Scientific Journal of Earth Science
June 2016, Volume 6, Issue 1, PP.24-28

The Application of Synchrotron Radiation-based X-Ray Microscopy in Studying of Interaction between Minerals and Microorganisms

Shiyong SUN [1, 2]***, Xiang ZOU*** [1, 2]***, Sen LIN*** [1, 2]***, Pengyun GUO*** [1,2]

1 Key Laboratory of Solid Waste Treatment and Resource Recycle of Ministry of Education, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China

2 Department of Geological and Mineral Engineering, School of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China

Abstract

Geobiology is a cross-discipline of geosciences and biology, and mineral-microbe interaction is one of its most important subjects. The presented paper introduces the application of synchrotron radiation-based X-ray microscopy techniques in geobiology related research, especially focusing on studying mineral-microbe interaction. The research platforms of synchrotron radiation-based X-ray microscopy and research progressing in China were also reviewed. In China, the application of synchrotron radiation-based X-ray microscopy in the study of geobiology is still very limited, relevant research methods are also still relatively lacking. Therefore, Geobiology scientists should pay more attention to the synchrotron radiation-based microscopy techniques in order to promote in-depth development of geobiology research in China.

Key words: Geobiology; Mineral-microbe interaction; Synchrotron radiation; X-ray microscopy; Interdisciplinary

同步辐射X射线成像技术在矿物与微生物交互作用研究中的应用*

孙仕勇[1,2]，邹翔[1,2]，林森[1,2]，郭鹏云[1,2]

1西南科技大学 固体废物处理与资源化教育部重点实验室，绵阳621010

2西南科技大学 环境与资源学院 地质与矿物工程系，绵阳621010

摘　要：地球生物学是地球科学与生物科学交叉的学科，矿物与微生物交互作用是其重要研究领域之一。本文主要介绍了同步辐射X射线成像技术在地球生物学，特别是矿物与微生物交互作用领域研究中的应用。综述了国内同步辐射X射线成像平台以及国内外相关研究成果。我国同步辐射X射线成像技术在地球生物学研究中的应用还很有限，相关研究方法还比较短缺。因此，同步辐射成像技术应引起国内地球生物学同行的重视，利用同步辐射X射线成像装置为分析手段，获取微纳分辨率的单细胞形态结构特性以及元素含量、价态的三维空间分布特征，促进相关领域研究的深入开展。

关键词：地球生物学；矿物与微生物交互作用；同步辐射；X射线成像技术；交叉学科

中图分类号：P512.5；P57　　文献标识码：A

地球生物学(Geobiology)是地球科学与生命科学交叉形成的一级学科，包括生物圈与地球其他圈层的交

*基金项目：国家自然科学基金项目(41472310)
作者简介：孙仕勇（1980-），男，博士，副教授。电子邮箱：shysun@ swust.edu.cn, 电话：0816-2419569。
研究方向：地球生物学，矿物与微生物交互作用。

互作用，主要核心内容是生命活动与地球环境的相互作用和协同演化，是解决许多重大地球科学问题的突破口[1, 2]。其中，矿物与微生物交互作用是矿物学和微生物学高度交叉与融合形成的研究领域，是地球生物学重点发展方向之一[3]。矿物与微生物交互作用主要涉及微生物矿化作用、微生物分解矿物作用、微生物转化矿物作用以及矿物与微生物协同作用等，蕴含着重大科学发现与理论突破的机遇[1, 4, 5]。董发勤课题组研究集中于微生物矿化作用，超细矿物与微生物的近尺寸交互作用和核素的微生物转化与矿化作用[6-8]。周根陶课题组开展了生物钙化作用和生物硅化作用的体外仿生矿化作用研究，以及微生物分解和转化含镁硅酸盐的研究[9, 10]。连宾课题组开展了微生物介导的碳酸盐风化作用与矿化作用研究[11]。王红梅课题组开展了微生物诱导的碳酸盐矿化作用以及微生物转化作用研究[12, 13]。王汝成课题组研究集中于多金属矿山环境中微生物分解矿物及其环境效应，系统阐述了矿物与微生物的界面作用机制，生物膜在微生物分解矿物过程中的作用以及微生物在矿山重金属污染修复的应用[14, 15]。陈天虎等开展了铁氧化物、硫酸盐矿物与厌氧微生物的交互作用及环境效应的研究[16]。董海良等开展微生物与粘土矿物交互作用及其环境治理的研究[5]。鲁安怀等近年发展了非光合微生物协同半导体矿物作用的研究方向，他们发现非光合微生物可以通过矿物的介导转化和利用光能促进生命活动[3, 4, 17]。从以上国内研究现状可见，矿物与微生物交互作用近年得到了国内地球生物学者的重点关注，得到了有效发展。

