, 113704 (2008).
- [18] Y. Suzuki, A. Takeuchi, H. Takano, T. Ohigashi, and H. Takenaka, *Jpn. J. Appl. Phys.* **40**, 1508 (2001).
- [19] <http://pfwww.kek.jp/outline/PF-S/PF2013S2-003.html>
- [20] http://pfwww.kek.jp/publications/pfnews/32_4/32_4.html
- [21] N. Inami, Y. Takeichi and K. Ono, *J. Phys.: Conf. Ser.* **502**, 012011 (2014).
- [22] H. Suga, Q. Fan, Y. Takeichi, K. Tanaka, H. Kondo, V. V. Kanivets, A. Sakaguchi, K. Kato, N. Inami, K. Mase, K. Ono, and Y. Takahashi, *Chem. Lett.*, **43**, 1128 (2014).
- [23] S. Mitsunobu, M. Zhu, Y. Takeichi, T. Ohigashi, H. Suga, M. Jinno, H. Makita, M. Sakata, K. Ono, K. Mase, and Y. Takahashi, *Microbes Environ.*, **31**, 1, 63 (2016).
- [24] M. Asano, R. Wagai, N. Yamaguchi, Y. Takeichi, H. Suga, M. Jinno, K. Ono, and Y. Takahashi, *Photon Factory Activity Report 2014*, #32, B (2015).
- [25] Y. Moritomo, T. Yasuda, K. Yonezawa, T. Sakurai, Y. Takeichi, H. Suga, Y. Takahashi, N. Inami, K. Mase, and K. Ono, *Scientific Reports*, **5**, 9483 (2015).
- [26] L. Bergmans, P. Moisiadis, B. Meerbeek, M. Quirynen, and P. Lambrechts, *Int Endod J.*, **38**, 775 (2005).
- [27] R. Amann, W. Ludwig, and L. H. Schleifer, *Microbiol. Rev.*, **59**, 143 (1995).
- [28] A. Pernthaler, J. Pernthaler, M. Schattenhofer, and R. Amann, *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 5728 (2002).
- [29] J. E. Evans, P. Blackborow, S. F. Horne, and J. Gelb, *BioOptics worlds*, (2013).
(本稿の Fig. 4 は上記論文にある J. Kirz, C. Jacobsen, and M. Howells, *Q. Rev. Biophys.*, **28**, 33 (1995). から引用して改変された図を引用した)
- [30] J. Kirz and C. Jacobsen, *J. Phys.: Conf. Ser.*, **186**, 012001 (2009).
- [31] A. Hirai, K. Takemoto, K. Nishino, N. Watanabe, E. Anderson, D. Attwood, D. Kern, M. Hettwer, D. Rudolph, S. Aoki, Y. Nakayama and H. Kihara, *J. Synchrotron Rad.*, **5**, 1102 (1998).
- [32] S. Kato, S. Kikuchi, T. Kashiwabara, Y. Takahashi, K. Suzuki, T. Itoh, M. Ohkuma, and A. Yamagishi, *Geomicrobiol. J.*, **29**, 896 (2012).
- [33] Y. Takahashi, T. Hirata, H. Shimizu, T. Ozaki, and D. Fortin, *Chem. Geol.*, **244**, 569583 (2007).
- [34] T. Ohigashi, H. Arai, T. Araki, N. Kondo, E. Shigemasa, A. Ito, N. Kosugi, and M. Katoh, *J. Phys.: Conf. Ser.*, **463**, 012006 (2013).
- [35] S. Shen, J. Zhou, C. L. Dong, Y. Hu, E. N. Tseng, P. Guo, L. Guo, and S. S. Mao, *Scientific Reports*, **4**, 6627 (2014).
- [36] T. Suzuki, H. Hashimoto, H. Ishihara, T. Kasai, H. Kunoh, and J. Takada, *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 21, 7873 (2011).
- [37] M. Sawayama, T. Suzuki, H. Hashimoto, T. Kasai, M. Furutani, N. Miyata, H. Kunoh, and J. Takada, *Curr Microbiol.* **63**, 173 (2011).
- [38] J. L. Martinez, A. Delgado-Iribarren, F. Baquero, *FEMS Microbiol Lett.*, **75**, 45 (1990).
- [39] D. Faivre, and D. Schüler, *Chem Rev*, **108**, 4875 (2008).
- [40] S. Glasauer, S. Langley, and T. J. Beveridge, *Appl Environ Microbiol.*, **67**, 12, 5544 (2001).
- [41] A. Toyoshima, T. Kikuchi, H. Tanaka, K. Mase, and K. Amemiya, *J. Synchrotron Rad.* **22**, 1359 (2015).

