



**HAL**  
open science

## Fossilisation expérimentale du monde à ARN

Pierre Jacquemot

► **To cite this version:**

Pierre Jacquemot. Fossilisation expérimentale du monde à ARN. Minéralogie. Sorbonne Université, 2020. Français. NNT : 2020SORUS397 . tel-04534162

**HAL Id: tel-04534162**

**<https://theses.hal.science/tel-04534162>**

Submitted on 5 Apr 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Sorbonne Université

Muséum National d'Histoire Naturelle

Ecole doctorale 397 – Physique et Chimie des Matériaux

*Laboratoire d'Archéologie Moléculaire et Structurale*

*Institut de Minéralogie, Physique des Matériaux et Cosmochimie*

## **Fossilisation expérimentale du monde à ARN**

Par Pierre Jacquemot

Thèse de doctorat

Dirigée par Maguy Jaber et Sylvain Bernard

Présentée et soutenue publiquement le 30 novembre 2020

Devant un jury composé de :

<b>Mme Isabelle DANIEL</b>	Professeure, Université Claude Bernard	Rapporteuse
<b>M. Claude FORANO</b>	Professeur, Université Clermont Auvergne	Rapporteur
<b>M. Laurent MICHOT</b>	Directeur de recherche, Sorbonne Université	Examinateur
<b>Mme Vassilissa VINOGRADOFF</b>	Chargée de recherche, Université Aix-Marseille	Examinatrice
<b>Mme Maguy JABER</b>	Professeure, Sorbonne Université	Directrice de thèse
<b>M. Sylvain BERNARD</b>	Chargé de recherche, Muséum N <sup>al</sup> d'H <sup>ist</sup> Naturelle	Co-directeur



Except where otherwise noted, this work is licensed under  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>





*« Partout où quelque chose vit, il y a, ouvert quelque part,  
un registre où le temps s'inscrit. »*

Henri Bergson

# **Fossilisation expérimentale du monde à ARN**





## Résumé de la thèse

L'enregistrement fossile est l'unique témoin direct de l'histoire du vivant. Actuellement, ses toutes premières étapes situées autour de 4 Ga sont très mal connues notamment à cause de la rareté des roches Archéennes et Hadéennes et de la très forte dégradation des biosignatures au cours des temps géologiques. Plusieurs scénarios comme celui d'un « monde à ARN » ont été élaborés pour décrire l'émergence de la vie mais il n'en existe pour l'heure aucune preuve dans l'enregistrement fossile car on ne sait pas quelles traces ces formes de vie primitives ont pu laisser. Au cours de cette thèse, nous développons une approche expérimentale afin d'identifier les traces d'un « monde à ARN » susceptibles d'être conservées au cours de la diagénèse. Cette approche consiste à faire subir en laboratoire des processus de diagénèse à des molécules caractéristiques du vivant primitif en présence de minéraux modèles de la surface de la Terre Hadéenne. De l'ARN, une des premières biomolécules à émerger dans l'hypothèse du « monde à ARN » a donc été placée en conditions de diagénèse durant 20 jours à 200°C en présence de silice sous forme de gel (précurseurs des cherts), de quartz ou de silice fumée. Des expériences similaires ont été conduites en présence de gels de composition montmorillonite (analogues des premières phases d'altération) à différentes quantités d'eau. Les résidus obtenus ont été analysés par des techniques permettant de caractériser leur contenu minéral et organique. Ceci a permis de documenter les caractéristiques attendues pour des traces fossiles des premières formes de vie issues du monde à ARN et de proposer des hypothèses sur les mécanismes de leur formation et les paramètres déterminants pour leur préservation.

## Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique  
ARN : Acide ribonucléique  
ATP : Adénosine tri-phosphate  
CBM : Centre de Biophysique Moléculaire  
CCM : Centre Commun de Microscopie  
DRX : Diffractométrie des Rayons X  
E.Coli : *Escherichia Coli*  
EDS : *Energy Dispersion Spectroscopy*  
EELS : *Electron Energy Loss Spectrometry*  
ESI : *Electrospray ionization*  
FTIR : *Fourier-Transformed Infrared*  
Ga : *Giga Annum* (milliard d'années)  
GC : Chromatographie en phase vapeur  
ICOA : Institut de Chimie Organique et Analytique  
IEMN : Institut d'Electronique, de Microélectronique et de Nanotechnologies  
IMPC : Institut des Matériaux de Paris Centre  
IMPMC : Institut de Minéralogie, Physique des Matériaux et Cosmochimie  
LC-MS : Spectrométrie de masse couplée en chromatographie liquide  
LUCA : *Last Universal Common Ancestor*  
MAS : *Magic Angle Spinning* (Rotation à l'angle magique)  
MEB : Microscopie Electronique à Balayage  
MET : Microscopie Electronique en Transmission  
Mt : Montmorillonite  
OA : Orbitale atomique  
OM : Orbitale Moléculaire  
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire  
TOF : *Time Of Flight*  
SAED : *Selected Area Electron Diffraction*  
SIMS : *Secondary Ions Mass Spectrometry*  
STEM : *Scanning Transmission Electron Microscopy*  
STXM : *Scanning Transmission X-Ray Microscopy*  
XANES : *X Absorption Near Edge Structure*

## Répertoire des minéraux

Gabbro : Pyroxène + Feldspath  
Gneiss : Quartz + Mica + Feldspath  
Komatiite : Olivine + Pyroxène  
TTG : Tonalite-Trondjémite-Granodiorite  
Zircon :  $ZrSiO_4$

---

## TABLE DES MATIERES

Introduction.....	1
<b>Partie 1. Contexte de l'étude.....</b>	<b>9</b>
I. Origines de la vie et vie primitive	
II. Difficultés dans la lecture de l'enregistrement fossile ancien	
III. Fossilisation et critères d'identification des biosignatures	
IV. La fossilisation expérimentale	
V. Références	
<b>Partie 2. Méthodes expérimentales et analytiques.....</b>	<b>69</b>
I. Préparation des gels de silice et des gels précurseurs d'argile	
II. Fossilisation expérimentale	
III. Diffractométrie des rayons X sur poudre	
IV. Spectroscopie RMN	
V. Spectrométrie de masse	
VI. Microscopie électronique	
VII. Spectroscopie EDS et cartographies de composition chimique	
VIII. STXM-XANES	
IX. Préparation des échantillons pour les microscopies en transmission	
X. Références	
<b>Partie 3. Fossilisation d'ARN en milieu hydrothermal.....</b>	<b>115</b>
I. Caractérisation du résidu solide	
II. Caractérisation des produits de dégradation solubles	
III. Hypothèses mécanistiques	
IV. Références	

---

<b>Partie 4. Fossilisation d'ARN en présence de silice.....</b>	<b>129</b>
I. Préservation des premières traces de vie dans les cherts anciens	
II. Fossilisation d'ARN en présence de silice micro-amorphe	
III. Influence de la cristallinité de la matrice minérale sur la fossilisation	
IV. Conclusions	
V. Références	
<b>Partie 5. Fossilisation d'ARN en présence de minéraux argileux.....</b>	<b>159</b>
I. Les minéraux argileux dans la préservation des premières formes de vie	
II. Cristallisation de la montmorillonite en conditions hydrothermales	
III. Description du résidu de fossilisation d'ARN en présence de précurseurs d'argiles	
IV. Hypothèses mécanistiques	
V. Influence de la quantité d'eau sur la fossilisation	
VI. Conclusions	
VII. Références	
<b>Partie 6. Conclusions et perspectives.....</b>	<b>207</b>
I. Conclusion générale de l'étude	
II. Perspectives de travail	
III. Ouverture	
<b>Annexe 1. Communication <i>Scientific Reports</i>.....</b>	<b>229</b>
<b>Annexe 2. Article en révision à <i>Geochemical perspectives letters</i>.....</b>	<b>237</b>
<b>Annexe 3. Travaux connexes.....</b>	<b>247</b>
<b>Annexe 4. Scripts Hyperspy.....</b>	<b>253</b>



## Introduction

La question de nos origines constitue pour l'Humanité une interrogation profonde et reste à ce jour largement non résolue. Nombreuses ont été les réponses apportées par des mythes et des croyances, encore largement au cœur de nos civilisations et cultures contemporaines<sup>1</sup>. Durant la majeure partie de l'Histoire, la théorie dominante permettant d'expliquer l'origine des êtres vivants est la théorie antique de la génération spontanée. Selon celle-ci, le vivant émergerait en permanence à partir de la matière inanimée ce qui expliquerait par exemple l'apparition de moisissures sur des restes d'aliments. A la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, les travaux de Louis Pasteur écartent définitivement cette théorie et ouvrent la voie à une approche



**Figure 1.** La galerie de paléontologie du MNHN présentant des fossiles de toutes tailles collectés depuis des siècles par les naturalistes et les paléontologues

<sup>1</sup> « Et Prométhée, ayant façonné les hommes à partir d'eau et de terre, leur donna aussi le feu, après l'avoir caché à l'insu de Zeus dans une tige creuse ».

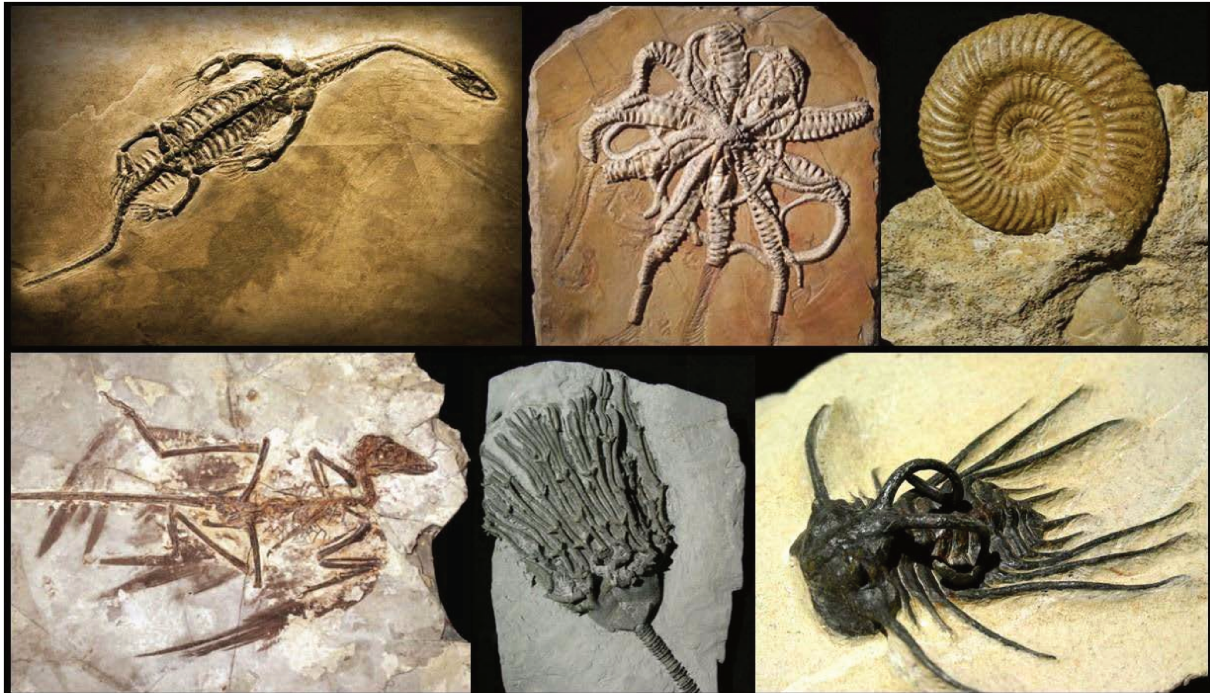
Appolodore, La Bibliothèque, 1,7,1, Ier siècle ap. J.C.

« Alors Yahvé modela l'homme avec la glaise du sol, il insuffla dans ses narines une haleine de vie et l'homme devint un être vivant ».

Ancien testament, Genèse, II, 7.

« C'est Lui le Connaisseur [des mondes] inconnus et visibles, le Puissant, le Miséricordieux, qui a bien fait tout ce qu'il a créé. Et il a commencé la création de l'homme à partir de l'argile ».

Coran, sourate 32, La Prostration, versets 6, 7



**Figure 2.** Photographies de fossiles d'espèces disparues et dont les caractéristiques sont imprévisibles à partir de l'observation des espèces actuelles

historique et évolutionniste du vivant : les organismes ont tous un ancêtre (**Pasteur 1863**). Ceci s'avère être cohérent avec l'une des conclusions de son contemporain Charles Darwin dont la théorie de l'évolution implique l'existence d'un ancêtre commun à tous les êtres vivants (**Darwin 1859**). Cette nouvelle approche permet d'apporter un éclairage nouveau sur les très nombreux fossiles collectés et étudiés par les naturalistes du XVIIIème et du XIXème siècle (Fig. 1). Longtemps considérés comme des témoins du déluge biblique voire même comme des artefacts minéraux prenant l'apparence d'organismes, ces objets peuvent donc être vus comme des restes d'espèces éteintes et pouvant parfois présenter d'évidentes filiations avec des espèces actuelles ou à l'inverse apparaître comme totalement singulières et inattendues (Fig. 2). Leur répartition en différentes strates peut également être interprétée comme le témoin d'une évolution du vivant en étapes successives et distinctes et amène à découper l'histoire du vivant, liée à celle de la Terre, en grandes périodes. L'étude des fossiles présente donc l'intérêt de fournir la seule source de connaissance directe et datée des espèces disparues.



La plupart des fossiles retrouvés, conservés ou exposés dans les galeries de paléontologie (Fig. 1) sont datées de la période du Phanérozoïque (de 540 Ma à nos jours) et consistent essentiellement en des restes d'animaux ou de végétaux macroscopiques et parfois même gigantesques (Fig. 3). A l'échelle de



Figure 3. *Diprotodon optatum* (Pleistocène supérieur)

l'histoire de la Terre, ils sont donc relativement récents et couvrent une période très courte. Pourtant, une majeure partie de l'histoire de la vie s'étalant du Protérozoïque (de 2,5 Ga à 540 Ma) à l'Archéen (de 4 Ga à 2,5 Ga) n'a laissé que très peu de fossiles et beaucoup d'entre eux demeurent controversés. La difficulté de l'étude des fossiles de ces périodes réside d'abord dans le fait que des roches aussi anciennes sont rares et ont subi les ravages du temps, mais aussi dans le fait que la vie au Précambrien est exclusivement unicellulaire. Les fossiles de cette époque ne contiennent donc que des informations interprétables à l'échelle microscopique et se divisent essentiellement en deux catégories : (i) les microfossiles, constitués de matière organique et de morphologie comparable à des cellules (Fig. 4) et (ii) les stromatolithes et autres édifices biominéralisés qui ne contiennent pas forcément de matière organique mais qui ont été *a priori* formés par le vivant et constituent donc en cela des traces de vie. Concernant les microfossiles, les plus anciens spécimens connus et faisant réellement consensus à l'heure actuelle sont les

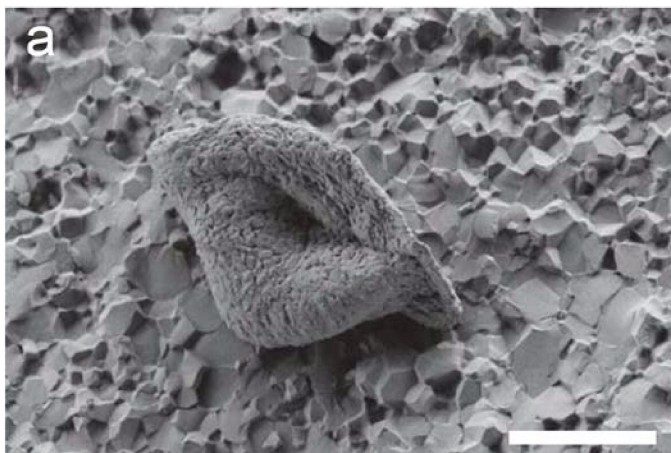


Figure 4. Microfossile de Strelley-Pool (3,4 Ga) observé au MEB. Echelle : 10  $\mu\text{m}$ . D'après Alleen et al. 2018

microfossiles de Strelley-Pool (Pilbara Craton, Australie) datés à 3,4 Ga (Sugitani et al. 2013; Alleen et al. 2018) (Fig. 4). De nombreux fossiles plus anciens ont été rapportés mais sont souvent l'objet de vives controverses (Mojzsis et al. 1996; van Zuilen et al.

2002; Schopf and Kudryavtsev 2012;

**Brasier et al. 2015; Bell et al. 2015; Nutman et al. 2016; Dodd et al. 2017; Tashiro et al. 2017; Hassenkam and Rosing 2017**). La dégradation importante et mal connue de ces objets amène en fait souvent la question de savoir s'ils sont vraiment des fossiles, c'est-à-dire vraiment issus du vivant ou des artefacts formés par des processus purement abiotiques. Les paléontologues du Précambrien doivent donc chercher dans ces roches des preuves de leur biogénéité.

La mise au jour et l'interprétation de ces traces de vie très anciennes est d'une importance primordiale pour comprendre les débuts de l'histoire du vivant (situés autour de 4 Ga (**Hedges and Kumar 2009**)), qui restent à l'heure actuelle encore très mal connus. En outre, seules des hypothèses basées sur des modèles phylogénétiques et des expériences de chimie prébiotique ont été formulées. Les approches phylogénétiques basées sur la construction d'arbres du vivant permettent de dresser plus ou moins précisément le portrait-robot des organismes descendants de LUCA (*Last Universal Common Ancestor*) le dernier ancêtre commun à tous les êtres vivants (**Woese et al. 1990**). Cependant, des expériences de chimie prébiotique et les quelques connaissances que nous avons de la géologie de l'Hadéen laissent supposer que la vie ait pu apparaître bien avant LUCA, plusieurs fois, à différents endroits du système solaire et la nature de toutes ces formes de vie est pour l'instant presque totalement inconnue (**Brack 1998; Orgel 1998**). Parmi les différents scénarios d'émergence du vivant on peut distinguer deux principales catégories : (i) d'une part les scénarios dans lesquels se forment en premier lieu les protéines à partir d'acides nucléiques ce qui conduit à l'émergence d'un proto-métabolisme, (ii) et d'autre part les scénarios regroupés sous l'appellation « monde à ARN » où apparaissent d'abord les acides nucléiques (en particulier l'ARN) contenant une information génétique susceptible de se transmettre aux générations suivantes.

La confrontation de ces scénarios avec des traces fossiles de ces formes limites de vie n'a pour l'instant jamais été réalisée. En pratique, aucun témoin de ces scénarios n'a été retrouvé dans des roches terrestres notamment à cause du fait que l'on n'a aucune idée de quelles traces observables ils ont pu laisser dans l'enregistrement fossile.

Une stratégie permettant d'apporter des éléments de réponse à ces questions est la fossilisation expérimentale. Cette approche consiste à faire subir à des organismes (ou biomolécules) modèles un vieillissement en conditions contrôlées afin de mieux comprendre les processus à l'œuvre au cours de la fossilisation et d'identifier les caractéristiques des résidus expérimentaux obtenus pour pouvoir les confronter aux spécimens naturels. Cette stratégie a été employée avec succès dans le cas d'organismes macroscopiques (**Briggs and McMahon 2016**) afin d'étudier les conditions de leur préservation morphologique ou dans le cas d'organismes modèles du précambrien comme les cyanobactéries afin d'étudier l'influence des matrices minérales sur la fossilisation (**Alleon et al. 2016**). Ces dernières expériences qui ont été réalisées afin de mieux interpréter les plus anciens microfossiles sur Terre (à la fois d'un point de vue chimique et morphologique), ont montré que la nature des matrices minérales et notamment la présence de certaines phases comme la silice est déterminante dans la préservation des formes de vie anciennes (**Oehler and Schopf 1971; Orange et al. 2011; Alleon et al. 2016**).

Afin de mieux comprendre la nature des traces qu'ont pu laisser des formes de vie primitive antérieures à LUCA, nous développons au cours de cette étude une approche expérimentale consistant à faire évoluer des biomolécules potentiellement présentes à la surface de la Terre Hadéenne dans des conditions typiques de la diagenèse subie au cours de l'enfouissement. Ici, nous nous plaçons dans l'hypothèse du « monde à ARN » et nous nous concentrons donc sur l'évolution de l'ARN, molécule fragile qui ne peut être conservée telle quelle au cours des temps géologiques (**Lindahl 1993**). Afin d'étudier la nature des assemblages minéral-vivant susceptibles de se former lors du vieillissement de cette molécule, nous la plaçons au sein de différentes matrices minérales susceptibles d'avoir existé et d'avoir été au contact du vivant primitif à l'Hadéen.

Ce document se compose en six parties. Dans une première partie, nous commencerons par rappeler les grandes étapes des débuts de l'histoire du vivant en les situant chronologiquement par rapport à l'histoire de la Terre et nous exposerons brièvement les méthodologies ayant permis de construire ces théories. Nous avancerons ensuite dans le temps jusqu'aux premiers fossiles connus et aux controverses qui les accompagnent afin de mieux comprendre les enjeux

et les difficultés de la lecture de l'enregistrement fossile très ancien. Nous développerons ensuite quelques aspects théoriques généraux sur les processus de fossilisation puis terminerons sur un état de l'art concernant la fossilisation expérimentale.