矿物与微生物交互作用过程中单细胞的三维微观形态特征以及交互作用界面上重要元素的含量及价态的空间分布是揭示其微观交互作用机制的关键。随着同步辐射技术的发展，以同步辐射X射线成像特别是软X射线扫描透射成像(Scanning Transmission X-ray Microscopy)与X射线近边吸收精细结构谱学(Near Edge X-ray Absorption Fine Spectroscopy, NEXAFS)结合形成的STXM-NEXAFS和纳米CT(nanocomputed tomography)和等成像技术的发展，为矿物与微生物微观交互作用机制的研究带来了新的利器和曙光，使得对矿物和微生物有了较深层次的表征，促进了矿物和微生物交互作用的研究深入到单细胞亚微观层次[8, 18-20]。

1895年德国物理学家伦琴发现X射线后，在显微成像领域得到了广泛应用。当X射线透过物质时，因吸收和散射，其振幅和相位发生改变，利用这种变化形成明暗对比不同的衬度建立的物体显微图像的方法，称为X射线成像术。随着同步辐射技术的发展，二十世纪七十年代后期，同步辐射为光源的同步辐射X射线成像得到很大发展。与传统成像技术相比，同步辐射X射线成像分辨率介于光学显微镜和电子显微镜之间，样品穿透厚度可达数微米（软X射线）至数十微米（硬X射线）突破了光学显微镜的光学分辨率(0.2 μm)和透射电镜对生物样品厚度(100 nm)要求。同步辐射软X射线成像另一大优势是无需如荧光显微镜的荧光探针标记和电子显微镜的固定、脱水和重金属染色等复杂处理程序，以实现最大限度的原位观察。同步辐射X射线3D纳米CT可实现单细胞及胞内亚细胞器原位无损的三维微观形态结构成像[21-24]。软X射线STXM-NEXAFS将高空间分辨（优于30nm）和NEXAFS的高化学态分辨能力相结合，可在亚微米尺度无损研究单细胞的形态结构特性以及元素含量、价态的三维空间分布[25, 26]。相干X 射线衍射成像技术(CDI)是同步辐射X射线成像技术近年快速发展的成像模式之一，其克服了由于透镜的数值孔径和波带片对成像分辨率的限制，其理论分辨率仅受到X射线波长的限制, 可达原子水平的分辨率。相对于无机样品，同步辐射损伤对微生物样品的辐射损伤影响比较大，冷冻条件下的纳米CT和SXTXM-NEXAFS成像术是有效减少同步辐射对微生物精细结构损伤的有效途径之一[21]。

国内现有上海光源、合肥同步辐射装置和北京同步辐射装置搭建的同步辐射X射线成像研究平台。由中科院上海应用物理研究所邰仁忠研究员领导的上海光源软X射线谱学显微光束站(BL08U1A)，可开展STXM-NEXAFS研究[25, 26, 29]。由中国科学技术大学田扬超研究员领导的合肥同步辐射装置新建的软X射线纳米CT成像站可实现软X射线冷冻3D纳米CT成像。由中科院高能物理研究所朱佩平研究员领导的北京同步辐射装置X射线站(4W1A)可开展同步辐射硬X射线三维成像研究[30]。吴自玉与朱佩平等开展了X射线相位衬度成像方法学研究，提出了X射线相位CT新方法[30]。田扬超等开展了纳米CT酵母单细胞成像研究，获取了胞内亚细胞器的三维分布特征[22, 23, 31]。邰仁忠等开展了STXM双能衬度成像在生物领域中的应用[25, 26, 29]。陆现彩