(原稿受付：2016年7月6日)

著者紹介

菅大暉 Hiroki SUGA



広島大学大学院理学研究科地球惑星システム学専攻 博士課程後期2年

〒 739-8526 広島県東広島市鏡山 1-3-1

TEL:082-424-7459 FAX:082-424-0735

e-mail: hiro-suga@hiroshima-u.ac.jp

略歴：2015年広島大学大学院理学研究科地球惑星システム学専攻博士課程

前期（修士）修了，同年から博士課程後期在学中，日本学術振興会特別研究員（DC-1），高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所来訪研究員。

最近の研究：隕石中有機物やBIOS中微生物のその場分析

趣味：フットサル，ボルダリング，スキューバダイビング，歌うこと，寝ること。

菊池早希子 Sakiko KIKUCHI

海洋研究開発機構 ポストドクトラル研究員

〒 237-0061 神奈川県横須賀市夏島町 2-15

TEL:046-867-9737

e-mail: skikuchi@jamstec.go.jp

略歴：2015年広島大学大学院地球惑星システム学専攻博士課程修了。

武市泰男 Yasuo TAKEICHI

高エネルギー加速器研究機構 物質科学研究所

放射光科学第二研究系 助教

〒 305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

TEL:029-864-5200 内線 4909

e-mail: yasuo.takeichi@kek.jp

宮本千尋 Chihiro MIYAMOTO

東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻 修士課程2年

〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

TEL:03-5841-4031 FAX:03-5841-8791

e-mail: chihimiya446@eps.s.u-tokyo.ac.jp

略歴：2015年広島大学理学部地球惑星システム学科卒業，同年から東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻修士課程在学。

最近の研究：アイスコア試料中に保存されたエアロゾルの効率的な回収方法の確立および分析。

趣味：パン屋さんでのアルバイト。

井波暢人 Nobuhito INAMI

高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所

放射光科学第一研究系 特任助教

〒 305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

TEL:029-864-5200 内線 4933

e-mail: nobuhito.inami@kek.jp

略歴：2008年北陸先端科学技術大学院大学材料科学研究科

博士課程修了。2008年東北大学工学系研究科応用物理学専攻研究員，2012年より現職。博士（材料科学）。

最近の研究：放射光，中性子を用いた磁性材料の研究。

趣味：プログラミング。

間瀬一彦 Kazuhiko MASE

高エネルギー加速器研究機構 物質科学研究所

放射光科学第一研究系 准教授

〒 305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

TEL:029-879-6107 FAX:029-864-2801

e-mail: mase@post.kek.jp

略歴：1991年理化学研究所 基礎科学特別研究員，1992年岡崎国立共同研究機構分子科学研究所助手，1999年物質構造科学研究所助教授。

最近の研究：オージェ電子-光電子分光を用いた表面局所電子状態の研究。

小野寛太 Kanta ONO

高エネルギー加速器研究機構 物質科学研究所

放射光科学第一研究系 准教授

〒 305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

TEL:029-864-5200 内線 4205

e-mail: kanta.ono@kek.jp

略歴：1996年東京大学大学院理学系研究科博士課程修了。1996年東京大学大学院工学系研究科助手，2003年高エネルギー加速器研究機構助教授，准教授，現在に至る。博士（理学）。

最近の研究：量子ビームを用いた磁性材料研究。

趣味：海外での実験。

宮原正明 Masaaki MIYAHARA

広島大学大学院理学研究科 准教授

〒 739-8526 広島県東広島市鏡山 1-3-1

TEL:082-424-7461 FAX:082-424-0735

e-mail: miyahara@hiroshima-u.ac.jp

略歴：2004年広島大学博士課程後期修了，2005年東北大学フェロー/助手，2013年広島大学准教授。博士（理学）。

最近の研究：隕石から読み取る天体衝突現象の解明。

趣味：温泉。食べること。

高橋嘉夫 Yoshio TAKAHASHI

東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻 教授

〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

TEL:03-5841-4517 FAX:03-5841-8791

e-mail: ytakaha@eps.s.u-tokyo.ac.jp

略歴：1997年東京大学大学院理学系研究科博士課程修了，1998年広島大学助手，2000年広島大学助教授，2009年広島大学教授，2014年東京大学教授。博士（理学）。高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所の客員教授も兼任。

最近の研究：分子環境地球化学。