Dans une seconde partie nous détaillerons toutes les procédures et méthodes expérimentales employées au cours de cette étude, en particulier les méthodes spectroscopiques et microscopiques permettant de caractériser les échantillons à toutes les échelles.

Dans une troisième partie nous décrirons la fossilisation de l'ARN en conditions hydrothermales en absence de phases minérales et proposerons un mécanisme permettant d'expliquer sa dégradation.

Dans une quatrième partie, nous nous focaliserons sur le cas particulier de la préservation de l'ARN dans les cherts (matériaux riches en silice). Nous rapporterons les résultats de nos expériences de fossilisation d'ARN en présence de gels de silice puis en présence d'autres formes cristallines comme le quartz et la silice fumée. Les résidus expérimentaux seront analysés à toutes les échelles par des méthodes permettant de caractériser les minéraux et la matière organique.

Dans une cinquième partie, nous appliquerons la même méthodologie que précédemment en nous intéressant à l'influence d'une matrice argileuse analogue de phases d'altération Hadéennes et nous arrêterons en particulier sur l'effet de la présence d'ARN sur la formation de certaines phases minérales particulières ainsi que sur l'effet de la quantité d'eau dans le système.

Enfin, nous dresserons un bilan de cette étude dans une sixième et dernière partie et y présenterons les perspectives que laissent entrevoir ce travail.

Une annexe en fin de document comporte deux articles publiés présentant des travaux réalisés dans le cadre de cette thèse, des travaux connexes réalisés en parallèle de cette étude ainsi que les scripts *Hyperspy* utilisés afin de traiter les données obtenues en spectroscopie MET-EDS.

## Références

- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2018) Chemical nature of the 3.4 Ga Strelley Pool microfossils. *Geochemical Perspectives Letters* 37–42. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1817>
- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2016) Early entombment within silica minimizes the molecular degradation of microorganisms during advanced diagenesis. *Chemical Geology* 437:98–108. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.05.034>
- Bell EA, Boehnke P, Harrison TM, Mao WL (2015) Potentially biogenic carbon preserved in a 4.1 billion-year-old zircon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:14518–14521. <https://doi.org/10.1073/pnas.1517557112>
- Brack A (1998) *The molecular origins of life: assembling pieces of the puzzle*. Cambridge University Press, Cambridge
- Brasier MD, Antcliffe J, Saunders M, Wacey D (2015) Changing the picture of Earth's earliest fossils (3.5-1.9 Ga) with new approaches and new discoveries. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:4859–4864. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405338111>
- Briggs DEG, McMahon S (2016) The role of experiments in investigating the taphonomy of exceptional preservation. *Palaeontology* 59:1–11. <https://doi.org/10.1111/pala.12219>
- Darwin C (1859) *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. London
- Dodd MS, Papineau D, Grenne T, et al (2017) Evidence for early life in Earth's oldest hydrothermal vent precipitates. *Nature* 543:60–64. <https://doi.org/10.1038/nature21377>
- Hassenkam T, Rosing MT (2017) 3.7 billion year old biogenic remains. *Communicative & Integrative Biology* 10:e1380759. <https://doi.org/10.1080/19420889.2017.1380759>
- Hedges SB, Kumar S (eds) (2009) *The timetree of life*. Oxford University Press, Oxford ; New York
- Lindahl T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362:709–715. <https://doi.org/10.1038/362709a0>
- Mojzsis SJ, Arrhenius G, McKeegan KD, et al (1996) Evidence for life on Earth before 3,800 million years ago. *Nature* 384:55–59
- Nutman AP, Bennett VC, Friend CRL, et al (2016) Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures. *Nature* 537:535–538. <https://doi.org/10.1038/nature19355>
- Oehler JH, Schopf JW (1971) Artificial Microfossils: Experimental Studies of Permineralization of Blue-Green Algae in Silica. *Science* 174:1229–1231
- Orange F, Chabin A, Gorlas A, et al (2011) Experimental fossilisation of viruses from extremophilic Archaea. *Biogeosciences* 8:1465–1475. <https://doi.org/10.5194/bg-8-1465-2011>
- Orgel LE (1998) The origin of life—a review of facts and speculations. *Trends in Biochemical Sciences* 23:491–495. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01300-0](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01300-0)

Pasteur L (1863) *Revue des cours scientifiques*

Schopf JW, Kudryavtsev AB (2012) Biogenicity of Earth's earliest fossils: A resolution of the controversy. *Gondwana Research* 22:761–771. <https://doi.org/10.1016/j.gr.2012.07.003>

Sugitani K, Mimura K, Nagaoka T, et al (2013) Microfossil assemblage from the 3400Ma Strelley Pool Formation in the Pilbara Craton, Western Australia: Results from a new locality. *Precambrian Research* 226:59–74. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2012.11.005>

Tashiro T, Ishida A, Hori M, et al (2017) Early trace of life from 3.95 Ga sedimentary rocks in Labrador, Canada. *Nature* 549:516–518. <https://doi.org/10.1038/nature24019>

van Zuilen MA, Lepland A, Arrhenius G (2002) Reassessing the evidence for the earliest traces of life. *Nature* 418:627–630. <https://doi.org/10.1038/nature00934>

Woese CR, Kandler O, Wheelis ML (1990) Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87:4576–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576>



# **Partie 1. Contexte de l'étude**



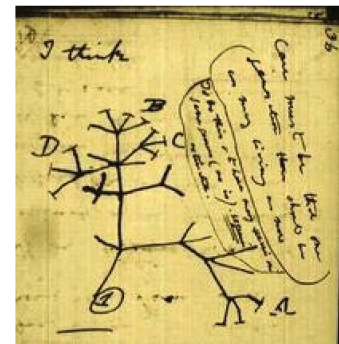
# I. Origines de la vie et vie primitive

L'objectif de cette première section est de dresser un aperçu de nos connaissances sur les premières formes de vie sur Terre, de situer dans le temps les premières étapes de l'évolution et de présenter les différentes approches scientifiques ayant permis de construire ces théories.

## 1. L'arbre du vivant : approche phylogénétique

### a. Diversité et unicité du vivant actuel

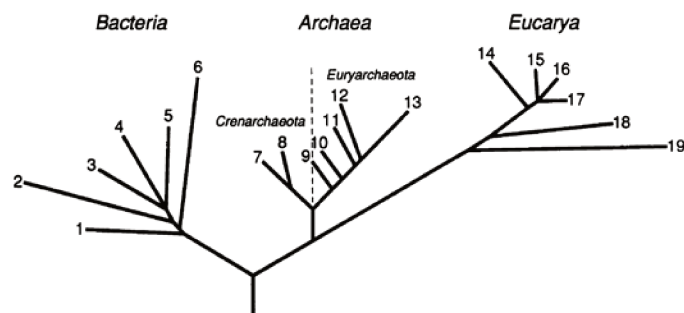
L'observation du monde vivant contemporain témoigne d'une extraordinaire diversité d'espèces. On recense environ 1,5 millions d'espèces connues et bien qu'il soit difficile d'extrapoler le nombre total d'espèces vivant actuellement sur Terre, on estime leur nombre total à plus de 11 millions (Mora et al. 2011). Certains modèles mathématiques uniquement basés sur la diversité microbienne prédisent même jusqu'à  $10^{12}$  espèces (Locey and Lennon 2016). Entre ces espèces, la diversité des phénotypes est considérable ce qui a motivé au cours des siècles l'apparition de diverses classifications



**Figure 1.** Première ébauche d'arbre du vivant dessinée par Darwin en 1859 et faisant apparaître un ancêtre commun. C'est la seule illustration de l'Origine des espèces.

du monde vivant (Linné 1767; Woese et al. 1990; Luketa 2012; Ruggiero et al. 2015). Au-delà de cette extraordinaire diversité, l'essor de la biologie moléculaire a permis de découvrir que l'ensemble des êtres vivants partagent pour l'essentiel les mêmes processus biochimiques (Hillis et al. 2020). Cela a confirmé l'intuition originale de Darwin que l'ensemble des êtres vivants partagent tous un même ancêtre commun (Darwin 1859) (Fig. 1). Il est donc possible de placer l'ensemble des espèces actuelles ou passées sur des arbres phylogénétiques que l'on pourrait voir en quelque sorte comme des « arbres généalogiques » du vivant.

## b. Arbres du vivant et dernier ancêtre commun



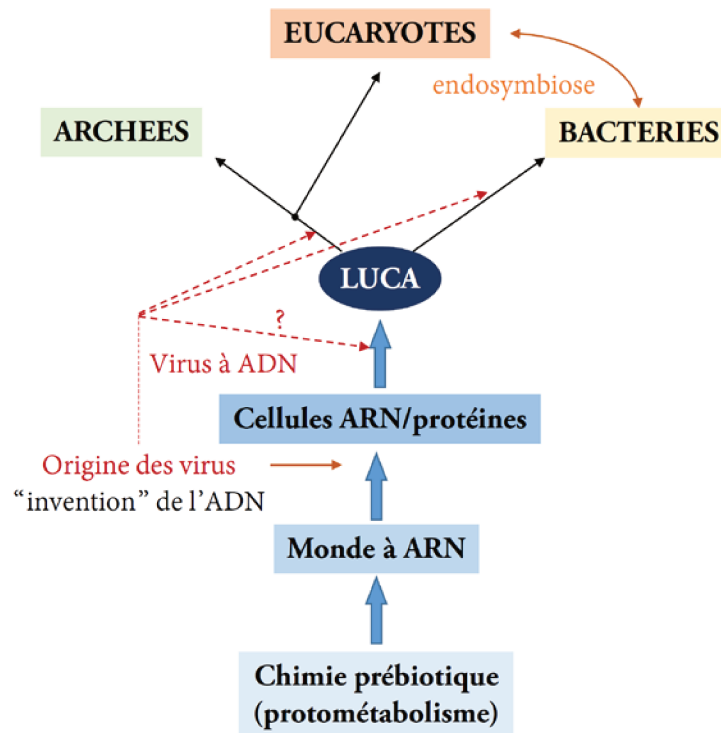
**Figure 2.** Arbre phylogénétique mettant en évidence les 3 grands domaines du vivant (Woese, 1990). L'origine du graphe est appelée LUCA (Last Universal Common Ancestor)

Les arbres du vivant ou arbres phylogénétiques font figurer les liens de parenté entre espèces actuelles et passées. Ce sont des constructions mathématiques dans lesquelles les espèces sont d'autant plus espacées qu'elles sont différentes. Ces différences doivent être quantifiées sur un caractère commun. Historiquement, la comparaison a été effectuée en étudiant les ARN 16S (18S chez les eucaryotes), des constituants des ribosomes présents dans tout le vivant cellulaire connu. Cette étude phylogénétique a conduit Carl Woese à proposer trois grands domaines du vivant : les bactéries, les eucaryotes et les archées (**Woese and Fox 1977**) (Fig. 2). A l'origine de ces trois domaines, il est possible de postuler l'existence d'un ancêtre commun à l'ensemble du vivant actuel : LUCA (*Last Universal Common Ancestor*). L'étude des lignées génétiques du vivant, notamment grâce à l'essor de la phylogénie moléculaire et la bioinformatique, a permis de formuler des hypothèses sur les caractéristiques de LUCA et des organismes très anciens l'ayant succédé (**Castresana 2001**) ainsi que sur la chronologie de la divergence des grands domaines du vivant (**Sun and Caetano-Anollés 2008**). Bien que LUCA se définisse comme un nœud ponctuel placé à l'origine de l'arbre du vivant, il est souvent proposé qu'il s'agisse d'une communauté d'individus aux physiologies assez variées et ayant vécu, selon des chronomètres moléculaires, il y a environ 4,1 milliards d'années (**Battistuzzi et al. 2004; Glansdorff et al. 2008**). Les caractéristiques de cette communauté sont encore très débattues mais l'hypothèse la plus répandue est qu'elle serait constituée d'organismes procaryotes (**Glansdorff et al. 2008**). Des théories permettent de soutenir qu'ils pourraient être hétérotrophes (**Lazcano and Miller**

1999; Ferry 2006; Schönheit et al. 2016), autotrophes (Wächtershäuser 1988; Weiss et al. 2016) ou les deux (Gutekunst 2018). S'il est admis que ces organismes utilisent des protéines et de l'ARN, il n'y a pas de consensus sur le fait que leur génome contienne aussi de l'ADN (Forterre 2002; Poole and Logan 2005). Des études basées sur des analyses statistiques ont montré, sans arriver à une conclusion définitive, que LUCA constituerait probablement une communauté d'organismes thermophiles modéré avec un optimum de croissance entre 60 et 65°C (Galtier 1999; Di Giulio 2000). Ces résultats ont conduit à proposer que LUCA habiterait proche de systèmes hydrothermaux sous-marins, dont les conditions physico-chimiques sont compatibles avec les caractéristiques retenues pour LUCA. Nous verrons plus loin que ces systèmes sont vraisemblablement impliqués également dans l'émergence de certaines biomolécules.

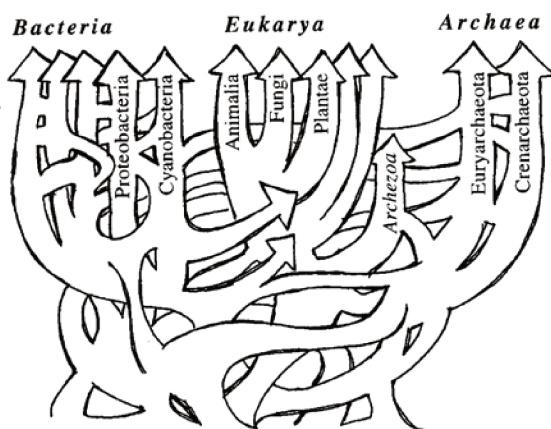
### c. Hypothèses sur les premières formes de vie

Comme nous venons de le voir, l'approche phylogénétique consistant à étudier les organismes actuels et en particulier leur génome a permis de faire considérablement progresser notre connaissance des premiers ancêtres des êtres vivants actuels même si de nombreuses hypothèses, parfois contradictoires ont été proposées. Il semble en effet que les premières formes de vie aient pu être des cellules constituées essentiellement d'ARN, capables de se répliquer et vivant dans des environnements hydrothermaux accompagnés de virus également constitués d'ARN (Forterre 2005). C'est dans ce « monde à ARN » qu'émergeraient les ribosomes puis l'ADN et les protéines selon une chronologie encore controversée (Fig. 3). A ce stade, les évolutions des organismes cellulaires ont vraisemblablement fortement impliqué les virus (Forterre 2013). A partir de ces évolutions multiples, des communautés présentant l'essentiel des caractéristiques du vivant actuel ont pu évoluer vers LUCA (Glansdorff et al. 2008). Par la suite, la branche commune aux eucaryotes et aux archées a donné naissance à deux domaines distincts. L'émergence des eucaryotes aurait été rendue possible par des processus d'endosymbiose entre des bactéries et des « protoeucaryotes » situés sur la branche des archées



**Figure 3.** Scénario schématisé des premières étapes de l'évolution conduisant aux 3 grands domaines du vivant (adapté de Forterre 2013 et Glansdorff 2008)

(Glansdorff et al. 2008; Forterre 2013). Malgré la formulation de scénarios plausibles, cette approche basée sur la phylogénie moléculaire présente des difficultés et des limites (Forterre et al. 2018). Il existe en effet de nombreux artefacts méthodologiques lors de la construction des arbres du vivant, notamment liés au choix des ARN ribosomiaux comme critère d'étude (Philippe and Laurent 1998; Kolařík and Vohník 2018). Ces artefacts sont d'ailleurs plus



**Figure 4.** Proposition schématisée alternative d'arbre du vivant tenant compte des transferts de gènes horizontaux (d'après Doolittle, 1999)

marqués pour les espèces proches des premières branches du vivant. Certains auteurs ont également critiqué l'idée même de phylogénie et de représentation du vivant sous forme d'un arbre, notamment en raison des transferts de gènes horizontaux (c'est-à-dire non pas entre un ancêtre et un descendant mais entre espèces contemporaines) dont l'importance n'est pas vraiment quantifiée (Martin 1999; Doolittle

1999) (Fig. 4). Dans le but de comprendre les premières étapes de la vie sur Terre, cette approche se heurte également à l'impossibilité de remonter à des formes de vie antérieures à LUCA et notamment aux entités du « monde à ARN ». Cette approche reste pour l'essentielle spéculative dans la mesure où ses conclusions, aussi séduisantes soient-elles, ne pourront jamais être confrontées aux génomes réels des espèces passées.

## 2. Le monde à ARN est-il vivant ?

La recherche des débuts du vivant, c'est-à-dire bien avant LUCA, nous amène rapidement à nous poser la question préliminaire : « qu'est-ce que le vivant ? ». En effet, la découverte de traces de vie dans l'enregistrement géologique qui constitueraient des preuves de l'existence de la vie à une période et en un lieu donné implique nécessairement d'être en mesure de définir la vie. Il est intéressant d'apporter quelques brefs éléments de réflexion autour de cette question car, comme nous allons le voir tout au long de cette étude, la distinction entre « vivant » et « non-vivant », et en particulier entre « biologique » et « abiotique » est au cœur de la recherche des traces de vie anciennes.

### a. Doit-on définir la vie ?

La vie est omniprésente autour de nous. Elle apparaît comme une notion intuitive que l'on ne définit jamais car il nous paraît évident de distinguer ce qui est vivant de ce qui ne l'est pas. L'exercice se complique quand on s'intéresse aux formes limites de la vie comme les toutes premières formes de vie qui ont existé sur Terre ou à d'éventuelles formes de vie extra-terrestres. Sur Terre, on peut affirmer que la vie a émergé à partir de molécules prébiotiques (**Brack 1998; Orgel 1998; Lazcano and Miller 1999**) mais il est difficile de situer dans le temps son origine sans avoir une définition claire de ce qu'on appelle le vivant. Cette question délicate n'a longtemps intéressé que les philosophes mais avec l'émergence au début du XX<sup>ème</sup> siècle de disciplines comme l'exobiologie ou la vie artificielle, les scientifiques ont ressenti le besoin d'un

critère opérationnel leur permettant de formuler des hypothèses et de construire des théories sur les origines de la vie (**Gayon 2010**).

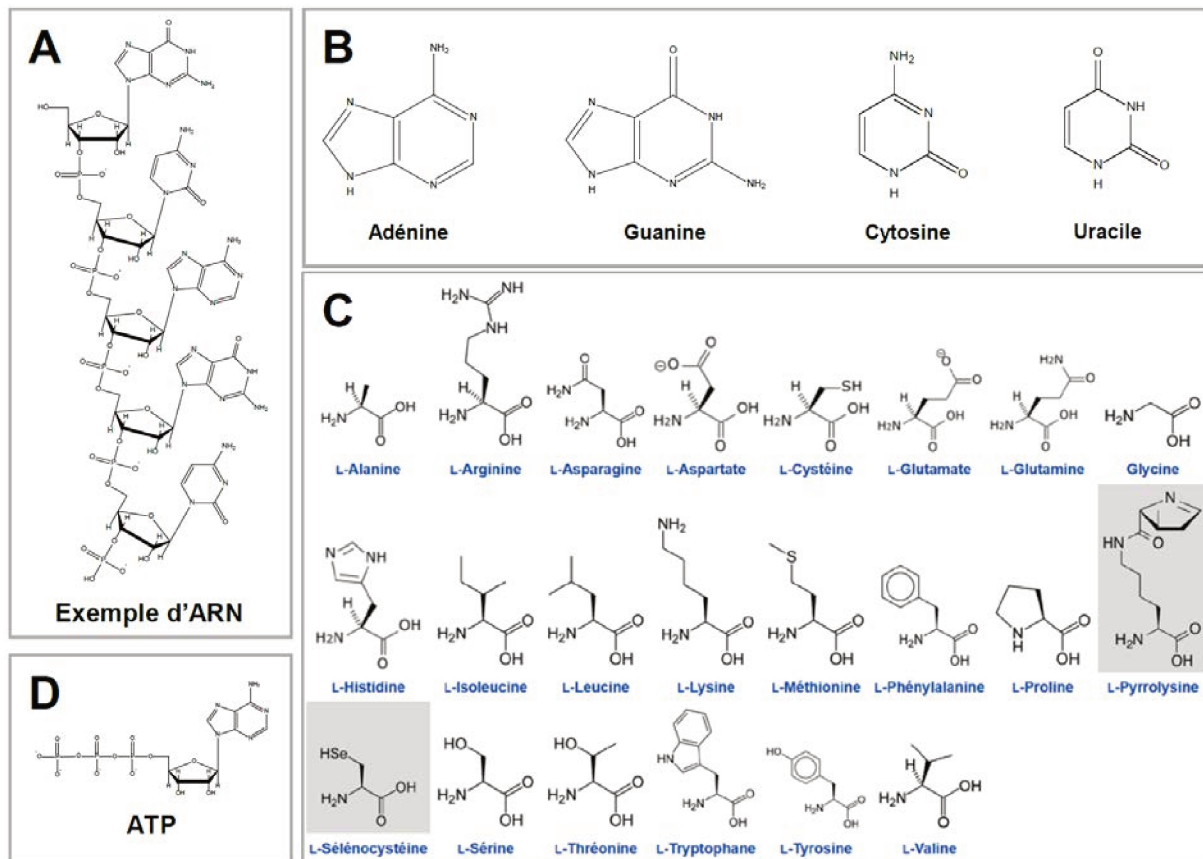
Pourtant, il n'y a aucun consensus à ce sujet car il y a, semble-t-il, autant de définitions que d'exobiologistes et il arrive que l'idée même d'une définition universelle soit contestée (**Lazcano 2008; Machery 2012; Mix 2015**). Nous ne donnerons donc aucune définition universelle du vivant mais, selon la distinction proposée par Karl Popper, une définition « spéculative », c'est-à-dire une convention du type : « par vivant, nous entendons... » (**Popper 1945**). Afin de proposer la définition la plus adaptée à notre étude, il nous faut donc chercher parmi les caractéristiques fondamentales du vivant celles qui apparaissent comme les plus pertinentes dans l'identification des traces fossiles des premières formes de vie terrestres.