等在上海光源用STXM双能成像法研究了微生物与硫化矿尾矿交互作用后形成的次生矿物表面上的重金属分布[15]。连宾等利用3D纳米CT观察了微生物对蛇纹石的分解作用[32]。董发勤课题组依托上海光源和合肥同步辐射装置开展了同步辐射X射线成像在矿物与微生物交互作用领域中的应用。在合肥同步辐射国家实验室X射线成像平台开展的单细胞微藻三维显微形态结构成像研究，获取了颗石在颗石藻细胞表面的三维分布特征[8, 21]。在上海光源开展的颗石藻的双能衬度成像和能量堆栈成像研究发现，颗石作为生物矿物具有非常高的成像衬度。通过在Ca吸收边附近的双能成像，获取了钙元素在颗石二维空间分布信息和含量变化。通过能量堆栈法，获得Ca的近边吸收谱以及Ca在颗石上的二维空间分布相结合的化学成分信息[8, 21]。

由于同步辐射成像术的优越性，国外在矿物与微生物交互作用研究领域得到了深入应用。Benzerara等通过STXM-NEXAFS对微生物矿化作用做了系列研究，表征了新月柄杆菌胞内形成的羟基磷灰石矿物相，蓝细菌胞外聚合物(EPS)对碳酸钙诱导沉积的影响，以及揭示了蓝细菌控制细胞内包涵体形成无定形碳酸钙的矿化新路线[33-35]。Obst等通过3D亚微观尺度(100 nm)分辨率的STXM-NEXAFS定量研究了蓝细菌诱导碳酸钙沉积的早期成核态，发现存在文石向方解石的过渡相[27]。Solomon等系统总结了STXM-NEXAFS在矿物与微生物相互作用中的应用[28]。Ehrlich等应用NEXAFS表征了生物硅复合结构的Ca谱精细结构特征[36-38]。纳米CT成像技术在近十多年得到了长足发展，在单细胞3D成像研究方面得到了应用[22, 39]。

总之，现代表征技术一直以来都是地球生物学者所重点关注的的应用方向之一。由于同步辐射X射线成像技术的优越性，引起了国内生物地球学学者的兴趣，并得到了应用。然而我国的同步辐射X射线成像技术在地球生物学领域的应用还很有限，相关方法的研究还比较短缺，因此开展相关研究具有重要意义，需要进一步大力发展，促进我国地球生物学学科的深入发展。

REFERENCES

[1] 殷鸿福, 谢树成, 童金南,史晓颖.谈地球生物学的重要意义[J].古生物学报.2009, **48**(03): 293-301.

[2] 谢树成, 殷鸿福,史晓颖, *地球生物学: 生命与地球环境的相互作用和协同演化*. 2011, 北京: 科学出版社.

[3] 鲁安怀, 李艳, 王鑫, 丁竑瑞, 曾翠平, 郝瑞霞,王长秋.半导体矿物介导非光合微生物利用光电子新途径[J].微生物学通报.2013, **40**(1): 190-202.

[4] Lu, A., Y. Li, S. Jin, X. Wang, X.-L. Wu, C. Zeng, H. Ding, R. Hao, M. Lv, C. Wang, Y. Tang,H. Dong.Growth of non-phototrophic microorganisms using solar energy through mineral photocatalysis[J].Nature Communications.2012, **3**: 768.

[5] Dong, H.Clay–Microbe Interactions and Implications for Environmental Mitigation[J].Elements.2012, **8**(2): 113-118.

[6] 董发勤, 代群威, 贺小春, 邓建军,唐朝军.可吸入矿物细颗粒物与微生物的相互作用[J].岩石矿物学杂志.2009, **28**(6): 611-616.

[7] Liu, M., F. Dong, X. Yan, W. Zeng, L. Hou,X. Pang.Biosorption of uranium by Saccharomyces cerevisiae and surface interactions under culture conditions[J].Bioresource technology.2010, **101**(22): 8573-8580.

[8] 孙仕勇, 周青, 陈冲,董发勤.矿化微藻与无机矿物交互作用的软 X 射线谱学成像研究[J].中国矿物岩石地球化学学会第 14 届学术年会论文摘要专辑.2013.

[9] Cai, L., H.-R. Xiao, S.-M. Huang, H. Li,G.-T. Zhou.Solubilization of magnesium-bearing silicate minerals and the subsequent formation of glushinskite by Aspergillus niger[J].Geomicrobiology Journal.2013, **30**(4): 1-11.