#### b. Caractéristiques des êtres vivants

L'étude des organismes actuels a permis de découvrir et d'identifier certaines caractéristiques importantes du vivant (voir a.). Il apparaît qu'aucune propriété simple ne permet de caractériser le vivant de manière complètement univoque. En effet, certaines propriétés comme par exemple l'autopoïèse (capacité d'un système à se produire lui-même) peuvent être observées dans des systèmes non-vivants (ex : micelles auto-répliquantes (**Bachmann et al. 1992**)).

La biologie moderne ne conçoit pas la vie comme un objet ou une substance mais comme une dynamique propre aux êtres vivants (**Penzlin 2009**). L'ensemble des processus physico-chimiques qui participent à ce processus est appelé métabolisme. Le métabolisme est la première caractéristique fondamentale du vivant. Dans un organisme, des biomolécules sont en permanence synthétisées et reconstruites et des ions et des molécules sont transportées à l'intérieur de l'organisme ou échangées avec l'extérieur. Ces processus impliquent que l'intérieur du système soit maintenu dans le temps dans un état hors-équilibre : on parle d'état stationnaire (**Schrödinger 1946**). Le maintien de l'ordre interne de l'organisme suppose donc une création d'entropie qui doit être transférée à l'extérieur (d'après le second principe) et de





**Figure 5.** Exemples de molécules caractéristiques du vivant. A. Oligomère d'ARN B. Les 4 bases azotées à la base des acides nucléiques C. Les 22 acides aminés à la base des protéines D. Molécule d'ATP

l'apport d'enthalpie libre. Pour tous les organismes, cette enthalpie libre est produite par rupture de liaisons C-C dans des molécules organiques (sucres ou lipides) puis utilisée dans le métabolisme par l'intermédiaires de molécules d'ATP (adénosine triphosphate) (Fig. 5) dont l'hydrolyse est très exothermique ( $\Delta rG^\circ = -30,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ). La manière dont les organismes accèdent aux sucres et aux lipides n'est pas partagée par l'ensemble des êtres vivants car certains les prélèvent directement dans leur environnement (hétérotrophes) quand d'autres sont capables de les produire eux-mêmes en utilisant l'énergie lumineuse (photoautotrophes) ou l'énergie produite par des réactions inorganiques (chimioautotrophes). D'un point de vue cinétique, les réactions chimiques constituant le métabolisme sont trop lentes pour permettre aux organismes de contrer les transformations spontanées qui les feraient évoluer vers l'équilibre et donc vers la mort. La présence de catalyseurs de ces réactions est donc une condition nécessaire de l'existence du vivant.

Comme nous venons de le voir, un organisme vivant est une entité hors-équilibre au sein duquel se déroule des échanges de matière et d'énergie. Cela implique que cette entité soit délimitée dans l'espace. Dans les organismes terrestres connus, cette frontière se présente sous la forme d'une membrane physique constituée d'une bicouche lipidique. C'est la seconde caractéristique du vivant : le vivant est cellulaire. La plus petite entité dans laquelle la vie est susceptible d'exister est donc la cellule.

A l'intérieur de la cellule, un « ordre » au sens thermodynamique est donc maintenu par le métabolisme. Cependant, certains auteurs ont introduit le concept d'organisation qui traduit l'idée que les éléments constituant la cellule s'ordonnent conformément à une information. Cette information détermine la structure interne de la cellule, la fonction de chaque élément et les relations entre eux. Dans le vivant connu, cette information qu'on nomme code génétique est stockée sous la forme de macromolécules d'acides nucléiques : l'ARN et l'ADN (Fig. 5). Une caractéristique du vivant est que cette information est héritée d'un organisme antérieur et transmise à des descendants. Cependant, la transmission de l'information est imparfaite et laisse apparaître des modifications aléatoires. Cet aspect fondamental est à l'origine du processus d'évolution décrit par Darwin et conduisant à la diversification ou à l'extinction des espèces. Toutes les fonctions de la cellule, y compris l'expression du code génétique, sont quant à elles assurées par des protéines dont la structure est entièrement déterminée par le code génétique (Fig. 5).

### c. Définition du vivant dans le cadre de notre étude

Dans la mesure où notre étude se limite à l'analyse de l'enregistrement fossile terrestre, nous considérerons que le vivant a toujours existé dans des conditions terrestres, c'est-à-dire dans l'eau liquide, en présence de molécules organiques et que les supports de l'information génétique sont des acides nucléiques.

Après avoir repéré les principales caractéristiques du vivant, nous sommes donc en mesure d'en proposer une définition fonctionnelle qui s'inscrive dans le contexte de notre étude : la recherche et l'identification de traces de vie primitives dans l'enregistrement fossile.

Par *être vivant*, nous entendrons donc un système délimité dans l'espace, maintenu hors-équilibre par un métabolisme dont l'énergie provient de molécules organiques et dont l'organisation est déterminée à partir d'une information qui s'hérite et se transmet imparfaitement par l'intermédiaire d'acides nucléiques.

A ce titre, il est donc envisageable d'inclure dans cette définition certaines entités d'un « monde à ARN » dont les acides nucléiques seraient, d'une façon ou d'une autre, confinées dans un espace délimité comme par exemple dans des cavités formées par des matériaux poreux (Smith et al. 1999; Brasier et al. 2011; Dass et al. 2018).

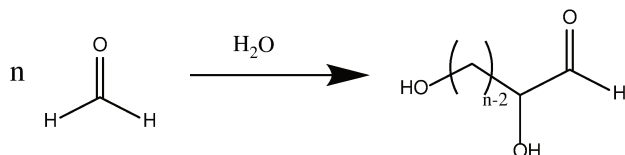
### **3. Monde à ARN et autres modèles d'émergence du vivant : approche *bottom-up***

Le vivant antérieur à LUCA est presque totalement inconnu car l'analyse des séquences d'ADN ou peptidiques du vivant actuel ne permet pas de remonter à des organismes aussi anciens. A l'heure actuelle, les quelques hypothèses concernant cette période de l'histoire de la vie reposent principalement sur des expériences de chimie prébiotique visant à comprendre comment des formes de vie primitives auraient pu se former à partir de molécules organiques simples. Cette approche est également appelée « approche *bottom-up* ». Cette approche cherche à éclairer deux grandes questions sur les origines de la vie : (1) comment se sont formés les monomères constituant le vivant, et (2) comment le vivant émerge-t-il à partir de ces monomères ?

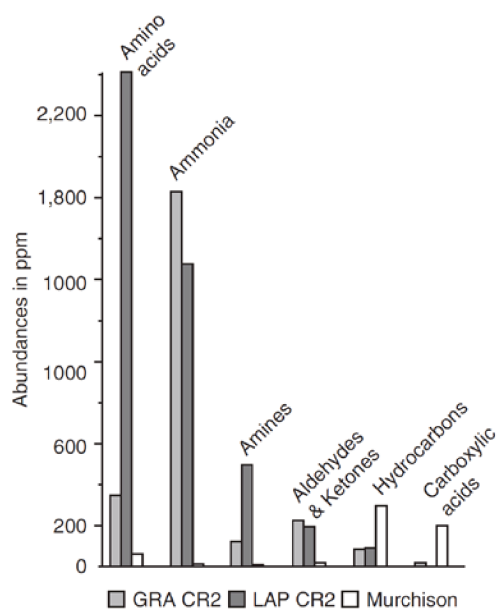
#### a. Synthèse prébiotique de petites molécules organiques

La première théorie sur l'origine des biomonomères et basée sur des résultats expérimentaux date des années 50 et suit les synthèses pionnières d'acides aminés ou de pyrimidines à partir de différents précurseurs notamment  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_3$  et  $\text{H}_2$  (Miller 1953). Le mécanisme de formation de ces molécules azotées implique la formation préliminaire de cyanure d'hydrogène (HCN) (Oró and Kimball 1961) et peut être activée par photolyse en présence d'UV (Sanchez et al. 1967). Les produits de ces réactions (essentiellement des acides aminés) constitueraient

alors une « soupe prébiotique » à partir de laquelle émergerait des biomolécules plus complexes et par la suite le vivant. La conception comme les résultats de ces expériences reposent cependant sur l'hypothèse d'une atmosphère fortement réductrice autour de -4 Ga, ce qui a depuis été remis en cause par d'autres modèles (**Kasting 1993, 2014**), qui privilégient une atmosphère riche en CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> et CO. Concernant les autres biomonomères indispensables à l'émergence du vivant, la formation de sucres et en particulier du ribose constituant l'ARN doit être également considérée. Quant aux sucres, indispensables à l'émergence du vivant, ils constituent des composés relativement oxydés donc impossibles à former dans des milieux fortement réducteurs. De plus, le ribose est instable dans la plupart des conditions prébiotiques envisagées (notamment les hautes températures) ce qui implique l'existence d'un mécanisme de catalyse permettant d'atteindre des rendements suffisants pour permettre la formation de ribonucléosides (**Shapiro 1988**). Des réactions en catalyse basique ou en catalyse hétérogène par des argiles ont ainsi été proposées (**Shapiro 1988**). La plupart des réactions de synthèse prébiotique des sucres se basent sur la réaction dite réaction formose (**Mizuno and Weiss 1974**) :



L'autre principale hypothèse sur l'origine des biomonomères est leur introduction sur Terre via des météorites et en particulier les chondrites carbonées (**Pizzarello and Shock 2010**). Ces météorites qui ont subi peu de dégradations au cours de leur voyage dans le système solaire sont particulièrement riches en divers composés organiques, notamment des petites molécules comme les acides aminés. On y retrouve aussi des amines, des composés carbonylés et des hydrocarbures (Fig. 6). Les comètes ont également



**Figure 6.** Abondance de différents types de composés dans la météorite de Murchison et des météorites CR2 (d'après Pizzarello 2010)

été considérées comme une source probable de biomonomères notamment à la suite d'expériences d'irradiation d'analogues de comètes de glace (**Danger et al. 2012; Meinert et al. 2012**).

Enfin, Wächtershäuser propose une hypothèse originale de formation des biomonomères et de l'émergence du vivant faisant intervenir les systèmes hydrothermaux sous-marins (**Wächtershäuser 1988, 1992**). Ces systèmes sont formés au niveau de zones de fractures desquelles un fluide chaud et très concentré en cations métalliques,  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{S}$  est mis en contact de l'eau de mer. Dans ces systèmes, il a été proposé que la précipitation de la pyrite ( $\text{FeS}_2$ ) produise l'énergie libre nécessaire à la réduction du  $\text{CO}_2$  (**Huber 1997**). De plus, les sulfures métalliques formés présentent des surfaces aux propriétés catalytiques intéressantes qui permettraient d'accumuler localement des biomonomères voire même des biomolécules. Des calculs thermodynamiques ont montré d'autre part que les conditions (de température notamment) de ces systèmes sont très favorables à la formation de la plupart des acides aminés (**Amend 1998**).

Il n'existe donc pour l'instant aucun modèle complet de formation des biomonomères mais plusieurs scénarios distincts qui ne s'excluent pas les uns et les autres et qui ont pu chacun contribuer à rendre disponible des molécules simples à partir desquelles des biomolécules plus complexes ont pu se former (**Orgel 1998; Kitadai and Maruyama 2018**).

#### b. Auto-organisation et émergence du vivant

L'évolution d'un système de biomonomères vers les premières formes du vivant représente un pas considérable et est encore mal comprise. Compte tenu de la façon dont nous avons défini le vivant (I.2), l'émergence du vivant se traduit par : (i) une séparation de l'environnement pour former un système cellulaire thermodynamiquement ouvert et hors-équilibre, (ii) l'apparition d'une organisation interne où chaque constituant possède une fonction déterminée, (iii) la création de structures répliquatives porteuses d'une information héréditaire (**Penzlin 2009**). Dans le vivant connu, les deux derniers points impliquent la présence simultanée de protéines

et d'acides nucléiques. Cependant, les expériences de chimie prébiotique réalisées depuis les années 60 parviennent difficilement à proposer des conditions physico-chimiques communes permettant la synthèse de ces deux types de biomolécules. La question a donc longtemps été de savoir qui, des protéines ou des acides nucléiques émergent en premier. Ceci a conduit à proposer deux types de modèles d'émergence du vivant basés sur des logiques complètement différentes : d'un côté les modèles faisant émerger d'abord le métabolisme (« *protein-first* ») et de l'autre ceux faisant d'abord émerger l'hérédité (« *genetic-first* »).

Les théories *protein-first* reposent sur une formation abiotique des protéines suivie par la mise en place d'un système auto-catalytique permettant de générer une collection de peptides, capables par la suite de catalyser des réactions de formation des nucléosides, des nucléotides et *in fine* des acides nucléiques (Kauffman 1986). Cette idée est soutenue par la possibilité de former en milieu hydrothermal des liaisons peptidiques par catalyse sur des surfaces minérales (Wächtershäuser 1988). Dans ce cas de figure, l'ARN et l'ADN seraient donc issus d'un métabolisme pré-existant.

Dans le cas des théories *genetic first* en revanche, il est supposé que l'ARN ou des équivalents plus simples aient pu se former de manière abiotique. Des expériences ont permis de montrer que des argiles peuvent dans certains cas catalyser de façon abiotique la condensation d'ARN (Ferris 2005). La première étape du vivant constituerait donc dans ce cas en un « monde à ARN » (Orgel 1998; Higgs and Lehman 2015). Cette hypothèse a gagné en considération après la découverte des propriétés auto-catalytiques de l'ARN (Breaker 1997; Pan 1997). Ceci place donc les ribosomes (ARN catalytique) comme l'élément central des premières formes de vie. Les réactions pouvant être catalysées directement par l'ARN sont encore mal identifiées alors que leur connaissance serait fondamentale pour évaluer la portée du « monde à ARN ».

### c. Rôle des minéraux dans l'émergence du vivant

La formation de biomolécules comme l'ARN ou les protéines pose des difficultés cinétiques et thermodynamiques en solution (Lambert 2008; Benner et al. 2012). En effet, les biomolécules

sont présentes dans l'océan à de très fortes dilutions. Leur condensation impliquant l'élimination d'une molécule d'eau est donc très défavorable. Afin de contourner ces difficultés, il a été proposé par Bernal dès 1949 que les surfaces minérales aient pu jouer un rôle déterminant dans la synthèse abiotique de biomolécules et dans l'émergence du vivant (**Bernal 1949**). L'adsorption de molécules organiques sur des surfaces est en effet susceptible de favoriser leur condensation en les concentrant localement et d'intervenir comme des *templates* de polymérisation (**Lambert 2015**). Il a été proposé également que les minéraux permettraient de réduire la photodégradation de la matière organique par les UV (**Lyon et al. 2010; Poch et al. 2015**). Des minéraux présentant d'importantes surfaces spécifiques et très abondants en présence d'eau liquide comme les argiles ont rapidement été identifiés comme des candidats intéressants pour la formation de biomolécules. De nombreuses études expérimentales ou théoriques ont ainsi démontré la possibilité d'adsorber des acides aminés, des protéines et des acides nucléiques sur des argiles, en particulier la montmorillonite et la kaolinite (**Ferris et al. 1989; Franchi et al. 2003; Cai et al. 2008; Hashizume et al. 2010; Carneiro et al. 2011; El Adraa et al. 2012; Feuillie et al. 2013; Pedreira-Segade et al. 2018; de Castro Silva et al. 2020**). Celle-ci rend alors possible des réactions de condensation et de polymérisation pour former des biomolécules comme l'ARN (**Ferris et al. 1996; Ferris 2005, 2006; Joshi et al. 2009; Jheeta and Joshi 2014**). L'adsorption et la condensation a été également largement étudiée sur d'autres silicates et notamment la silice (**Meng et al. 2004; Bouchoucha et al. 2011; Lambert et al. 2013; Rimola et al. 2013**). Afin de rendre réaliste thermodynamiquement la polymérisation de biomolécules sur ce type de surfaces, l'existence de cycles de séchage-réhydratation est nécessaire (**Lahav et al. 1978; Lahav and White 1980; Marshall-Bowman et al. 2010**). Ceci permet la diminution de l'activité de l'eau provoquant, suivant le principe de Le Châtelier, un déplacement d'équilibre dans le sens de la polymérisation qui s'accompagne de la formation de molécules d'eau. Les minéraux poreux permettent également de réaliser un confinement qui est, comme nous l'avons vu (I.2), une condition indispensable à l'existence du vivant. En effet, les microporosités de certains minéraux argileux ou hydrogels de silice pourraient constituer une frontière physique délimitant une entité cellulaire avant l'apparition des membranes

lipidiques (Smith et al. 1999; Brasier et al. 2011; Dass et al. 2018). De cette façon, des entités très primitives comme celles du « monde à ARN » pourraient être considérées comme vivantes selon notre définition (I.2) et ce même en absence de membrane organique.

D'autres types de minéraux présents dans l'océan Hadéen comme les carbonates, les (hydr)oxydes et les sulfures ont également joué des rôles importants dans l'émergence du vivant notamment en ce qui concerne l'apparition des premiers métabolismes (Wächtershäuser 1988) ou la formation énantiosélective des sucres et des acides aminés (Hazen et al. 2001; Barlow and Raval 2003; Meierhenrich 2008).

L'histoire de l'émergence du vivant se décline donc en plusieurs scénarios plutôt incompatibles les uns avec les autres. Face à cette diversité de théories, des modèles récents tentent d'introduire de nouveaux concepts avec comme objectif une certaine continuité entre les différents modèles. Pour certains auteurs, il s'agit alors de considérer les premières formes de vie comme des proto-cellules dans lesquelles un ensemble de processus chimiques tous indissociables se déroulent, formant ainsi ce qu'ils appellent un système chimique (Ludlow and Otto 2008; Ruiz-Mirazo et al. 2014; Kee and Monnard 2017). Ce sont alors les conditions physico-chimiques contraintes par le contexte géologique qui assurent la cohérence entre tous ces processus, d'où la nécessité de collecter des indices dans l'enregistrement géologique.

La reconstitution de l'histoire du vivant est possible par des constructions phylogénétiques jusqu'à LUCA mais les organismes vivants plus anciens sont pour l'heure totalement inconnus. Des hypothèses issues d'expériences de chimie de prébiotique permettent de construire des scénarios comme celle d'un « monde à ARN » qui aurait pu constituer les premières formes de vie sur Terre. Toutefois, il n'existe encore aucune preuve de cela dans l'enregistrement fossile ancien notamment car ce dernier est particulièrement difficile à décoder.



## II. Difficultés de lecture de l'enregistrement fossile ancien

*« Je ne veux pas rester brouillé avec Monsieur de Buffon pour des coquilles »*

Voltaire

Les controverses autour des fossiles ne datent pas d'hier comme en témoigne cette phrase de Voltaire à Buffon à propos de fossiles retrouvées dans des montagnes. L'origine de ces objets ainsi que les processus conduisant à leur préservation ont toujours suscité de nombreuses questions. Concernant l'Archéen précoce (-4 à -3,6 Ga), strictement aucune trace de vie supposée ne fait à l'heure actuelle consensus. Dans le but d'améliorer notre lecture de l'enregistrement fossile ancien, il est indispensable d'identifier les éléments à l'origine de ces controverses et les arguments utilisés par les paléontologues pour discuter de l'origine biologique de ces objets. Après avoir rappelé quelques éléments de chronologie des débuts de l'histoire de la Terre, nous avons donc choisi de présenter deux controverses célèbres qui apparaissent aujourd'hui comme des cas d'école de la paléontologie de l'Archéen.

### 1. La Terre à l'Hadéen et à l'Archéen

L'étude des premières traces de vie sur Terre nous conduit à établir une chronologie de l'habitabilité de la Terre, basée sur notre connaissance (très partielle) des conditions géochimiques aux débuts de l'histoire de la Terre. Ceci doit nous permettre de situer la période concernée par la recherche des plus anciennes traces de vie fossile et d'en donner brièvement le contexte géologique.

### a. Formation de la Terre

La Terre se forme par accrétion il y a environ 4,54 Ga à 150 millions de km du Soleil (soit 1 UA) (**Dalrymple and Brent 1991**). Environ 30 millions d'années plus tard, la Lune est formée par collision entre la proto-Terre et un planétésimal de la taille de Mars : Théia (**Barboni et al. 2017**). A ce stade, la Terre est entièrement recouverte d'un océan de magma, dont la solidification conduit à la formation d'une planète différenciée vers -4,4 Ga, ainsi qu'à l'atmosphère primitive par dégazage.

### b. L'Hadéen



**Figure 7.** Vue d'artiste de la Terre à l'Hadéen. D'après Simone Marchi et Dan Durda (SwRI)

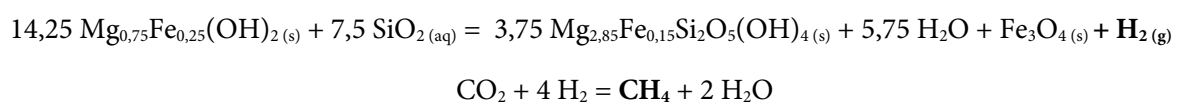
L'Hadéen est la première période de l'histoire de la Terre et s'étend de sa formation à -4,54 Ga jusqu'à -4,02 Ga (**Harrison 2020**). Son nom fait référence au dieu grec des enfers : *Hadès*. Sa chronologie fait apparaître deux périodes : la première correspondant au refroidissement de

l'océan de magma et à la différenciation de la Terre jusqu'à -4,4 Ga durant laquelle aucune forme de vie n'est possible (**Bengston 1994**), puis la seconde jusqu'à -4,02 Ga marquée par la condensation de l'eau liquide et la formation d'un océan, la formation de roches hydratées et le début d'une tectonique des plaques (**Mojzsis et al. 2001**). Cette chronologie s'appuie sur l'analyse des très rares minéraux Hadéens connus à ce jour, notamment les zircons australiens de Jack-Hills datés à -4,4 Ga (**Wilde et al. 2001; Harrison 2009**).

Durant la période allant de -4,4 Ga à -4,0 Ga, la croûte primitive serait en partie mafique c'est-à-dire composée de gabbros riches en fer et en magnésium (**Kemp et al. 2015; Reimink et al. 2016**) et en partie composée de roches granitoïdes et de TTG (tonalite-trondhjemite-

granodiorite) (Mojzsis et al. 2001; Cavosie et al. 2019; Carlson et al. 2019). Parmi les principales phases d'altération susceptibles d'être retrouvées dans l'océan Hadéen, on retrouve donc des aluminosilicates alumineux et ferro-magnésiens, des sulfures/sulfates de fer et des oxydes de fer (Hazen et al. 2013; Schoonen and Smirnov 2016). L'atmosphère primitive contient principalement du CO<sub>2</sub> et du N<sub>2</sub> et présente donc des propriétés légèrement oxydantes (Kasting 1993, 2014). La forte pression partielle en CO<sub>2</sub> à cette période implique un océan acide permettant une importante dissolution des composés riches en fer et donc une concentration élevée en fer dissous. Cette présence importante de CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère Hadéenne explique également le maintien de l'eau liquide en produisant un important effet de serre, et ce alors que le soleil à l'Hadéen est environ 30% moins brillant qu'aujourd'hui (paradoxe du soleil jeune) (Sleep et al. 2001).

La condensation d'eau liquide à cette période contribue à amener la question de l'habitabilité de la Terre Hadéenne. D'un point de vue géologique, les conditions semblent réunies pour l'émergence du vivant dès -4,4 Ga (Sleep 2010; Santosh et al. 2017). En effet, la croûte primitive de cette époque présente une importante diversité minéralogique et les océans un volume environ 2 fois supérieur à celui d'aujourd'hui, ce qui permet donc une très grande surface d'interaction avec la croûte. L'existence des systèmes hydrothermaux sous-marins (fumeurs noirs, fumeurs blancs et volcans de boue) permet d'envisager des réactions impliquant des molécules organiques et favorisées par d'importants flux d'énergie, de gradients de concentration et de température et la présence de surfaces catalytiques très diverses. Par exemple, les processus de serpentinitisation à l'interface eau-minéral reposant sur l'oxydation du Fe(II) (très présent dans la croûte Hadéenne) en Fe(III) libère d'importante quantité de dihydrogène permettant la réduction du CO<sub>2</sub> ou du CO en CH<sub>4</sub> et *in fine* à la production abiotique de composés organiques (Russell 2007; Kasting 2014) :



Par ailleurs, il est vraisemblable qu'une partie des briques élémentaires du vivant aient été amenées lors des divers bombardements météoritiques. En effet, l'analyse de chondrites carbonées ou de comètes actuelles a mis en évidence la présence d'acides aminés (**Kvenvolden 1970; Elsila et al. 2016**), de bases azotées (**Stoks and Schwartz 1979; Callahan et al. 2011**) et de phosphore (**Pasek et al. 2015; Altwegg et al. 2016**) dans des objets d'origine extraterrestre. Enfin, il a été montré que la présence de phases d'altération comme les phyllosilicates a été susceptible de favoriser par adsorption de molécules organiques, la condensation et la polymérisation de biomolécules (notamment l'ARN) (**Ferris et al. 1996; Ferris 2005**) et de les protéger de l'irradiation (**Lyon et al. 2010**).

Ces éléments laissent donc penser que la chimie prébiotique commence dès l'Hadéen à partir de -4,4 Ga (**Sleep et al. 2001; Santosh et al. 2017**). Malheureusement, la croûte Hadéenne est intégralement renouvelée à la fin de l'Hadéen, vraisemblablement par des bombardements météoritiques tardifs (**Marchi et al. 2014**). D'ailleurs, il a été envisagé que de tels bombardements aient été suffisamment puissants pour évaporer l'océan à plusieurs reprises jusqu'à -3,8 Ga et ainsi stériliser la Terre. Pour cette raison, il est en réalité assez peu probable que la Terre ait été habitable de façon continue avant -4,0 Ga (**Nisbet and Sleep 2001**). Les témoins de cette période sont donc extrêmement rares et se limitent à quelques zircons retrouvés en Australie, au Groënland ou au Canada (**Harrison 2009**). Dans le contexte de l'étude des premières traces de vie sur Terre, ce constat est problématique car il implique que les théories concernant les formes de vie Hadéennes les plus anciennes peuvent difficilement s'appuyer sur des traces fossiles terrestres et sont donc, pour le moment, essentiellement spéculatives.

## c. L'Archéen

Le début de l'Archéen, du grec *Arkhè* (l'origine), est fixé par convention à l'âge des plus anciennes roches terrestres entières connues. A ce jour, il s'agit des gneiss d'Acasta dans le nord-ouest du Canada datés à -4,03 Ga (**Stern and Bleeker 1998; Bowring and Williams**



**Figure 8.** Vue d'artiste de la Terre à l'Archéen. D'après Peter Sawyer (Smithsonian Institution)

**1999**). D'autres roches comme celles de la ceinture verte de Nuvvuagittuq ont pu être envisagées comme encore plus anciennes mais leur datation ne fait pas consensus (**David et al. 2006; O'Neil et al. 2008, 2012**). Cette période, couvrant 45% de l'histoire totale de la Terre, est caractérisée par un régime tectonique particulier, différent du régime actuel et non encore élucidé à ce jour. La mise en place du régime tectonique actuel marque la fin de l'Archéen à 2,5 Ga (**Nisbet 1987**). Il existe de nos jours quelques formations géologiques permettant d'accéder à des roches archéennes mais elles sont peu nombreuses et souvent assez perturbées (Fig. 9). Les deux formations les mieux préservées à ce jour sont celles de Pilbara Craton en Australie occidentale (**Orberger et al. 2006; Sugitani et al. 2007**) et celles de la Barberton Greenstone Belt en Afrique du sud (**Walsh and Lowe 1985; Westall et al. 2001**).

L'atmosphère au début de l'Archéen est essentiellement la même qu'à l'Hadéen et présente une forte pression partielle en CO<sub>2</sub> (**Kasting 1993, 2014; Lowe and Tice 2004**). L'océan occupe une très grande majorité de la surface terrestre et le volcanisme est intense. Bien que la vie ait pu, comme nous l'avons vu, apparaître dès l'Hadéen, l'Archéen est marqué par la présence attestée de formes de vie (**Wacey et al. 2012; Sugitani et al. 2013; Alleon et al. 2018**). Le registre fossile terrestre le plus ancien date donc de cette période. On y retrouve essentiellement deux types de traces de vie fossiles : des microfossiles organiques et des stromatolithes, qui sont des structures biominérales essentiellement composées de carbonates (**Awramik and Grey 2005; Schopf et al. 2007**).



Figure 9. Carte des roches archéennes terrestres accessibles

Au début de l'Archéen (de -4 à -3,6 Ga), très peu d'indices d'une présence de vie ont été retrouvés et aucun d'entre eux ne fait consensus à l'heure actuelle (Nutman et al. 1997; Rosing 1999; Schidlowski 2001; Bell et al. 2015; Dodd et al. 2017; Tashiro et al. 2017; Hassenkam and Rosing 2017; Allwood et al. 2018). La controverse la plus emblématique est celle des 'fossiles chimiques' de 3,8 Ga décrits dans les roches d'Isua (voir II.2).

A partir de l'Archéen moyen (-3,6 à -3,3 Ga), de nombreuses traces de vie supposées ont été rapportées et discutées (Lowe 1980; Walter et al. 1980; Schopf and Packer 1987; Buick 1990; Sugitani et al. 2013; Brasier et al. 2015; Kremer and Kaźmierczak 2017; Delarue et al. 2017). Loin de faire consensus pour autant, certains de ces auteurs ont soutenu que les preuves de l'origine biologique de ces objets n'étaient pas suffisantes pour affirmer qu'il s'agissait de traces de vie fossiles. C'est aussi le cas de plusieurs stromatolithes dont les stromatolithes du groupe Warrawoona (-3,5 Ga, Pilbara Block, Australie) et de la Barberton Greenstone Belt (Afrique du Sud) pour lesquels des scénarios de formation abiotiques, c'est-à-dire sans intervention du vivant, ont été proposés (Lowe 1994; Grotzinger and Rothman 1996). Concernant les microfossiles, plusieurs structures carbonées de forme sphérique ou filamenteuse ont été retrouvées dans des roches de cette période. Certaines de ces découvertes ont fait l'objet de vives controverses, notamment les microfossiles des cherts de l'Apex (-3,5 Ga, Australie), dont nous reparlerons au II.3.



## 2. Les roches d'Isua-Akilia (3,7 Ga)

La ceinture de roches vertes d'Isua, au sud-ouest du Groenland (Fig. 10), est datée de l'Archéen (vers -3,8 Ga) ce qui les place parmi les plus anciennes roches terrestres. L'analyse de ces roches à partir des années 70 a montré qu'elles contenaient des inclusions riches en carbone, à propos desquels de nombreuses interprétations contradictoires ont été proposées.

En 1979, Pflug et al. observent dans ces roches des structures carbonées qu'ils interprètent comme des fossiles (Pflug and Jaeschke-Boyer 1979). Leur approche consiste à combiner l'étude

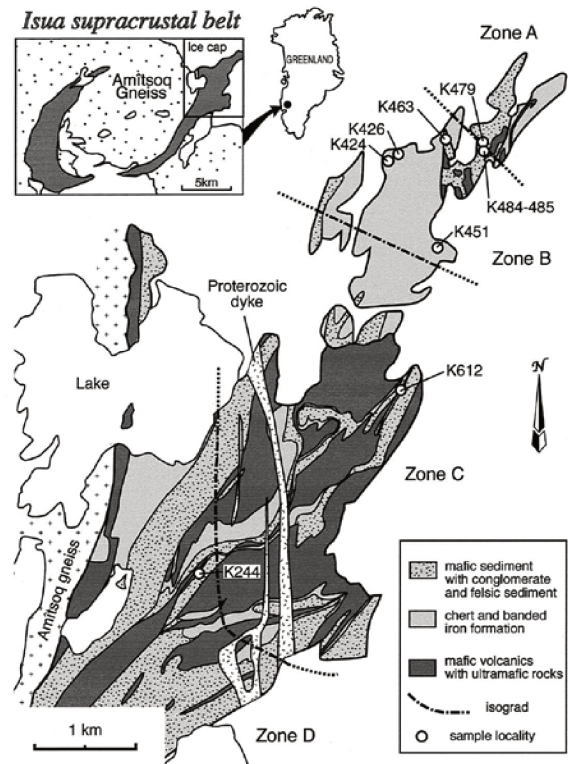


Figure 10. Carte géologique des roches archéennes d'Isua

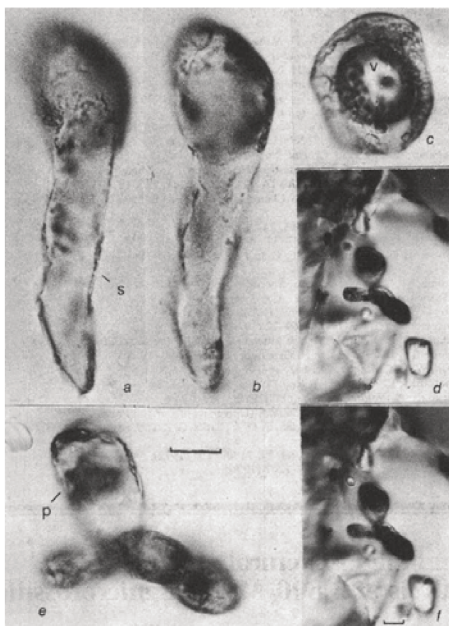


Figure 11. Fossiles *Isuasphaera Isua* d'après Pflug 1979

amènent à conclure que ces structures sont des fossiles de levures (qu'ils baptisent *Isuasphaera Isua*) pour certains sous forme individuelle, d'autres sous formes de films ou encore en division cellulaire (Fig. 11). Outre l'argument de la morphologie, l'identification de fonctions ester par spectroscopie Raman est selon les auteurs un argument supplémentaire pour affirmer la biogénicité de ces objets. Ces travaux sont rapidement remis en cause et d'autres modèles de formation de ces structures sont proposés, faisant intervenir des circulations de fluides au contact de minéraux riches en fer (Roedder 1981).

La controverse aurait pu en rester là mais certains auteurs amènent un nouvel élément important dans le débat : le carbone présent dans des échantillons d'Isua est appauvri en  $^{13}\text{C}$ , ce qui est selon eux une caractéristique du vivant (Oehler and Smith 1977; Schidlowski 1988). Cet argument repose sur le fait que les processus biologiques favorisent l'utilisation et l'assimilation du  $^{12}\text{C}$ , notamment pour des raisons cinétiques car les réactions de chimie organique sont légèrement plus rapides avec des isotopes légers (Carey and Sundberg 2007). La matière organique issue du vivant est donc enrichie en  $^{12}\text{C}$  par rapport à la source de carbone utilisée. Les enrichissements ou appauvrissements isotopiques sont exprimés par convention en *partie par milliers* de la façon suivante :

$$\delta^{13}\text{C} = \left( \frac{\left( \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{échantillon}} - \left( \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{standard}}}{\left( \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{standard}}} \right) \cdot 1000 \quad (1)$$

Dans le cas des analyses des roches d'Isua, les  $\delta^{13}\text{C}$  trouvés correspondent bien à des valeurs typiques de la matière vivante et constituent ainsi un argument qui peut sembler très convaincant (Mojzsis et al. 1996) (Fig. 12). Cet argument repose également sur l'hypothèse que les rapports isotopiques changent peu au cours de l'histoire géologique de la roche.

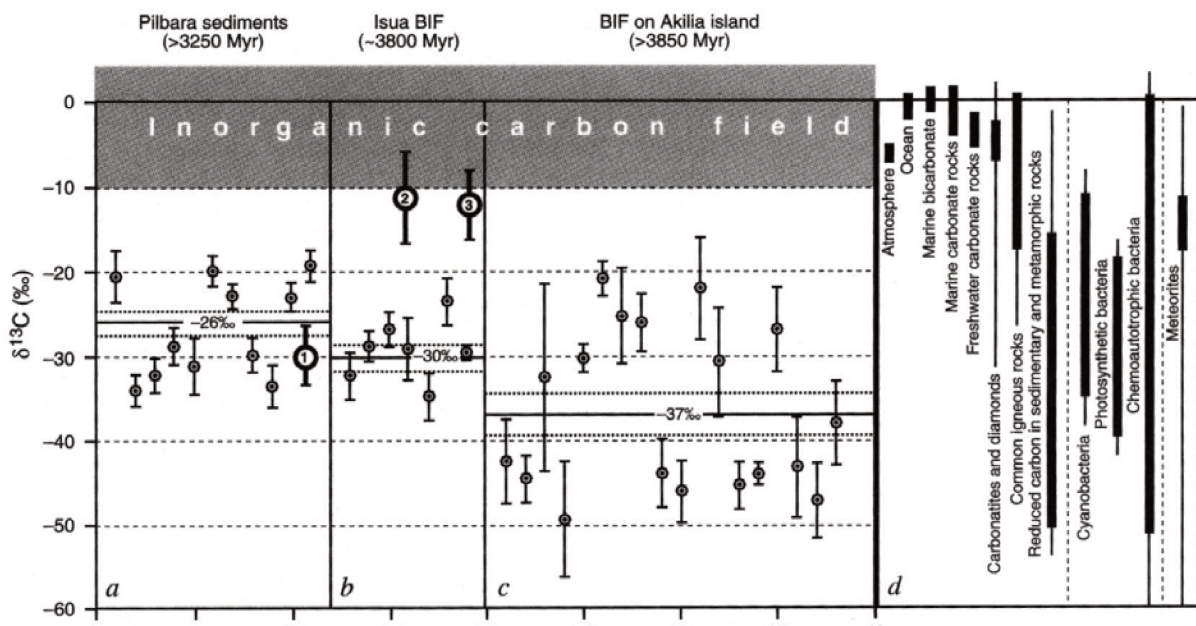
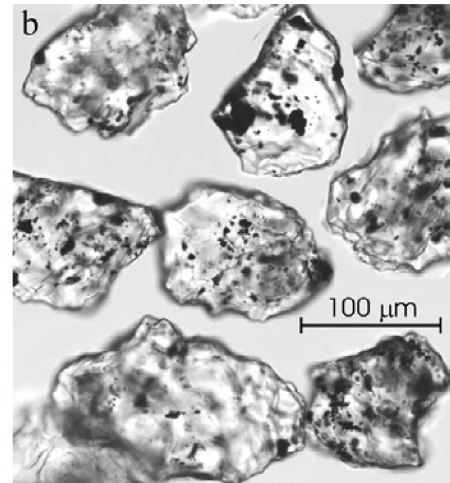


Figure 12. Répartition des  $\delta^{13}\text{C}$  de différentes roches d'Isua (d'après Mojzsis, 1996)



Au cours des années 90, certains auteurs ont tiré sur la base de ces données des conclusions majeures sur l'existence d'organismes planctoniques photosynthétiques à -3,8 Ga (**Rosing 1999**) ou sur l'établissement d'un cycle du carbone contrôlé par la biosphère au début de l'Archéen (**Schidlowski 2001**).

La controverse est relancée au début des années 2000 avec la publication d'un scénario alternatif, déjà évoqué dès 1977 (**Perry and Ahmad 1977**), expliquant la formation



**Figure 13.** Inclusions de carbone dans des apatites

totale abiotique d'un graphite appauvri en  $^{13}\text{C}$  (**van Zuilen et al. 2002**). L'idée avancée par van Zuilen est que ces roches ne sont pas sédimentaires mais métasomatiques car le graphite pourrait avoir été formé ailleurs par interaction entre des roches crustales riches en fer et des fluides hydrothermaux. Les veines de carbonate retrouvées dans les roches d'Isua l'amène à proposer la dismutation de la sidérite (un carbonate de Fer(II)) comme le processus à l'origine de la formation du graphite :



L'équilibre de fractionnement isotopique qui en découle conduit à la formation d'un graphite dont le  $\delta^{13}\text{C}$  serait compatible avec les roches d'Isua. Enfin, des analyses en microscopie électronique ont montré que les échantillons présentaient une contamination récente par des micro-organismes susceptible de fausser les mesures de rapport isotopiques effectuées sur roche entière (**Westall and Folk 2003**).

Dans le cas des roches d'Akilia, un argument supplémentaire utilisé pour justifier l'origine biologique des graphites retrouvés dans ces roches est leur inclusion dans des apatites (phosphates de calcium) (**Mojzsis et al. 1996**) formant alors des assemblages caractéristiques du vivant car pouvant être biominéralisés par réaction avec des acides nucléiques (ARN, ADN) (**Mojzsis and Krishnamurthy 1999**). Mais l'argument considérant la présence d'associations graphite-apatite comme une biosignature est finalement remis en cause par un dosage des terres

rare dans les apatites (**Lepland et al. 2002**) et des analyses en microscopie électronique de coupes de ces inclusions (**Papineau et al. 2010**) démontrant que graphite et apatite n'ont pas été formés simultanément.

Toutes ces études contradictoires amènent donc à la plus grande prudence dans l'interprétation des supposés fossiles d'Isua. Cela dit, le débat est loin d'être clos et des études récentes sur de nouveaux échantillons d'Isua sont publiées et souvent écrites par les mêmes auteurs que dans les années 90. Des carbonates récemment découverts dans des roches d'Isua ont ainsi été interprétés comme les plus anciens stromatolithes jamais découverts (**Nutman et al. 2016**). Là encore, des processus abiotiques ont été proposés pour expliquer leur formation (**Allwood et al. 2018**).