[10] Shi, J.Y., Q.Z. Yao, X.M. Li, G.T. Zhou,S.Q. Fu.Controlled morphogenesis of amorphous silica and its relevance to biosilicification[J].American Mineralogist.2012, **97**(8-9): 1381-1393.

[11] Lian, B., Q. Hu, J. Chen, J. Ji,H.H. Teng.Carbonate biomineralization induced by soil bacterium Bacillus megaterium[J].Geochimica et Cosmochimica Acta.2006, **70**(22): 5522-5535.

[12] 王红梅, 吴晓萍, 邱轩,刘邓.微生物成因的碳酸盐矿物研究进展[J].微生物学通报.2013, **40**(1): 180-189.

[13] Liu, D., H.M. Wang, H.L. Dong, X. Qiu, X.Z. Dong,C.A. Cravotta.Mineral transformations associated with goethite reduction by Methanosarcina barkeri[J].Chemical Geology.2011, **288**(1-2): 53-60.

[14] 李娟, 陆建军, 陆现彩, 王汝成, 徐兆文,屠博文.铜陵矿区废矿石次生氧化产物及其成因初探[J].矿物学报.2012, **31**(4): 676-

682.

[15] Lu, X.C.,H.M. Wang.Microbial Oxidation of Sulfide Tailings and the Environmental Consequences[J].Elements.2012, **8**(2): 119-124.

[16] Chen, T., J. Wang, X. Jin,Z. Yue.Goethite-enhanced anaerobic bio-decomposition of sulfate minerals[J].Frontiers of Earth Science in China.2010, **4**(2): 160-166.

[17] Lu, A., Y. Li,S. Jin.Interactions between Semiconducting Minerals and Bacteria under Light[J].Elements.2012, **8**(2): 125-130.

[18] 鲁安怀.生命活动中矿化作用的环境响应机制研究[J].高校地质学报.2007, **13**(04): 613-620.

[19] 李胜荣, 许虹, 申俊峰, 李国武,张秀宝.环境与生命矿物学的科学内涵与研究方法[J].地学前缘.2008, **15**(06): 1-10.

[20] 鲁安怀, 王长秋,李艳.生命活动过程中无机矿化作用现象及其环境效应[J].科学.2012, **64**(4): 14-17.

[21] Sun, S., M. Liu, Q. Dai, F. Dong, L. Liu,T. Huo.The analysis of microscopy imaging on liquid crystalline components of the cell nucleus[J].Journal of Biomedical Science and Engineering.2012, **5**(6): 307-314.

[22] Zheng, T., W. Li, Y. Guan, X. Song, Y. Xiong, G. Liu,Y. Tian.Quantitative 3D imaging of yeast by hard X‐ray tomography[J].Microscopy Research and Technique.2012, **75**(5): 662-666.

[23] Chen, J., Y. Yang, X. Zhang, J. Andrews, P. Pianetta, Y. Guan, G. Liu, Y. Xiong, Z. Wu,Y. Tian.3D nanoscale imaging of the yeast, Schizosaccharomyces pombe, by full-field transmission X-ray microscopy at 5.4 keV[J].Analytical and Bioanalytical Chemistry.2010, **397**(6): 2117-2121.

[24] Yang, Y., W. Li, G. Liu, X. Zhang, J. Chen, W. Wu, Y. Guan, Y. Xiong, Y. Tian,Z. Wu.3D visualization of subcellular structures of Schizosaccharomyces pombe by hard X-ray tomography[J].Journal of Microscopy.2010, **240**: 14-20.

[25] Zhang, X., Z. Xu, R. Tai, X. Zhen, Y. Wang, Z. Guo, R. Yan, R. Chang, B. Wang,M. Li.Ratio-contrast imaging of dual-energy absorption for element mapping with a scanning transmission X-ray microscope[J].Journal of Synchrotron Radiation.2010, **17**(6): 804-809.

[26] Chen, N., Y. He, Y. Su, X. Li, Q. Huang, H. Wang, X. Zhang, R. Tai,C. Fan.The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots[J].Biomaterials.2012, **33**(5): 1238-1244.

[27] Obst, M., J. Wang,A.P. Hitchcock.Soft X-ray spectro-tomography study of cyanobacterial biomineral nucleation[J].Geobiology.2009, **7**(5): 577-591.