Ces controverses à rebondissements autour des roches d'Isua nous éclairent sur la pertinence de certains arguments habituellement utilisés pour affirmer la biogénicité des fossiles et sur les dangers d'une interprétation trop hâtive. Dans ce cas, l'analyse de la morphologie, de certaines signatures chimiques ou isotopiques ainsi que la recherche d'assemblages caractéristiques n'ont pas suffi à démontrer de manière convaincante l'existence de traces de vie à -3,8 Ga.

### **3. Les cherts de l'Apex (3,46 Ga)**

Si l'on doit retenir une controverse emblématique ayant particulièrement marquée la paléontologie de l'Archéen de ces dernières années, ce serait celle concernant les cherts de l'Apex. Ces roches archéennes datées à -3,46 Ga ont été retrouvées en Australie (Pilbara Craton, groupe Warrawoona) (Fig. 14) dans les années 80 et ont rapidement attiré l'attention des paléontologues car des structures carbonées filamenteuses y ont été rapportées (**Awramik et al. 1983**). Ces structures sont rapidement interprétées par leurs découvreurs comme des fossiles de bactéries et constitueraient donc les plus anciennes preuves de vie sur Terre (**Schopf and Packer 1987**). Ces 'microfossiles' se présentent sous forme de filaments ou de microsphères et constituent, selon les auteurs, 7 espèces différentes de procaryotes Archéens fossiles. L'analyse

de leur morphologie conduit rapidement les auteurs à conclure qu'il s'agit de cyanobactéries photosynthétiques (Schopf 1993). Cette découverte devient rapidement très populaire et il faut attendre le début des années 2000 avant qu'elle ne soit remise en question et que démarre une controverse tournant même à la polémique.

En 2002, l'équipe de Brasier conteste l'origine sédimentaire de ces roches par l'analyse de nouveaux échantillons de l'Apex (Brasier et al. 2002). Des structures composées de minéraux caractéristiques de veines hydrothermales sont ainsi rapportées et il est démontré que celles-ci avaient été omises par Schopf dans ses articles originaux. Sur la base d'arguments morphologiques et spectroscopiques, Brasier montre que le carbone présent dans les roches de l'Apex ne serait finalement pas d'origine biologique mais formé par des processus

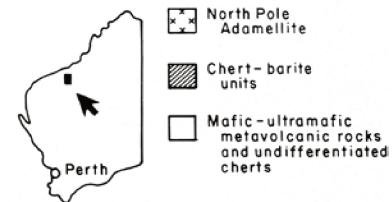
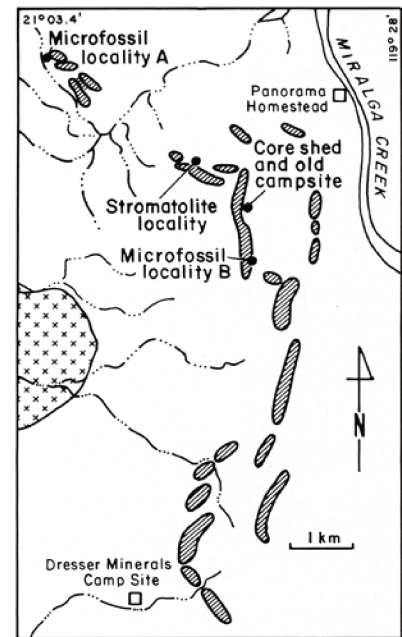
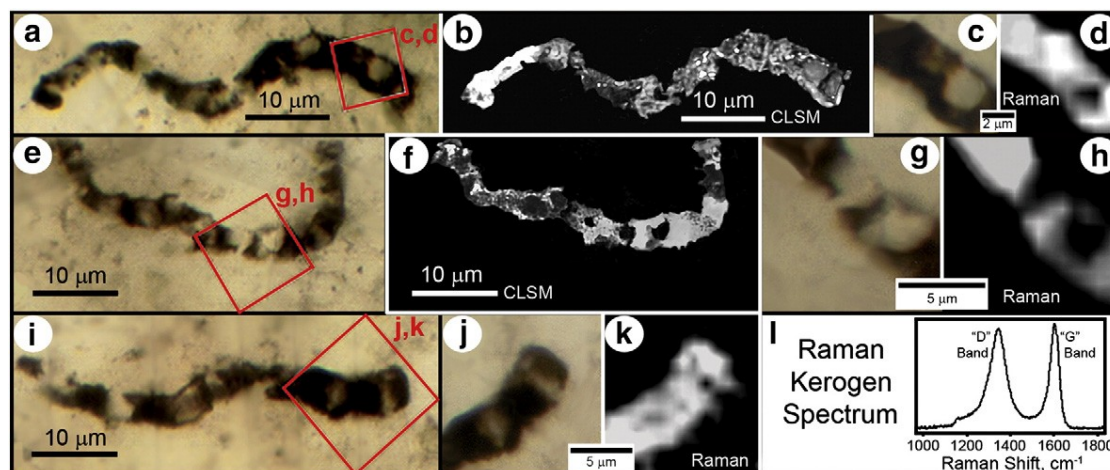


Figure 14. Localisation des cherts de l'Apex

hydrothermaux abiotiques. Les analyses isotopiques menées en 2001 sur ces structures avaient pourtant conduit à des  $\delta^{13}\text{C}$  compatibles avec une origine biologique (Ueno et al. 2001) mais peu de temps après, des études expérimentales ont montré que ces signatures isotopiques seraient également tout à fait compatibles avec un scénario hydrothermal car des réactions de Fischer-Tropsch, fréquentes en milieu hydrothermal, mènent à des fractionnement isotopiques similaires à la matière biologique (Horita 1999; Mccollom and Seewald 2006). Enfin, l'argument le plus important concernant la morphologie des structures est remis en cause par des études expérimentales montrant qu'il est possible de réaliser en conditions hydrothermales des structures silicatées aux morphologies tout à fait similaires par des procédés de synthèse totalement abiotiques en utilisant des gels de silice et des sels de baryum (García Ruiz et al. 2002; Eiblmeier et al. 2013). Face à ces nombreuses remises en question, les auteurs ayant initialement affirmé le caractère biologique des roches de l'Apex publient une succession de réponses mettant en avant des données obtenues par microscopie Raman confocale et



**Figure 15.** (a)-(k) Micrographes de microfossiles de l'Apex (i) Spectre Raman des structures carbonées, d'après Schopf, 2012

soutenant que la matière organique observée est un kérogène d'origine biologique (Schopf et al. 2002, 2007; Schopf 2006). Cette interprétation est rapidement contestée car la spectroscopie Raman donne des informations sur la structure de la matière carbonée mais pas sur sa fonctionnalisation chimique, ce qui apparaît à certains auteurs comme insuffisant pour affirmer la biogénicité d'un 'microfossile' à l'aide de cette seule technique (Pasteris and Wopenka 2003). D'autres techniques d'analyse chimique de la matière organique ont par la suite été employées pour tenter d'apporter de nouveaux indices. La spectroscopie RMN solide à l'angle magique (MAS) du  $^{13}\text{C}$  et la chromatographie en phase vapeur à pyrolyse (Pyro-GC) sur des kérogènes isolés de roches de l'Apex ont mis en évidence une présence inattendue d'hydrocarbures aliphatiques possédant majoritairement des chaînes à nombre de carbone impair, ce qui conduit plutôt à une origine biologique selon les auteurs (Derenne et al. 2008). Des analyses de la matière organique résolues spatialement par spectroscopie de perte d'énergie électronique (EELS) ont également été menées sans vraiment parvenir à une conclusion définitive, la difficulté étant toujours qu'il existe des processus abiotiques permettant d'expliquer les signatures observées (De Gregorio and Sharp 2006).

En 2012, un article regroupant l'essentiel des arguments justifiant la biogénicité des 'fossiles' de l'Apex est publié par Schopf et Kudryavtsev qui prétendent alors avoir définitivement « résolu la controverse » (Schopf and Kudryavtsev 2012). La réaction à cette publication est vive et conduit à de nouvelles analyses résolues spatialement et utilisant les outils de microscopie les plus récents (Brasier et al. 2015; Wacey et al. 2016). Celles-ci démontrent que les 'fossiles' de

l'Apex sont en fait des structures globalement très pauvres en carbone et composées essentiellement de phyllosilicates et donc d'une nature très différente de celle envisagée par Schopf.

Encore aujourd'hui, ce débat reste ouvert et marque encore profondément la communauté actuelle des paléontologues de l'Archéen. Il nous fait réaliser combien il est difficile de déterminer l'origine biologique ou abiotique de microstructures organiques. De la même façon que pour les roches d'Isua, la description morphologique et l'analyse isotopique se sont révélées insuffisantes dans la pratique. Il est intéressant de remarquer que les principales avancées dans ce débat ont été réalisées grâce à des études spectroscopiques résolues spatialement (MET) et grâce à des études expérimentales permettant de mieux identifier les potentiels processus abiotiques (précipitation de carbone hydrothermal, fractionnement isotopique, morphologies particulières...).

Les nombreuses controverses concernant l'enregistrement fossile ancien illustrent les nombreuses difficultés à reconnaître des biosignatures. La connaissance des processus de fossilisation à l'œuvre au cours de la diagénèse est donc indispensable afin de savoir quel type d'information il faut rechercher.

### III. Fossilisation et critères d'identification des biosignatures

*« La mort n'est que la dernière nuance de la vie »*

Buffon

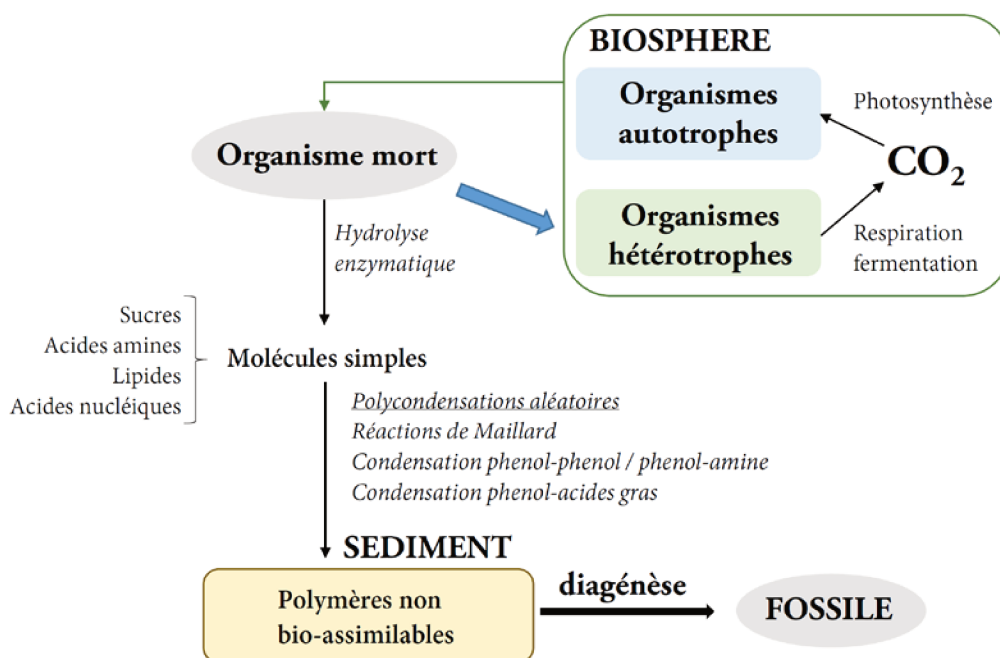
Les recherches de fossiles d'organismes ayant vécu à une période proche des origines de la vie autour de -4 Ga n'ont pour l'instant pas permis d'identifier des traces indiscutables de biosphère à cette époque. Dans tous les cas, il paraît évident que des traces d'une époque aussi lointaine seront difficiles à interpréter car les rares roches Archéennes terrestres ont subi 4 milliards d'années d'une histoire géologique complexe et mal connue. Il est donc raisonnable de penser que ces traces de vie primitive, si elles existent, présentent des caractéristiques qui les éloignent fortement des organismes dont elles sont issues. La question pratique centrale de la paléontologie de l'Archéen est donc : que doit-on chercher ? Et en supposant que nous ayons d'authentiques fossiles sous nos yeux, comment les reconnaître ? Pour avancer sur ces questions, il est nécessaire de connaître les processus de dégradation et de vieillissement de la matière vivante en contexte géologique. Ceci nous aide à prédire quelles informations sont susceptibles d'être préservées ou perdues au cours des temps géologiques, et donc de parvenir jusqu'à nous. La connaissance de ces indices peut alors nous permettre de mettre en place les stratégies analytiques adaptées pour décoder l'enregistrement fossile.

#### 1. Processus de fossilisation de la matière vivante

Lorsqu'un organisme meurt, celui-ci est rapidement dégradé par d'autres organismes et/ou incorporé dans les couches de sédiments superficielles. Selon le contexte géologique, la matière morte s'enfouit alors progressivement dans des couches plus profondes où elle peut rencontrer des conditions de plus haute température et de plus haute pression (**Henrichs 1993**).

## a. Biodégradation

La plupart des organismes morts servent de source de matière organique réduite à des organismes hétérotrophes présents dans la colonne d'eau. Cette matière organique est alors oxydée en  $\text{CO}_2$  par respiration ou fermentation et est ainsi intégrée au cycle du carbone (Fig. 16). Une faible fraction comprise entre 0,1 et 1% de la source totale de biomasse issue de la mort des organismes parvient toutefois à se soustraire au cycle du carbone et s'incorporer au sédiment (Vandenbroucke and Largeau 2007). Ce léger déficit s'explique principalement par la formation de polymères non-assimilables par les organismes. Ces macromolécules sont formées par des polycondensations aléatoire de monomères (sucres, acides aminés, nucléotides, acides gras) issus de l'hydrolyse enzymatique de biomolécules (protéines, ARN, lipides...) (Huc 1980). Ces polycondensations font intervenir des séquences réactionnelles impliquant principalement des réactions de Maillard et des condensations phénol-phénol, phénol-amines et phénol-acides gras (Huc 1980). La différence de réactivité entre les différents types de biomolécules implique que la matière organique résultant de ces processus peut contenir des composés ayant peu évolué par rapport à leur structure initiale (comme c'est le cas pour les



**Figure 16.** Représentation schématique de l'assimilation des organismes morts dans le sédiment conduisant par la suite à la formation des fossiles

lipides) ou au contraire qui ont été fortement modifiés (comme les sucres et les acides nucléiques).

Cette fraction organique, que l'on pourrait qualifier de proto-kérogène ou humine, est donc la seule à pouvoir être par la suite préservée dans des roches sédimentaires et constituer un éventuel enregistrement fossile. Nous ferons l'hypothèse que ces considérations essentiellement basées sur l'observation du cycle du carbone actuel sont valables à l'Archéen dès lors qu'il existe des métabolismes hétérotrophes.

#### b. Diagenèse, catagenèse et métagenèse

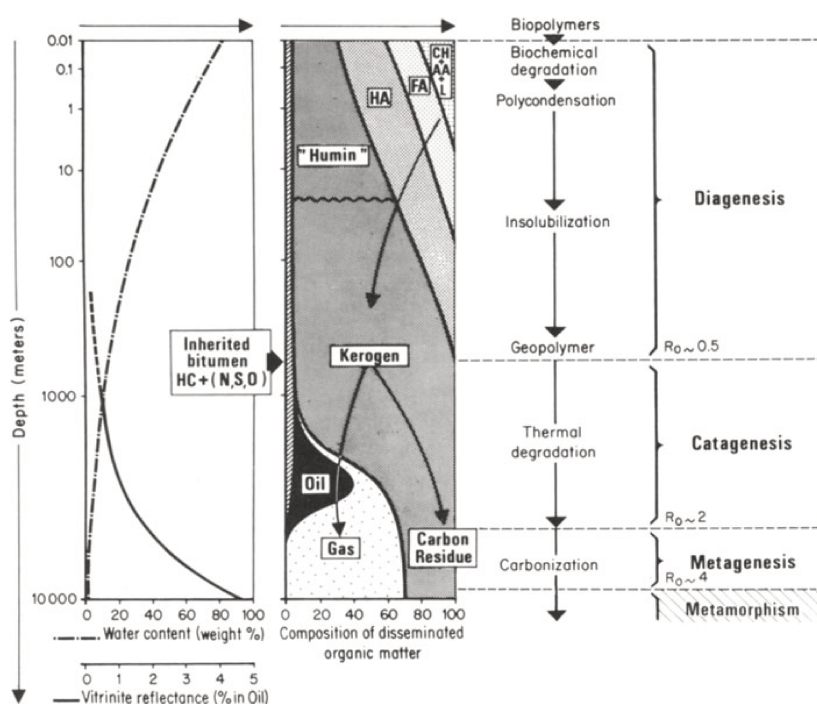
Au cours de l'enfouissement, la température et la pression augmentent avec la profondeur ce qui a pour effet d'activer progressivement des réactions de dégradation thermique de la matière organique (**Vandenbroucke and Largeau 2007**). Au début de la diagenèse, les sédiments sont encore très hydratés et contiennent une très grande diversité de composés organiques. Les processus de dégradation sont encore à ce stade contrôlés majoritairement par le vivant. A partir de cette étape, on peut voir la fossilisation comme une transformation qui, à partir d'un état complexe et multiphasique et donc très hors-équilibre, amène les roches sédimentaires vers un état d'équilibre thermodynamique vis-à-vis des processus de dégradation sous l'effet de la température et de la pression (**Tissot 2012**). Cette étape se caractérise par une libération de  $\text{CH}_4$  et de  $\text{H}_2$  provoquant une diminution du rapport H/C moyen, d'une dénitrification par libération de  $\text{N}_2$  et  $\text{NO}_2$ , d'une réduction du Fe(III) en Fe(II) et d'une réduction de sulfates en sulfures (**Henrichs 1993**).

L'étape suivante intervient à des profondeurs plus élevées lorsque la température atteint  $150^\circ\text{C}$  et la pression est de plusieurs centaines de bars. A ce stade, le sédiment se déshydrate et les pores des minéraux en présence diminuent en nombre et en taille. Cette étape est marquée par l'augmentation importante de l'insaturation des hydrocarbures par formation de double-liaisons ou de cycles, ce qui a pour effet de diminuer encore significativement le rapport H/C et d'aboutir à la disparition totale des alcanes. La matière organique est ici sous forme d'une huile



légère (c'est-à-dire composée de polymères de faible degré de polymérisation) (Vandenbroucke and Largeau 2007).

La dernière étape intervenant à des profondeurs et donc des températures et pressions encore plus élevées est la métagenèse. Cette étape libère d'importantes quantités de gaz ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ) et aboutit à la formation d'un résidu solide constitué de plans de graphènes, formant un précurseur amorphe de graphite. Du graphite cristallin peut être formé par des étapes ultérieures de métamorphisme (Tissot 2012).



**Figure 17.** Résumé des différentes transformations liées à l'enfouissement et conduisant à la formation de kérogène. (D'après Tissot, 2012)

### c. Influence des minéraux sur la fossilisation

La nature des minéraux présents dans le sédiment dans lequel la matière organique est incorporée semble avoir une influence déterminante sur son évolution et sa fossilisation.

Concernant les fossiles Archéens, la très grande majorité d'entre eux ont été retrouvés dans des cherts, c'est-à-dire des roches constituées presque exclusivement de silice (Schopf 1993; Ueno et al. 2001; Wacey et al. 2012; Lepot et al. 2013). Il est courant de voir la silice comme une

matrice favorable à la préservation exceptionnelle des morphologies d'organismes, et notamment des tissus non-minéralisés (Leo and Barghoorn 1976; Butterfield 2003). L'analyse des signatures moléculaires de structures organiques fossilisées dans la silice suggère également que la dégradation de la matière organique pourrait être atténuée en présence de silice grâce à la formation d'assemblages minéral/matière organique (De Gregorio and Sharp 2006; Alleon et al. 2016a, b). Cet effet a été démontré en particulier pour les amides, très présents dans la matière biologique (notamment les protéines) (Alleon et al. 2016b).

Les aluminosilicates sont eux-aussi souvent impliqués dans la préservation de structures organiques fines, en général sous forme d'assemblages aluminosilicates/matière organique (Butterfield et al. 1988; Butterfield 1990; Orr 1998; Wacey et al. 2015). On les retrouve dans des formations de type *Burgess-shale* qui font partie des cas usuels de préservation exceptionnelle (Butterfield 2003). Ces assemblages peuvent se former durant la diagénèse précoce notamment grâce au fait que la précipitation des aluminosilicates est favorisée dans les substances polymériques extracellulaires (EPS) (Konhauser and Urrutia 1999). La formation de ces assemblages est alors susceptible de jouer un rôle majeur dans la préservation de structures organiques (Zhang and Briggs 2007). *A contrario*, lorsque la matière organique entre en contact beaucoup plus tardivement (lors de la diagénèse ou du métamorphisme) avec des aluminosilicates, l'effet des minéraux sur la préservation semble beaucoup moins significatif (Butterfield et al. 2007; Page et al. 2008). Deux effets antagonistes des aluminosilicates ont été rapportés dans le contexte de la fossilisation. D'une part, les aluminosilicates peuvent intervenir dans la préservation de structures organiques biologiques en désactivant les enzymes accélérant leur biodégradation (Alexander 1973) et en formant des assemblages organo-minéraux rendant la matière organique moins réactive et moins mobile (Emerson and Hedges 1988). D'autre part, la présence d'aluminosilicates est aussi connue pour favoriser, en particulier en présence d'eau, le craquage thermique de la matière organique et donc fortement modifier les chemins réactionnels et les bilans des réactions de dégradation (Huizinga et al. 1987; Kennedy 2002; Wu et al. 2012; Rahman et al. 2017). L'influence des aluminosilicates sur la fossilisation

semble donc très dépendante du stade d'enfouissement considéré ainsi que de la composition et de l'hydratation de la roche.

Finalement, si l'on regarde la fossilisation d'un point de vue thermodynamique, il est possible de la représenter comme l'évolution progressive d'un système vivant très loin de l'équilibre (comprenant des biomolécules instables, des vésicules, des membranes, des gradients...) vers un système à l'équilibre purement inorganique constitué ultimement de graphite et de gaz. Selon les conditions initiales d'enfouissement et notamment selon la nature de la matrice minérale ou le taux d'hydratation du sédiment, des schémas de dégradation très différents peuvent être suivis. Ce constat a été effectué par exemple dans le contexte de la génération de pétrole (Seewald 2003). Ceci conduit, pour des conditions de température et de pression données, à un très grand nombre d'états d'équilibre possibles lors des premiers stades de la fossilisation. Cependant, à mesure que l'on avance dans la diagénèse, la diversité moléculaire se réduit et la matière organique tend irréversiblement vers un état d'entropie maximale où l'intégralité de l'information moléculaire initiale est perdue. Un fossile est donc un objet correspondant à un état d'équilibre intermédiaire ayant subi un processus irréversible de perte d'information. La connaissance des processus ayant conduit à cet état est donc cruciale si l'on veut espérer interpréter ces objets. Cependant, la nature exacte des organismes dont ils sont issus ne pourra donc jamais être complètement connue et sera donc au mieux associée à des hypothèses. L'état irrémédiablement dégradé de tout fossile, et en particulier les plus anciens comme ceux de l'Archéen, constitue donc un premier obstacle sérieux à leur interprétation.

## **2. Critères usuels et difficultés d'identification des biosignatures**

Selon l'état de dégradation d'un fossile, il est plus ou moins difficile de reconnaître des éléments provenant de l'organisme dont il est issu. Bien souvent, et en particulier pour les fossiles de l'Archéen, la question est même simplement de savoir si l'objet considéré est bien issu du vivant.

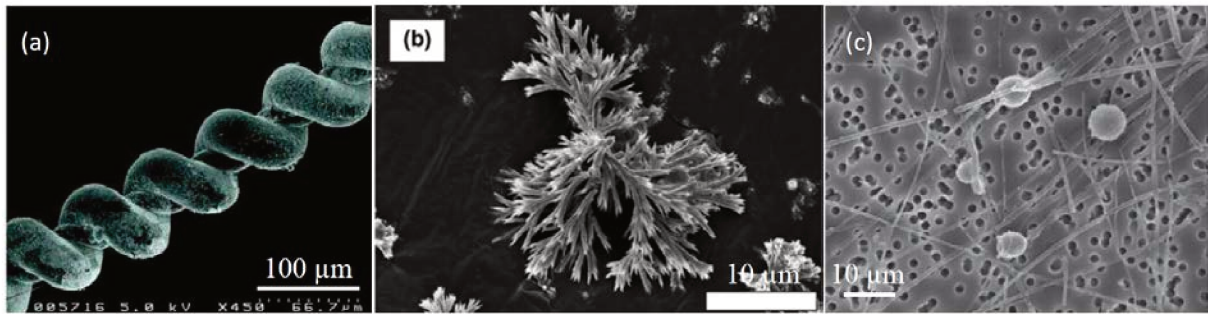
On appelle biosignature toute caractéristique d'un objet constituant la preuve qu'il est issu du vivant (Benner 2010). Ces signatures peuvent être chimiques ou morphologiques.

Les biosignatures chimiques intègrent la composition élémentaire et moléculaire (types de molécules, éléments traces...) et la composition isotopique ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ...). Les biosignatures morphologiques regroupent quant à elles toutes les caractéristiques d'organisation spatiale du vivant et ce à toutes les échelles (structures macroscopiques, cellules/micro-fossiles, vésicules, biominéraux...) (Benzerara et al. 2019).

Les nombreuses controverses concernant la biogénicité des fossiles de l'Archéen (voir II.) montrent qu'il n'existe aucun consensus sur la stratégie à adopter pour reconnaître le vivant mort. Certaines caractéristiques des fossiles sont étudiées de façon récurrente par les paléontologues et constituent un ensemble de critères usuels permettant de discuter de l'origine biologique des fossiles.

#### a. Biosignatures morphologiques

La morphologie de certaines structures Archéennes a longtemps constitué un argument central de la paléontologie de l'Archéen notamment dans le cas des « microfossiles ». Ces structures, observées en microscopie optique ou électronique, présentent plus ou moins l'apparence d'organismes cellulaires (Cloud 1965; Schopf et al. 1965; Dunlop et al. 1978; Muir et al. 1979) ou de filaments (Awramik et al. 1983; Buick 1984) et ont alors été, pour ces raisons, considérées comme des fossiles. Outre les problèmes de syngénicité et de contaminations éventuelles, l'existence de processus abiotiques permettant de former des objets aux morphologies similaires est à l'évidence la limite de cette approche. Des études expérimentales ont en effet montré qu'il est possible de synthétiser des structures inorganiques très complexes dont les morphologies évoquent le vivant (biomorphes) par des processus totalement abiotiques (García Ruiz et al. 2002; Eiblmeier et al. 2013; Noorduyn et al. 2013; Rouillard et al. 2018). Des conditions



**Figure 18.** Différents biomorphes synthétiques (a) en forme hélicoïdale, d'après Garcia-Ruiz, 2002, (b) dendritique, d'après Rouillard, 2018, (c) mélange sphères/filaments, d'après Cosmidis, 2016

permettant la formation de biomorphes organiques (carbone-soufre) ont également été rapportées (Cosmidis and Templeton 2016) (Fig. 18).

La présence de structures macroscopiques particulières formées par interaction avec le vivant comme les stromatolithes par exemple est aussi utilisée comme témoin d'une présence biologique et notamment à l'Archéen (Jolliffe 1955; Lowe 1980; Walter et al. 1980; Martin et al. 1980; Wilks and Nisbet 1985). Cet argument morphologique repose sur l'analogie entre la structure de ces objets et celle des stromatolithes actuels. Cependant, ces structures minérales formées d'assemblages de carbonates peuvent également être produites de manière abiotique (Lowe 1994; Grotzinger and Rothman 1996).

#### b. Biosignatures chimiques

Le vivant à l'Archéen est unicellulaire et ne contient pas de squelette solide. Il se compose au mieux de quatre types de molécules organiques : (i) des acides nucléiques, (ii) des protéines, (iii) des sucres et (iv) des lipides (Schweitzer 2004) (Fig. 1). Après plusieurs milliards d'années d'enfouissement et d'histoire géologique et compte tenu des processus évoqués au III.1., il est bien entendu très peu probable de préserver ces molécules telles quelles. Les acides nucléiques apparaissent comme les biomolécules les plus fragiles en raison de l'hydrolyse favorable des ponts phosphodiester en solution et de réactions de clivage susceptibles de libérer le ribose et ainsi favoriser de très nombreuses recombinaisons (Lindahl 1993; Schweitzer 2004). De la même façon, les protéines s'hydrolysent facilement et leur différentes fonctions (carboxyles, amines, hydroxyles...) les rendent très réactives et susceptibles de s'associer avec de nombreux

composés (**Eglinton and Logan 1991**). L'accès à des séquences de gènes ou d'acides aminés est donc très limité dans le temps (quelques millions d'années) et impensable en ce qui concerne des fossiles Archéens (**Briggs and Summons 2014; Thomsen and Willerslev 2015**). Les sucres sont des molécules très solubles dans l'eau ce qui compromet leur capacité à être préservés (**Eglinton and Logan 1991**). Cependant, des formes macromoléculaires comme la chitine s'avèrent être beaucoup plus résistantes (**Van Bergen et al. 1995; Ehrlich et al. 2013**). Enfin, les lipides constituant l'élément principal des membranes cellulaires sont souvent vus comme les biomolécules les plus résistantes car leur caractère saturé les rend à la fois peu solubles et peu réactifs (**Eglinton and Logan 1991**). Le contenu moléculaire des fossiles de l'Archéen est donc constitué de nombreux produits de dégradation pour lesquels l'enjeu consiste à les relier aux molécules dont ils sont issus. Une stratégie consiste à extraire la matière organique des fossiles en dissolvant les minéraux par attaque acide puis de l'analyser par différentes techniques spectroscopiques (FTIR, RMN, Raman) (**Marshall et al. 2005; Javaux and Marshal 2006; Derenne et al. 2008; Marshall and Marshall 2015**). Ces méthodes présentent toutefois l'inconvénient d'être destructives et d'exposer la matière organique à des substances susceptibles de la transformer ou à des contaminations extérieures. Afin d'éviter ces écueils, quelques rares études font également usage de techniques de caractérisation moléculaire à haute-résolution spatiale comme le XANES en microscopie STXM ou l'EELS (**De Gregorio et al. 2011; Alleon et al. 2016a, 2018**). Celles-ci ont permis par exemple d'identifier dans des roches pourtant très métamorphisées des molécules issues de végétaux (**Bernard et al. 2007**) ou encore de localiser des amides qui peuvent s'interpréter comme des produits de dégradation des protéines (**Alleon et al. 2016a**).

Enfin, les mesures de rapports isotopiques constituent également un ensemble de critères utilisés de longue date pour reconnaître le vivant (**Wickman 1941; Rankama 1948**). Comme nous l'avons vu (II.2), le métabolisme des êtres vivants favorise pour des raisons cinétiques l'assimilation du  $^{12}\text{C}$  ce qui conduit à une diminution du  $\delta^{13}\text{C}$  par rapport à la source de carbone qu'ils utilisent (**Des Marais 2001; Schidlowski 2001**). De nombreuses études discutent donc de la biogénicité de fossiles Archéens sur la base de mesures isotopiques par obtenues sur roche

totale (Oehler and Smith 1977; Schidlowski 1988; Mojzsis et al. 1996; Rosing 1999) ou résolues spatialement avec une sonde ionique (Nano-SIMS) (Oehler et al. 2009; Alleon et al. 2016a; Delarue et al. 2018). Toutefois, il est nécessaire de prendre en compte le fait que des processus abiotiques peuvent conduire à des fractionnements isotopiques similaires à ceux observés dans le vivant comme par exemple les réductions du CO<sub>2</sub> (réactions Fischer-Tropsch) en conditions hydrothermales (Mccollom and Seewald 2006; Mccollom 2011).

### 3. Stratégie d'application des critères

De nombreux critères autant morphologiques que chimiques peuvent donc être utilisés pour déterminer l'origine biologique d'un fossile mais il apparaît qu'aucun d'entre eux ne peut constituer à lui seul une biosignature satisfaisante. Conscients du problème, plusieurs auteurs ont proposé différents schémas d'application des critères se basant souvent à la fois sur des critères morphologiques et chimiques et en discutant de l'importance à accorder à chacun d'entre eux (Schopf 1975; Buick 1990; Awramik and Grey 2005; Sugitani et al. 2007; Bernard and Papineau 2014). Ces compilations de critères sont alors propres à la nature de l'objet que l'on observe (microfossiles, structures graphitiques, stromatolithes...). La conclusion qu'il est possible de tirer d'une telle démarche n'est donc pas une certitude mais une probabilité pouvant s'exprimer sur une échelle de confiance (Awramik and Grey 2005). Une vision plus radicale connue sous le nom d'« hypothèse nulle » consiste à considérer qu'un fossile est réputé d'origine abiotique tant qu'il n'a pas été démontré que l'ensemble des processus abiotiques permettant *a priori* sa formation peuvent être écartés (Brasier et al. 2004). Ceci suppose alors d'être en mesure d'affirmer que tous les processus abiotiques ont été explorés, ce qui réduit fortement les chances d'arriver un jour à une conclusion.

La paléontologie de l'Archéen et plus généralement la recherche de traces de vie fossiles apparaît forte de très nombreux outils analytiques permettant de déceler des indices de natures variées et à toutes les échelles. Cependant, elle se trouve confrontée à une difficulté méthodologique car il n'existe pas de procédure unique et universellement acceptée permettant de tirer des conclusions non contestables sur la nature des fossiles les plus anciens. Il est donc nécessaire, en plus du développement indispensable d'outils de plus en plus adaptés à l'étude des fossiles, de développer de nouvelles méthodologies.



## IV. La fossilisation expérimentale

Bien qu'il soit impossible de reproduire exactement en laboratoire les effets de milliards d'années de vieillissement, la conduite d'expériences de fossilisation permet de simuler sur des systèmes modèles les effets de certains processus ayant lieu lors de la fossilisation et ainsi de mieux comprendre les observations faites sur des objets naturels. Depuis les années 70, certains paléontologues utilisent cette démarche en complément d'analyses haute-résolution des fossiles afin de mieux quantifier l'impact du vieillissement sur les signatures morphologiques et chimiques et ainsi faciliter le lien entre les objets analysés et leur origine (**Oehler and Schopf 1971; Oehler 1976**).

### 1. Principe et but

La fossilisation expérimentale désigne une approche consistant à faire subir à un objet d'origine biologique (organisme ou biomolécule) ou non des processus typiques de vieillissement et de dégradation au laboratoire. Le but de cette démarche dans le contexte de la recherche de traces de vie à l'Archéen est d'identifier les caractéristiques pertinentes pouvant constituer une biosignature. Plus fondamentalement, la fossilisation expérimentale permet également d'étudier et de quantifier l'influence de certains paramètres, librement choisis par l'expérimentateur, sur les processus de fossilisation. Nous verrons que ceux-ci peuvent être par exemple la température, la présence de fluides ou encore la nature de la matrice minérale. La fossilisation expérimentale repose sur l'utilisation de systèmes modèles simplifiés afin de mieux comprendre les processus mis en jeu. L'utilisation de systèmes modèles suppose d'être capable de formuler des hypothèses réalistes sur la nature des organismes originaux ainsi que sur le contexte géologique dans lequel ces organismes ont été fossilisés. Lors d'expériences de fossilisation expérimentale, les durées très longues des temps géologiques peuvent être simulées par une augmentation de la température. Cette approche est basée sur l'hypothèse que les

processus de fossilisation considérés, en particulier la dégradation thermique de la matière organique, suivent approximativement une loi d'Arrhénius et que d'autres processus indésirables ne vont pas s'activer à plus haute température (**Ungerer and Pelet 1987; Vandembroucke and Largeau 2007**).

## 2. Méthodes

Initialement, l'étude de la maturation des kérogènes a justifié l'emploi de réacteurs permettant de réaliser des réactions de pyrolyse de la matière organique en conditions contrôlées (**Durand, 1980; Vandembroucke and Largeau, 2007 et leurs références**). Les dispositifs permettant le traitement hydrothermal de la matière organique, éventuellement en présence de minéraux, sont constitués de capsules scellées contenant les échantillons et placées dans des autoclaves (**Ernst and Blatt 1964; Oehler and Schopf 1971**). La plupart des études réalisées jusqu'à aujourd'hui mettent en œuvre des dispositifs de construction similaire, avec parfois des possibilités de les réaliser en système ouvert avec des fluides circulants. Les outils permettant la caractérisation des résidus synthétiques formés ont suivi l'évolution de ceux utilisés pour l'analyse des fossiles et permettent aujourd'hui d'accéder à des informations chimiques et structurales à toutes les échelles (**Bernard and Horsfield 2014**).

## 3. Principaux résultats

### a. Maturation et traitement hydrothermal de la matière organique

L'interprétation difficile des signatures moléculaires observées sur des structures organiques dégradées a conduit de nombreux auteurs à s'intéresser à la maturation thermique de la matière organique dans un contexte de diagénèse. La pyrolyse en conditions contrôlées de plusieurs types de bactéries et d'aérosols organiques met ainsi en évidence la défonctionalisation et

l'aromatisation progressive de la matière vivante durant la diagénèse (**Alleon et al. 2017**). Ces expériences ont également mis en évidence grâce à des analyses résolues spatialement que des différences de signature moléculaire restent observables entre des résidus produits à partir de précurseurs différents. Dans ce cas, la fossilisation expérimentale permet à la fois de contraindre les processus de dégradation et de donner des clés d'interprétation de structures naturelles présentant des hétérogénéités organiques.

Il est également possible de réaliser ces expériences en conditions hydrothermales afin de tester l'influence de l'eau dont le rôle dans la dégradation des molécules organiques est significatif (**Tannenbaum and Kaplan 1985; McCollom et al. 2001; Siskin and Katritzky 2001**). Dans un autre contexte, le traitement hydrothermal de molécules simples comme l'hexaméthylènetétraamine (HMT) qui est un précurseur d'acides aminés présents dans les comètes de glace (**Vinogradoff et al. 2012**) montre par exemple qu'il est possible de générer dans ces conditions un très grand nombre de composés solubles et insolubles (**Vinogradoff et al. 2018**). Ceci illustre la potentielle formation abiotique d'une importante collection de molécules organiques, dont certaines comme les hétérocycles N-aromatiques pourraient être confondues avec des produits de dégradation de biomolécules.

Enfin, des expériences de maturation thermique réalisées sur des microfossiles montrent que l'atmosphère dans laquelle a lieu la fossilisation joue un rôle important dans l'évolution et la préservation des morphologies (**Schiffbauer et al. 2012**). Ces expériences mettent en particulier en évidence une préservation plus favorable en milieu anoxique.

#### b. Effet de la matrice minérale sur la fossilisation

En contexte géologique, les fossiles évoluent et se dégradent au sein de matrices minérales dont la fossilisation expérimentale permet de quantifier l'effet. Les expériences pionnières en matière de fossilisation expérimentale s'intéressent dès les années 70 au rôle de la silice sur la fossilisation d'algues marines (**Oehler and Schopf 1971; Oehler 1976**) et montrent une forte similarité morphologique et chimique entre les résidus expérimentaux et des échantillons

fossiles naturels. Le nombre important de fossiles très bien préservés dans des cherts Archéens a par la suite justifié les nombreuses études expérimentales s'intéressant au rôle de la silice sur la préservation des signatures morphologiques ou chimiques (Westall et al. 1995; Toporski et al. 2002; Lalonde et al. 2005; Orange et al. 2011, 2012; Alleon et al. 2016b). En conditions hydrothermales, il a ainsi été montré que la silice, en interagissant avec la matière organique, était susceptible de favoriser la préservation de certaines signatures moléculaires par la formation d'assemblages silice/matière organique (Alleon et al. 2016b).

D'autres études ont également cherché à quantifier l'influence de la présence d'autres minéraux comme les argiles, les carbonates, les hydroxydes ou les phosphates sur l'évolution des morphologies (Briggs et al. 1993; Martin et al. 2003; Picard et al. 2015; Iniesto et al. 2015). Concernant les signatures moléculaires, l'encroûtement des organismes dans des biominéraux autogènes semble jouer un rôle critique et peut, comme dans le cas des phosphates de calcium participer à la préservation des signatures moléculaires (Li et al. 2014) ou dans le cas de phosphates de fer au contraire, favoriser leur dégradation (Miot et al. 2017).

#### Stratégie adoptée dans cette étude

Dans le but d'identifier quelles traces les premières formes de vie sur Terre ont pu laisser dans l'enregistrement fossile, nous réalisons la fossilisation expérimentale de l'ARN, utilisé ici comme molécule modèle d'un « monde à ARN ». Cette molécule est placée dans des conditions de diagénèse (200°C, 20 jours) en conditions hydrothermales. Afin de comprendre l'influence de certaines phases minérales potentiellement présentes dans des roches Archéennes ou Hadéennes sur la dégradation de l'ARN, cette molécule est mise en présence de silice sous différentes formes (gel, quartz, silice vitreuse) ou d'aluminosilicates (gels précurseurs de montmorillonite). Les résidus expérimentaux obtenus sont caractérisés par des techniques spectroscopiques et microscopiques permettant de documenter les signatures de l'ARN à toutes les échelles.