[28] Solomon, D., J. Lehmann, J. Harden, J. Wang, J. Kinyangi, K. Heymann, C. Karunakaran, Y. Lu, S. Wirick,C. Jacobsen.Micro- and nano-environments of carbon sequestration: Multi-element STXM–NEXAFS spectromicroscopy assessment of microbial carbon and mineral associations[J].Chemical Geology.2012, **329**: 53-73.

[29] Zhu, Y., W. Li, Y. Zhang, J. Li, L. Liang, X. Zhang, N. Chen, Y. Sun, W. Chen,R. Tai.Excessive Sodium Ions Delivered into Cells by Nanodiamonds: Implications for Tumor Therapy[J].Small.2012, **8**(11): 1771-1779.

[30] Zhu, P., K. Zhang, Z. Wang, Y. Liu, X. Liu, Z. Wu, S.A. McDonald, F. Marone,M. Stampanoni.Low-dose, simple, and fast grating-based X-ray phase-contrast imaging[J].Proceedings of the National Academy of Sciences.2010, **107**(31): 13576-13581.

[31] YANG, Y., W. LI, G. LIU, X. ZHANG, J. CHEN, W. WU, Y. GUAN, Y. XIONG, Y. TIAN*,Z. WU*.3D visualization of subcellular structures of Schizosaccharomyces pombe by hard X-ray tomography[J].Journal of Microscopy.2010.

[32] Yao, M., B. Lian, H. Teng, Y. Tian,X. Yang.Serpentine dissolution in the presence of bacteria Bacillus mucilaginosus[J].Geomicrobiology Journal.2013, **30**(1): 72-80.

[33] Benzerara, K., T.H. Yoon, T. Tyliszczak, B. Constantz, A.M. Spormann,G.E. Brown.Scanning transmission X-ray microscopy study of microbial calcification[J].Geobiology.2004, **2**(4): 249-259.

[34] Obst, M., J.J. Dynes, J.R. Lawrence, G.D.W. Swerhone, K. Benzerara, C. Karunakaran, K. Kaznatcheev, T. Tyliszczak,A.P. Hitchcock.Precipitation of amorphous CaCO3 (aragonite-like) by cyanobacteria: A STXM study of the influence of EPS on the nucleation process[J].Geochimica et Cosmochimica Acta.2009, **73**(14): 4180-4198.

[35] Couradeau, E., K. Benzerara, E. Gérard, D. Moreira, S. Bernard, G.E. Brown Jr,P. López-García.An early-branching microbialite cyanobacterium forms intracellular carbonates[J].Science.2012, **336**: 459-462.

[36] Ehrlich, H., et al.Mineralization of the metre-long biosilica structures of glass sponges is templated on hydroxylated collagen[J].Nature chemistry.2010, **2**(12): 1084-1088.

[37] Ehrlich, H., P. Simon, W. Carrillo-Cabrera, V.V. Bazhenov, J.P. Botting, M. Ilan, A.V. Ereskovsky, G. Muricy, H. Worch, A. Mensch, R. Born, A. Springer, K. Kummer, D.V. Vyalikh, S.L. Molodtsov, D. Kurek, M. Kammer, S. Paasch,E. Brunner.Insights into Chemistry of Biological Materials: Newly Discovered Silica-Aragonite-Chitin Biocomposites in Demosponges[J].Chemistry of Materials.2010, **22**(4): 1462-1471.

[38] Ehrlich, H., E. Brunner, P. Simon, V.V. Bazhenov, J.P. Botting, K.R. Tabachnick, A. Springer, K. Kummer, D.V. Vyalikh, S.L. Molodtsov, D. Kurek, M. Kammer, R. Born, A. Kovalev, S.N. Gorb, P.G. Koutsoukos,A. Summers.Calcite Reinforced Silica-Silica Joints in the Biocomposite Skeleton of Deep-Sea Glass Sponges[J].Advanced Functional Materials.2011, **21**(18): 3473-3481.

[39] Nelson, J., X. Huang, J. Steinbrener, D. Shapiro, J. Kirz, S. Marchesini, A.M. Neiman, J.J. Turner,C. Jacobsen.High-resolution x-ray diffraction microscopy of specifically labeled yeast cells[J].Proceedings of the National Academy of Sciences.2010, **107**(16): 7235-7239.