## V. Références

- Alexander M (1973) Nonbiodegradable and other racalcitrant molecules. *Biotechnology and Bioengineering* 15:611–647. <https://doi.org/10.1002/bit.260150402>
- Alleon J, Bernard S, Guillou CL, et al (2016a) Molecular preservation of 1.88 Ga Gunflint organic microfossils as a function of temperature and mineralogy. *Nature Communications* 7:11977. <https://doi.org/10.1038/ncomms11977>
- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2018) Chemical nature of the 3.4 Ga Strelley Pool microfossils. *Geochemical Perspectives Letters* 37–42. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1817>
- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2016b) Early entombment within silica minimizes the molecular degradation of microorganisms during advanced diagenesis. *Chemical Geology* 437:98–108. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.05.034>
- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2017) Organic molecular heterogeneities can withstand diagenesis. *Scientific Reports* 7:. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01612-8>
- Allwood AC, Rosing MT, Flannery DT, et al (2018) Reassessing evidence of life in 3,700-million-year-old rocks of Greenland. *Nature* 563:241. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0610-4>
- Altwegg K, Balsiger H, Bar-Nun A, et al (2016) Prebiotic chemicals—amino acid and phosphorus—in the coma of comet 67P/Churyumov-Gerasimenko. *Science Advances* 2:e1600285. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600285>
- Amend JP (1998) Energetics of Amino Acid Synthesis in Hydrothermal Ecosystems. *Science* 281:1659–1662. <https://doi.org/10.1126/science.281.5383.1659>
- Awramik SM, Grey K (2005) Stromatolites: biogenicity, biosignatures, and bioconfusion. In: Hoover RB, Levin GV, Rozanov AY, Gladstone GR (eds). San Diego, California, USA, p 59060P
- Awramik SM, Schopf JW, Walter MR (1983) Filamentous fossil bacteria from the Archean of Western Australia. *Precambrian Research* 20:357–374
- Bachmann PA, Luisi PL, Lang J (1992) Autocatalytic self-replicating micelles as models for prebiotic structures. *Nature* 57–59. <https://doi.org/10.1038/357057a0>
- Barboni M, Boehnke P, Keller B, et al (2017) Early formation of the Moon 4.51 billion years ago. *Sci Adv* 3:. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1602365>
- Barlow SM, Raval R (2003) Complex organic molecules at metal surfaces: bonding, organisation and chirality. *Surface Science Reports* 50:201–341. [https://doi.org/10.1016/S0167-5729\(03\)00015-3](https://doi.org/10.1016/S0167-5729(03)00015-3)
- Battistuzzi FU, Feijao A, Hedges SB (2004) A genomic timescale of prokaryote evolution: insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land. *BMC Evolutionary Biology* 4:44. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-4-44>
- Bell EA, Boehnke P, Harrison TM, Mao WL (2015) Potentially biogenic carbon preserved in a 4.1 billion-year-old zircon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:14518–14521. <https://doi.org/10.1073/pnas.1517557112>

- Bengston S (1994) *Early Life on Earth*. Columbia University Press
- Benner SA (2010) Defining Life. *Astrobiology* 10:1021–1030. <https://doi.org/10.1089/ast.2010.0524>
- Benner SA, Kim H-J, Carrigan MA (2012) Asphalt, Water, and the Prebiotic Synthesis of Ribose, Ribonucleosides, and RNA. *Accounts of Chemical Research* 45:2025–2034. <https://doi.org/10.1021/ar200332w>
- Benzerara K, Bernard S, Miot J (2019) Mineralogical Identification of Traces of Life. In: Cavalazzi B, Westall F (eds) *Biosignatures for Astrobiology*. Springer International Publishing, Cham, pp 123–144
- Bernal JD (1949) The Physical Basis of Life. *Proceedings of the Physical Society Section B* 62:23
- Bernard S, Benzerara K, Beyssac O, et al (2007) Exceptional preservation of fossil plant spores in high-pressure metamorphic rocks. *Earth and Planetary Science Letters* 262:257–272. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2007.07.041>
- Bernard S, Horsfield B (2014) Thermal Maturation of Gas Shale Systems. *Annu Rev Earth Planet Sci* 42:635–651. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-060313-054850>
- Bernard S, Papineau D (2014) Graphitic Carbons and Biosignatures. *Elements* 10:435–440
- Bouchoucha M, Jaber M, Onfroy T, et al (2011) Glutamic Acid Adsorption and Transformations on Silica. *The Journal of Physical Chemistry C* 115:21813–21825. <https://doi.org/10.1021/jp206967b>
- Bowring SA, Williams IS (1999) Priscoan (4.00–4.03 Ga) orthogneisses from northwestern Canada. *Contributions to Mineralogy and Petrology* 134:3–16. <https://doi.org/10.1007/s004100050465>
- Brack A (1998) *The molecular origins of life: assembling pieces of the puzzle*. Cambridge University Press, Cambridge
- Brasier M, Green O, Lindsay J, Steele A (2004) Earth's Oldest (~ 3.5 Ga) Fossils and the 'Early Eden Hypothesis': Questioning the Evidence. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* 34:257–269. <https://doi.org/10.1023/B:ORIG.0000009845.62244.d3>
- Brasier MD, Antcliffe J, Saunders M, Wacey D (2015) Changing the picture of Earth's earliest fossils (3.5–1.9 Ga) with new approaches and new discoveries. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:4859–4864. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405338111>
- Brasier MD, Green OR, Jephcoat AP, et al (2002) Questioning the evidence for Earth's oldest fossils. *Nature* 416:76–81. <https://doi.org/10.1038/416076a>
- Brasier MD, Matthewman R, McMahon S, Wacey D (2011) Pumice as a Remarkable Substrate for the Origin of Life. *Astrobiology* 11:725–735. <https://doi.org/10.1089/ast.2010.0546>
- Breaker RR (1997) DNA aptamers and DNA enzymes. *Current Opinion in Chemical Biology* 1:26–31
- Briggs DEG, Kear AJ, Martill DM, Wilby PR (1993) Phosphatization of soft-tissue in experiments and fossils. *Journal of the Geological Society* 150:1035–1038. <https://doi.org/10.1144/gsjgs.150.6.1035>
- Briggs DEG, Summons RE (2014) Ancient biomolecules: Their origins, fossilization, and role in revealing the history of life. *BioEssays* 36:482–490. <https://doi.org/10.1002/bies.201400010>

- Buick R (1990) Microfossil Recognition in Archean Rocks: An Appraisal of Spheroids and Filaments from a 3500 M.Y. Old Chert-Barite Unit at North Pole, Western Australia. *PALAIOS* 5:441. <https://doi.org/10.2307/3514837>
- Buick R (1984) Carbonaceous filaments from North Pole, Western Australia: Are they fossil bacteria in Archaean stromatolites? *Precambrian Research* 24:157–172. [https://doi.org/10.1016/0301-9268\(84\)90056-1](https://doi.org/10.1016/0301-9268(84)90056-1)
- Butterfield NJ (2003) Exceptional Fossil Preservation and the Cambrian Explosion. *Integrative and Comparative Biology* 43:166–177. <https://doi.org/10.1093/icb/43.1.166>
- Butterfield NJ (1990) Organic preservation of non-mineralizing organisms and the taphonomy of the Burgess Shale. *Paleobiology* 16:272–286. <https://doi.org/10.1017/S0094837300009994>
- Butterfield NJ, Balthasar U, Wilson LA (2007) Fossil diagenesis in the burgess shale. *Palaeontology* 50:537–543. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4983.2007.00656.x>
- Butterfield NJ, Knoll AH, Swett K (1988) Exceptional preservation of fossils in an Upper Proterozoic shale. *Nature* 334:424–427. <https://doi.org/10.1038/334424a0>
- Cai P, Huang Q, Li M, Liang W (2008) Binding and degradation of DNA on montmorillonite coated by hydroxyl aluminum species. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 62:299–306. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.10.016>
- Callahan MP, Smith KE, Cleaves HJ, et al (2011) Carbonaceous meteorites contain a wide range of extraterrestrial nucleobases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:13995–13998. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106493108>
- Carey FA, Sundberg RJ (2007) *Advanced organic chemistry*, 5th edition. Springer-Verlag, New-York
- Carlson RW, Garçon M, O’Neil J, et al (2019) The nature of Earth’s first crust. *Chemical Geology* 530:119321. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2019.119321>
- Carneiro CEA, Berndt G, de Souza Junior IG, et al (2011) Adsorption of Adenine, Cytosine, Thymine, and Uracil on Sulfide-Modified Montmorillonite: FT-IR, Mössbauer and EPR Spectroscopy and X-Ray Diffractometry Studies. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 41:. <https://doi.org/10.1007/s11084-011-9244-3>
- Castresana J (2001) Comparative genomics and bioenergetics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1506:147–162. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(01\)00227-4](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(01)00227-4)
- Cavosie AJ, Valley JW, Wilde SA (2019) The Oldest Terrestrial Mineral Record. In: *Earth’s Oldest Rocks*. Elsevier, pp 255–278
- Cloud PE (1965) Significance of the Gunflint (Precambrian) Microflora. *Science* 148:27–35
- Cosmidis J, Templeton AS (2016) Self-assembly of biomorphic carbon/sulfur microstructures in sulfidic environments. *Nature Communications* 7:. <https://doi.org/10.1038/ncomms12812>
- Dalrymple, Brent (1991) *The Age of the Earth*, Stanford University Press. Stanford, California
- Danger G, Plasson R, Pascal R (2012) Pathways for the formation and evolution of peptides in prebiotic environments. *Chemical Society Reviews* 41:5416. <https://doi.org/10.1039/c2cs35064e>

- Darwin C (1859) *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. London
- Dass A, Jaber M, Brack A, et al (2018) Potential Role of Inorganic Confined Environments in Prebiotic Phosphorylation. *Life* 8:7. <https://doi.org/10.3390/life8010007>
- David J, Godin L, Stevenson RK, et al (2006) U-Pb ages (3.8–2.7 Ga) and Nd isotope data from the newly identified Eoarchean Nuvvuagittuq supracrustal belt, Superior Craton, Canada. *Geological Society of America Bulletin preprint*:1. <https://doi.org/10.1130/B26369.1>
- de Castro Silva F, Lima LCB, Silva-Filho EC, et al (2020) A comparative study of alanine adsorption and condensation to peptides in two clay minerals. *Applied Clay Science* 192:105617. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2020.105617>
- De Gregorio BT, Sharp TG (2006) The structure and distribution of carbon in 3.5 Ga Apex chert: Implications for the biogenicity of Earth's oldest putative microfossils. *American Mineralogist* 91:784–789. <https://doi.org/10.2138/am.2006.2149>
- De Gregorio BT, Sharp TG, Rushdi AI, Simoneit BRT (2011) Bugs or Gunk? Nanoscale Methods for Assessing the Biogenicity of Ancient Microfossils and Organic Matter. In: Golding SD, Glikson M (eds) *Earliest Life on Earth: Habitats, Environments and Methods of Detection*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 239–289
- Delarue F, Robert F, Sugitani K, et al (2017) Investigation of the Geochemical Preservation of 3.0 Ga Permineralized and Encapsulated Microfossils by Nanoscale Secondary Ion Mass Spectrometry. *Astrobiology* 17:1192–1202. <https://doi.org/10.1089/ast.2016.1531>
- Delarue F, Robert F, Tartèse R, et al (2018) Can NanoSIMS probe quantitatively the geochemical composition of ancient organic-walled microfossils? A case study from the early Neoproterozoic Liulaobei Formation. *Precambrian Research* 311:65–73. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2018.03.003>
- Derenne S, Robert F, Skrzypczak-Bonduelle A, et al (2008) Molecular evidence for life in the 3.5 billion year old Warrawoona chert. *Earth and Planetary Science Letters* 272:476–480. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2008.05.014>
- Des Marais DJ (2001) Isotopic Evolution of the Biogeochemical Carbon Cycle During the Precambrian. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 43:24
- Di Giulio M (2000) The Universal Ancestor Lived in a Thermophilic or Hyperthermophilic Environment. *Journal of Theoretical Biology* 203:203–213. <https://doi.org/10.1006/jtbi.2000.1086>
- Dodd MS, Papineau D, Grenne T, et al (2017) Evidence for early life in Earth's oldest hydrothermal vent precipitates. *Nature* 543:60–64. <https://doi.org/10.1038/nature21377>
- Doolittle WF (1999) Phylogenetic Classification and the Universal Tree. *Science* 284:2124–2128. <https://doi.org/10.1126/science.284.5423.2124>
- Dunlop JSR, Milne VA, Groves DI, Muir MD (1978) A new microfossil assemblage from the Archaean of Western Australia. *Nature* 274:676–678
- Durand B (1980) *Kerogen: Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks*. Editions TECHNIP, Paris



- Eglinton G, Logan GA (1991) Molecular preservation. *Phil Trans R Soc Lond B* 333:315–328. <https://doi.org/10.1098/rstb.1991.0081>
- Ehrlich H, Rigby JK, Botting JP, et al (2013) Discovery of 505-million-year old chitin in the basal demosponge *Vauxia gracilentia*. *Scientific Reports* 3:. <https://doi.org/10.1038/srep03497>
- Eiblmeier J, Kellermeier M, Deng M, et al (2013) Bottom-Up Self-Assembly of Amorphous Core–Shell–Shell Nanoparticles and Biomimetic Crystal Forms in Inorganic Silica–Carbonate Systems. *Chemistry of Materials* 25:1842–1851. <https://doi.org/10.1021/cm4003959>
- El Adraa K, Timon V, Lambert J-F, et al (2012) Adsorption of L-DOPA Intercalated in Hydrated Na-Saponite Clay: A Combined Experimental and Theoretical Study. *The Journal of Physical Chemistry C* 116:26414–26421. <https://doi.org/10.1021/jp3094148>
- Elsila JE, Aponte JC, Blackmond DG, et al (2016) Meteoritic Amino Acids: Diversity in Compositions Reflects Parent Body Histories. *ACS Central Science* 2:370–379. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.6b00074>
- Emerson S, Hedges JI (1988) Processes controlling the organic carbon content of open ocean sediments. *Paleoceanography* 3:621–634. <https://doi.org/10.1029/PA003i005p00621>
- Ernst WG, Blatt H (1964) Experimental Study of Quartz Overgrowths and Synthetic Quartzites. *The Journal of Geology* 72:461–470. <https://doi.org/10.1086/627002>
- Ferris JP (2005) Mineral Catalysis and Prebiotic Synthesis: Montmorillonite-Catalyzed Formation of RNA. *Elements* 1:145–149. <https://doi.org/10.2113/gselements.1.3.145>
- Ferris JP (2006) Montmorillonite-catalysed formation of RNA oligomers: the possible role of catalysis in the origins of life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361:1777–1786. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1903>
- Ferris JP, Ertem G, Agarwal VK (1989) The adsorption of nucleotides and polynucleotides on montmorillonite clay. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* 19:153–164. <https://doi.org/10.1007/BF01808149>
- Ferris JP, Hill Jr A, Liu R, Orgel LE (1996) Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces. *Nature* 381:59–61
- Ferry JG (2006) The Stepwise Evolution of Early Life Driven by Energy Conservation. *Molecular Biology and Evolution* 23:1286–1292. <https://doi.org/10.1093/molbev/msk014>
- Feuillie C, Daniel I, Michot LJ, Pedreira-Segade U (2013) Adsorption of nucleotides onto Fe–Mg–Al rich swelling clays. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 120:97–108. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2013.06.021>
- Forterre P (2002) The origin of DNA genomes and DNA replication proteins. *Current Opinion in Microbiology* 5:525–532. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00360-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00360-0)
- Forterre P (2005) The two ages of the RNA world, and the transition to the DNA world: a story of viruses and cells. *Biochimie* 87:793–803. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2005.03.015>
- Forterre P (2013) Les virus à nouveau sur le devant de la scène. *Biologie Aujourd’hui* 207:153–168. <https://doi.org/10.1051/jbio/2013018>
- Forterre P, Da Cunha V, Gaia M (2018) Universal Tree of Life. In: John Wiley & Sons Ltd (ed) eLS. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp 1–7

- Franchi M, Ferris JP, Gallori E (2003) Cations as Mediators of the Adsorption of Nucleic Acids on Clay Surfaces in Prebiotic Environments. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 33:16
- Galtier N (1999) A Nonhyperthermophilic Common Ancestor to Extant Life Forms. *Science* 283:220–221. <https://doi.org/10.1126/science.283.5399.220>
- García Ruiz JM, Carnerup A, Christy AG, et al (2002) Morphology: An Ambiguous Indicator of Biogenicity. *Astrobiology* 2:353–369. <https://doi.org/10.1089/153110702762027925>
- Gayon J (2010) Defining Life: Synthesis and Conclusions. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 40:231–244. <https://doi.org/10.1007/s11084-010-9204-3>
- Glansdorff N, Xu Y, Labedan B (2008) The Last Universal Common Ancestor: emergence, constitution and genetic legacy of an elusive forerunner. *Biology Direct* 3:29. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-3-29>
- Grotzinger JP, Rothman DH (1996) An abiotic model for stromatolite morphogenesis. *Nature* 383:423–425
- Gutekunst K (2018) Hypothesis on the Synchronistic Evolution of Autotrophy and Heterotrophy. *Trends in Biochemical Sciences* 43:402–411. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.03.008>
- Harrison TM (2020) *Hadean Earth*. Springer International Publishing, Cham
- Harrison TM (2009) The Hadean Crust: Evidence from >4 Ga Zircons. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 37:479–505. <https://doi.org/10.1146/annurev.earth.031208.100151>
- Hashizume H, van der Gaast S, Theng BKG (2010) Adsorption of adenine, cytosine, uracil, ribose, and phosphate by Mg-exchanged montmorillonite. *Clay Minerals* 45:469–475. <https://doi.org/10.1180/claymin.2010.045.4.469>
- Hassenkam T, Rosing MT (2017) 3.7 billion year old biogenic remains. *Communicative & Integrative Biology* 10:e1380759. <https://doi.org/10.1080/19420889.2017.1380759>
- Hazen RM, Filley TR, Goodfriend GA (2001) Selective adsorption of L- and D-amino acids on calcite: Implications for biochemical homochirality. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:5487–5490. <https://doi.org/10.1073/pnas.101085998>
- Hazen RM, Sverjensky DA, Azzolini D, et al (2013) Clay mineral evolution. *American Mineralogist* 98:2007–2029. <https://doi.org/10.2138/am.2013.4425>
- Henrichs SM (1993) *Organic Geochemistry: Principles and Applications*. Springer US, Boston, MA
- Higgs PG, Lehman N (2015) The RNA World: molecular cooperation at the origins of life. *Nature Reviews Genetics* 16:7–17. <https://doi.org/10.1038/nrg3841>
- Hillis DM, Heller CH, Hacker SD, et al (2020) *Life: The Science of Biology*, 12th edition. Macmillan
- Horita J (1999) Abiogenic Methane Formation and Isotopic Fractionation Under Hydrothermal Conditions. *Science* 285:1055–1057. <https://doi.org/10.1126/science.285.5430.1055>
- Huber C (1997) Activated Acetic Acid by Carbon Fixation on (Fe,Ni)S Under Primordial Conditions. *Science* 276:245–247. <https://doi.org/10.1126/science.276.5310.245>

- Huc AY (1980) Origin and formation of organic matter in recent sediments and its relation to kerogen. In: Durand B (ed) *Kerogen Insoluble Organic matter from sedimentary rocks*. Technip, Paris
- Huizinga BJ, Tannenbaum E, Kaplan IR (1987) The role of minerals in the thermal alteration of organic matter—IV. Generation of n-alkanes, acyclic isoprenoids, and alkenes in laboratory experiments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51:1083–1097. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(87\)90202-X](https://doi.org/10.1016/0016-7037(87)90202-X)
- Iniesto M, Zeyen N, López-Archilla AI, et al (2015) Preservation in microbial mats: mineralization by a talc-like phase of a fish embedded in a microbial sarcophagus. *Frontiers in Earth Science* 3. <https://doi.org/10.3389/feart.2015.00051>
- Javaux EJ, Marshal CP (2006) A new approach in deciphering early protist paleobiology and evolution: Combined microscopy and microchemistry of single Proterozoic acritarchs. *Review of Palaeobotany and Palynology* 139:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2006.01.005>
- Jheeta S, Joshi P (2014) Prebiotic RNA Synthesis by Montmorillonite Catalysis. *Life* 4:318–330. <https://doi.org/10.3390/life4030318>
- Jolliffe AW (1955) Geology and iron ores of Steep Rock Lake [Ontario]. *Economic Geology* 50:373–398. <https://doi.org/10.2113/gsecongeo.50.4.373>
- Joshi PC, Aldersley MF, Delano JW, Ferris JP (2009) Mechanism of Montmorillonite Catalysis in the Formation of RNA Oligomers. *Journal of the American Chemical Society* 131:13369–13374. <https://doi.org/10.1021/ja9036516>
- Kasting JF (1993) Earth's early atmosphere. *Science* 259:920–926
- Kasting JF (2014) Atmospheric composition of Hadean–early Archean Earth: The importance of CO. In: *Earth's Early Atmosphere and Surface Environment*. Geological Society of America
- Kauffman SA (1986) Autocatalytic sets of proteins. *Journal of Theoretical Biology* 119:1–24
- Kee TP, Monnard P-A (2017) Chemical systems, chemical contiguity and the emergence of life. *Beilstein J Org Chem* 13:1551–1563. <https://doi.org/10.3762/bjoc.13.155>
- Kemp AIS, Hickman AH, Kirkland CL, Vervoort JD (2015) Hf isotopes in detrital and inherited zircons of the Pilbara Craton provide no evidence for Hadean continents. *Precambrian Research* 261:112–126. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2015.02.011>
- Kennedy MJ (2002) Mineral Surface Control of Organic Carbon in Black Shale. *Science* 295:657–660. <https://doi.org/10.1126/science.1066611>
- Kitadai N, Maruyama S (2018) Origins of building blocks of life: A review. *Geoscience Frontiers* 9:1117–1153. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2017.07.007>
- Kolařík M, Vohník M (2018) When the ribosomal DNA does not tell the truth: The case of the taxonomic position of *Kurtia argillacea*, an ericoid mycorrhizal fungus residing among Hymenochaetales. *Fungal Biology* 122:1–18. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.09.006>
- Konhauser KO, Urrutia MM (1999) Bacterial clay authigenesis: a common biogeochemical process. *Chemical Geology* 161:399–413. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(99\)00118-7](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(99)00118-7)

- Kremer B, Kaźmierczak J (2017) Cellularly preserved microbial fossils from ~3.4 Ga deposits of South Africa: A testimony of early appearance of oxygenic life? *Precambrian Research* 295:117–129. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2017.04.023>
- Kvenvolden K (1970) Evidence for Extraterrestrial Amino-acids and Hydrocarbons in the Murchison Meteorite. *Nature* 228:923–926
- Lahav N, White D, Chang S (1978) Peptide formation in the prebiotic era: thermal condensation of glycine in fluctuating clay environments. *Science* 201:67–69. <https://doi.org/10.1126/science.663639>
- Lahav N, White DH (1980) A possible role of fluctuating clay-water systems in the production of ordered prebiotic oligomers. *Journal of Molecular Evolution* 16:11–21. <https://doi.org/10.1007/BF01732066>
- Lalonde SV, Konhauser KO, Reysenbach A-L, Ferris FG (2005) The experimental silicification of Aquificales and their role in hot spring sinter formation. *Geobiology* 3:41–52. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2005.00042.x>
- Lambert J-F (2008) Adsorption and Polymerization of Amino Acids on Mineral Surfaces: A Review. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 38:211–242. <https://doi.org/10.1007/s11084-008-9128-3>
- Lambert J-F (2015) Origins of life: From the mineral to the biochemical world. *BIO Web of Conferences* 4:00012. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20150400012>
- Lambert J-F, Jaber M, Georgelin T, Stievano L (2013) A comparative study of the catalysis of peptide bond formation by oxide surfaces. *Physical Chemistry Chemical Physics* 15:13371. <https://doi.org/10.1039/c3cp51282g>
- Lazcano A (2008) What Is Life?: A Brief Historical Overview. *Chemistry & Biodiversity* 5:1–15. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200890001>
- Lazcano A, Miller SL (1999) On the Origin of Metabolic Pathways. *Journal of Molecular Evolution* 49:424–431. <https://doi.org/10.1007/PL00006565>
- Leo RF, Barghoorn ES (1976) Silification of wood. *Botanical Museum Leaflets, Harvard University* 25:1–47
- Lepland A, Arrhenius G, Cornell D (2002) Apatite in early Archean Isua supracrustal rocks, southern West Greenland: its origin, association with graphite and potential as a biomarker. *Precambrian Research* 118:221–241. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(02\)00106-7](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(02)00106-7)
- Lepot K, Williford KH, Ushikubo T, et al (2013) Texture-specific isotopic compositions in 3.4Gyr old organic matter support selective preservation in cell-like structures. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 112:66–86. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2013.03.004>
- Li J, Bernard S, Benzerara K, et al (2014) Impact of biomineralization on the preservation of microorganisms during fossilization: An experimental perspective. *Earth and Planetary Science Letters* 400:113–122. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2014.05.031>
- Lindahl T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362:709–715. <https://doi.org/10.1038/362709a0>
- Linné C von (1767) *Systema naturae per regna tria naturae : secundum classes, ordines, genera, species cum characteribus, differentiis, sinonimis, locis*

- Locey KJ, Lennon JT (2016) Scaling laws predict global microbial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113:5970–5975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521291113>
- Lowe DR (1980) Stromatolites 3,400-Myr old from the Archean of Western Australia. *Nature* 284:441–443
- Lowe DR (1994) Abiological origin of described stromatolites older than 3.2 Ga. *Geology* 22:387. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1994\)022<0387:AODSO>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1994)022<0387:AODSO>2.3.CO;2)
- Lowe DR, Tice MM (2004) Geologic evidence for Archean atmospheric and climatic evolution: Fluctuating levels of CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and O<sub>2</sub> with an overriding tectonic control. *Geology* 32:493. <https://doi.org/10.1130/G20342.1>
- Ludlow RF, Otto S (2008) Systems chemistry. *Chem Soc Rev* 37:101–108. <https://doi.org/10.1039/B611921M>
- Luketa S (2012) New views on the megaclassification of life. *Protistology* 4:218–237
- Lyon DY, Monier J-M, Dupraz S, et al (2010) Integrity and Biological Activity of DNA after UV Exposure. *Astrobiology* 10:285–292. <https://doi.org/10.1089/ast.2009.0359>
- Machery E (2012) Why I stopped worrying about the definition of life... and why you should as well. *Synthese* 185:145–164. <https://doi.org/10.1007/s11229-011-9880-1>
- Marchi S, Bottke WF, Elkins-Tanton LT, et al (2014) Widespread mixing and burial of Earth's Hadean crust by asteroid impacts. *Nature* 511:578–582. <https://doi.org/10.1038/nature13539>
- Marshall AO, Marshall CP (2015) Vibrational spectroscopy of fossils. *Palaeontology* 58:201–211. <https://doi.org/10.1111/pala.12144>
- Marshall C, Javaux E, Knoll A, Walter M (2005) Combined micro-Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and micro-Raman spectroscopy of Proterozoic acritarchs: A new approach to Palaeobiology. *Precambrian Research* 138:208–224. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2005.05.006>
- Marshall-Bowman K, Ohara S, Sverjensky DA, et al (2010) Catalytic peptide hydrolysis by mineral surface: Implications for prebiotic chemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74:5852–5861. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2010.07.009>
- Martin A, Nisbet EG, Bickle MJ (1980) Archaean stromatolites of the Belingwe Greenstone Belt, Zimbabwe (Rhodesia). *Precambrian Research* 13:337–362. [https://doi.org/10.1016/0301-9268\(80\)90049-2](https://doi.org/10.1016/0301-9268(80)90049-2)
- Martin D, Briggs DEG, Parkes RJ (2003) Experimental mineralization of invertebrate eggs and the preservation of Neoproterozoic embryos. *Geology* 31:39. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(2003\)031<0039:EMOIEA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(2003)031<0039:EMOIEA>2.0.CO;2)
- Martin W (1999) Mosaic bacterial chromosomes: a challenge en route to a tree of genomes. *BioEssays* 21:99–104. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(199902\)21:2<99::AID-BIES3>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(199902)21:2<99::AID-BIES3>3.0.CO;2-B)
- Mccollom T (2011) What Can Carbon Isotopes Tell Us About Sources of Reduced Carbon in Rocks from the Early Earth? In: Golding SD, Glikson M (eds) *Earliest Life on Earth: Habitats, Environments and Methods of Detection*. Springer Netherlands, Dordrecht
- Mccollom T, Seewald J (2006) Carbon isotope composition of organic compounds produced by abiotic synthesis under hydrothermal conditions. *Earth and Planetary Science Letters* 243:74–84. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2006.01.027>

- McCollom TM, Seewald JS, Simoneit BRT (2001) Reactivity of monocyclic aromatic compounds under hydrothermal conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65:455–468. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(00\)00533-0](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(00)00533-0)
- Meierhenrich U (2008) *Amino Acids and the Asymmetry of Life: Caught in the Act of Formation*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
- Meinert C, Filippi J-J, de Marcellus P, et al (2012) N-(2-Aminoethyl)glycine and Amino Acids from Interstellar Ice Analogues. *ChemPlusChem* 77:186–191. <https://doi.org/10.1002/cplu.201100048>
- Meng M, Stievano L, Lambert J-F (2004) Adsorption and Thermal Condensation Mechanisms of Amino Acids on Oxide Supports. 1. Glycine on Silica. *Langmuir* 20:914–923. <https://doi.org/10.1021/la035336b>
- Miller SL (1953) A Production of Amino Acids Under Possible Primitive Earth Conditions. *Science* 117:528–529. <https://doi.org/10.1126/science.117.3046.528>
- Miot J, Bernard S, Bourreau M, et al (2017) Experimental maturation of Archaea encrusted by Fe-phosphates. *Scientific Reports* 7:16984. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17111-9>
- Mix LJ (2015) Defending Definitions of Life. *Astrobiology* 15:15–19. <https://doi.org/10.1089/ast.2014.1191>
- Mizuno T, Weiss AH (1974) Synthesis and Utilization of Formose Sugars. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* 29:. [https://doi.org/10.1016/S0065-2318\(08\)60250-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(08)60250-4)
- Mojzsis SJ, Arrhenius G, McKeegan KD, et al (1996) Evidence for life on Earth before 3,800 million years ago. *Nature* 384:55–59
- Mojzsis SJ, Harrison TM, Pidgeon RT (2001) Oxygen-isotope evidence from ancient zircons for liquid water at the Earth's surface 4,300 Myr ago. *Nature* 409:178–181. <https://doi.org/10.1038/35051557>
- Mojzsis SJ, Krishnamurthy R (1999) Before RNA and After: Geophysical and Geochemical Constraints on Molecular Evolution. 48
- Mora C, Tittensor DP, Adl S, et al (2011) How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biology* 9:e1001127. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001127>
- Muir MD, Bliss GM, Grant PR, Fischer MJ (1979) Palaeontological evidence for the age of some supposedly Precambrian rocks in Anglesey, North Wales. *Journal of the Geological Society* 136:61–64
- Nisbet EG (1987) *The young earth: an introduction to Archaean geology*. Allen & Unwin, Boston
- Nisbet EG, Sleep NH (2001) The habitat and nature of early life. *Nature* 409:1083–1091. <https://doi.org/10.1038/35059210>
- Noorduyn WL, Grinthal A, Mahadevan L, Aizenberg J (2013) Rationally Designed Complex, Hierarchical Microarchitectures. *Science* 340:832–837. <https://doi.org/10.1126/science.1234621>
- Nutman AP, Bennett VC, Friend CRL, et al (2016) Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures. *Nature* 537:535–538. <https://doi.org/10.1038/nature19355>
- Nutman AP, Mojzsis SJ, Friend CRL (1997) Recognition of  $\geq 3850$  Ma water-lain sediments in West Greenland and their significance for the early Archaean Earth. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61:2475–2484. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(97\)00097-5](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(97)00097-5)

- Oehler DZ, Robert F, Walter MR, et al (2009) NanoSIMS: Insights to biogenicity and syngeneity of Archaean carbonaceous structures. *Precambrian Research* 173:70–78. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2009.01.001>
- Oehler DZ, Smith JW (1977) Isotopic composition of reduced and oxidized carbon in early Archaean rocks from Isua, Greenland. *Precambrian Research* 5:221–228
- Oehler JH (1976) Experimental studies in Precambrian paleontology: Structural and chemical changes in blue-green algae during simulated fossilization in synthetic chert. *Geological Society of America Bulletin* 87:117–129
- Oehler JH, Schopf JW (1971) Artificial Microfossils: Experimental Studies of Permineralization of Blue-Green Algae in Silica. *Science* 174:1229–1231
- O’Neil J, Carlson RW, Francis D, Stevenson RK (2008) Neodymium-142 Evidence for Hadean Mafic Crust. *Science* 321:1828–1831. <https://doi.org/10.1126/science.1161925>
- O’Neil J, Carlson RW, Paquette J-L, Francis D (2012) Formation age and metamorphic history of the Nuvvuagittuq Greenstone Belt. *Precambrian Research* 220–221:23–44. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2012.07.009>
- Orange F, Chabin A, Gorlas A, et al (2011) Experimental fossilisation of viruses from extremophilic Archaea. *Bioessences* 8:1465–1475. <https://doi.org/10.5194/bg-8-1465-2011>
- Orange F, Disnar J-R, Gautret P, et al (2012) Preservation and Evolution of Organic Matter During Experimental Fossilisation of the Hyperthermophilic Archaea *Methanocaldococcus jannaschii*. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 42:587–609. <https://doi.org/10.1007/s11084-012-9318-x>
- Orberger B, Rouchon V, Westall F, et al (2006) Microfacies and origin of some Archean cherts (Pilbara, Australia). In: *Processes on the Early Earth*. Geological Society of America
- Orgel LE (1998) The origin of life—a review of facts and speculations. *Trends in Biochemical Sciences* 23:491–495. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01300-0](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01300-0)
- Oró J, Kimball AP (1961) Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. I. Adenine from hydrogen cyanide. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 94:217–227. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90033-9](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90033-9)
- Orr PJ (1998) Cambrian Burgess Shale Animals Replicated in Clay Minerals. *Science* 281:1173–1175. <https://doi.org/10.1126/science.281.5380.1173>
- Page A, Gabbott SE, Wilby PR, Zalasiewicz JA (2008) Ubiquitous Burgess Shale–style “clay templates” in low-grade metamorphic mudrocks. *Geology* 36:855. <https://doi.org/10.1130/G24991A.1>
- Pan T (1997) Novel and variant ribozymes obtained through in vitro selection. *Current Opinion in Chemical Biology* 1:17–25
- Papineau D, De Gregorio BT, Cody GD, et al (2010) Ancient graphite in the Eoarchean quartz–pyroxene rocks from Akilia in southern West Greenland I: Petrographic and spectroscopic characterization. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74:5862–5883. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2010.05.025>
- Pasek M, Herschy B, Kee TP (2015) Phosphorus: a Case for Mineral–Organic Reactions in Prebiotic Chemistry. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 45:207–218. <https://doi.org/10.1007/s11084-015-9420-y>

- Pasteris JD, Wopenka B (2003) Necessary, but Not Sufficient: Raman Identification of Disordered Carbon as a Signature of Ancient Life. *Astrobiology* 3:727–738. <https://doi.org/10.1089/153110703322736051>
- Pedreira-Segade U, Hao J, Razafitianamaharavo A, et al (2018) How do Nucleotides Adsorb Onto Clays? *Life* 8:59. <https://doi.org/10.3390/life8040059>
- Penzlin H (2009) The riddle of “life,” a biologist’s critical view. *Naturwissenschaften* 96:1–23. <https://doi.org/10.1007/s00114-008-0422-8>
- Perry E, Ahmad S (1977) Carbon isotope composition of graphite and carbonate minerals from 3.8-AE metamorphosed sediments, Isukasia, Greenland. *Earth and Planetary Science Letters* 36:280–284. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(77\)90210-2](https://doi.org/10.1016/0012-821X(77)90210-2)
- Pflug HD, Jaeschke-Boyer H (1979) Combined structural and chemical analysis of 3,800-Myr-old microfossils. *Nature* 280:483–486
- Philippe H, Laurent J (1998) How good are deep phylogenetic trees? *Current Opinion in Genetics and Development* 8:616–623
- Picard A, Kappler A, Schmid G, et al (2015) Experimental diagenesis of organo-mineral structures formed by microaerophilic Fe(II)-oxidizing bacteria. *Nature Communications* 6:6277. <https://doi.org/10.1038/ncomms7277>
- Pizzarello S, Shock E (2010) The Organic Composition of Carbonaceous Meteorites: The Evolutionary Story Ahead of Biochemistry. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2:a002105–a002105. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002105>
- Poch O, Jaber M, Stalport F, et al (2015) Effect of Nontronite Smectite Clay on the Chemical Evolution of Several Organic Molecules under Simulated Martian Surface Ultraviolet Radiation Conditions. *Astrobiology* 15:221–237. <https://doi.org/10.1089/ast.2014.1230>
- Poole AM, Logan DT (2005) Modern mRNA Proofreading and Repair: Clues that the Last Universal Common Ancestor Possessed an RNA Genome? *Molecular Biology and Evolution* 22:1444–1455. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi132>
- Popper KR (1945) *THE OPEN SOCIETY AND ITS ENEMIES*, Routledge and Kegan Paul. London
- Rahman HM, Kennedy M, Löhr S, Dewhurst DN (2017) Clay-organic association as a control on hydrocarbon generation in shale. *Organic Geochemistry* 105:42–55. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2017.01.011>
- Rankama K (1948) New evidence of the origin of pre-cambrian carbon. *Geological Society of America Bulletin* 59:389–416
- Reimink JR, Davies JHFL, Chacko T, et al (2016) No evidence for Hadean continental crust within Earth’s oldest evolved rock unit. *Nature Geoscience* 9:777–780. <https://doi.org/10.1038/ngeo2786>
- Rimola A, Costa D, Sodupe M, et al (2013) Silica Surface Features and Their Role in the Adsorption of Biomolecules: Computational Modeling and Experiments. *Chemical Reviews* 113:4216–4313. <https://doi.org/10.1021/cr3003054>
- Roedder E (1981) Are the 3,800-Myr-old Isua objects microfossils, limonite-stained fluid inclusions, or neither? *Nature* 293:459–462



- Rosing MT (1999)  $^{13}\text{C}$ -Depleted Carbon Microparticles in >3700-Ma Sea-Floor Sedimentary Rocks from West Greenland. *Science* 283:674–676
- Rouillard J, García-Ruiz J-M, Gong J, van Zuilen MA (2018) A morphogram for silica-witherite biomorphs and its application to microfossil identification in the early earth rock record. *Geobiology* 16:279–296. <https://doi.org/10.1111/gbi.12278>
- Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, et al (2015) A Higher Level Classification of All Living Organisms. *PLOS ONE* 10:e0119248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119248>
- Ruiz-Mirazo K, Briones C, de la Escosura A (2014) Prebiotic Systems Chemistry: New Perspectives for the Origins of Life. *Chemical Reviews* 114:285–366. <https://doi.org/10.1021/cr2004844>
- Russell MJ (2007) The Alkaline Solution to the Emergence of Life: Energy, Entropy and Early Evolution. *Acta Biotheoretica* 55:133–179. <https://doi.org/10.1007/s10441-007-9018-5>
- Sanchez RA, Ferbis P, Orgel LE (1967) Studies in Prebiotic Synthesis. *Journal of Molecular Biology* 30:223–253
- Santosh M, Arai T, Maruyama S (2017) Hadean Earth and primordial continents: The cradle of prebiotic life. *Geoscience Frontiers* 8:309–327. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2016.07.005>
- Schidlowski M (2001) Carbon isotopes as biogeochemical recorders of life over 3.8 Ga of Earth history: evolution of a concept. *Precambrian Research* 106:117–134. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(00\)00128-5](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(00)00128-5)
- Schidlowski M (1988) A 3,800-million-year isotopic record of life from carbon in sedimentary rocks. *Nature* 333:313–318
- Schiffbauer JD, Wallace AF, Hunter JL, et al (2012) Thermally-induced structural and chemical alteration of organic-walled microfossils: an experimental approach to understanding fossil preservation in metasediments: Experimental thermal alteration of microfossils. *Geobiology* 10:402–423. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2012.00332.x>
- Schönheit P, Buckel W, Martin WF (2016) On the Origin of Heterotrophy. *Trends in Microbiology* 24:12–25. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.10.003>
- Schoonen M, Smirnov A (2016) Staging Life in an Early Warm ‘Seltzer’ Ocean. *Elements* 12:395–400. <https://doi.org/10.2113/gselements.12.6.395>
- Schopf J, Packer B (1987) Early Archean (3.3-billion to 3.5-billion-year-old) microfossils from Warrawoona Group, Australia. *Science* 237:70–73. <https://doi.org/10.1126/science.11539686>
- Schopf JW (1993) Microfossils of the Early Archean Apex Chert: New Evidence of the Antiquity of Life. *Science* 260:640–646. <https://doi.org/10.1126/science.260.5108.640>
- Schopf JW (2006) Fossil evidence of Archaean life. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 361:869–885. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1834>
- Schopf JW (1975) Precambrian Paleobiology: Problems and Perspectives. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 3:213–249. <https://doi.org/10.1146/annurev.ea.03.050175.001241>
- Schopf JW, Barghoorn ES, Maser MD, Gordon RO (1965) Electron Microscopy of Fossil Bacteria Two Billion Years Old. *Science* 149:1365–1367. <https://doi.org/10.1126/science.149.3690.1365>

- Schopf JW, Kudryavtsev AB (2012) Biogenicity of Earth's earliest fossils: A resolution of the controversy. *Gondwana Research* 22:761–771. <https://doi.org/10.1016/j.gr.2012.07.003>
- Schopf JW, Kudryavtsev AB, Agresti DG, et al (2002) Laser-Raman imagery of Earth's earliest fossils. *Nature* 416:73–76. <https://doi.org/10.1038/416073a>
- Schopf JW, Kudryavtsev AB, Czaja AD, Tripathi AB (2007) Evidence of Archean life: Stromatolites and microfossils. *Precambrian Research* 158:141–155. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2007.04.009>
- Schrödinger E (1946) *What is Life ?* Cambridge University Press
- Schweitzer M (2004) Molecular paleontology: Some current advances and problems. *Annales De Paleontologie - ANN PALEONTOL* 90:81–102. <https://doi.org/10.1016/j.annpal.2004.02.001>
- Seewald JS (2003) Organic–inorganic interactions in petroleum-producing sedimentary basins. *Nature* 426:327–333. <https://doi.org/10.1038/nature02132>
- Shapiro R (1988) Prebiotic ribose synthesis: A critical analysis. *Orig Life Evol Biosph* 18:71–85
- Siskin M, Katritzky AR (2001) Reactivity of Organic Compounds in Superheated Water: General Background. *Chemical Reviews* 101:825–836. <https://doi.org/10.1021/cr000088z>
- Sleep NH (2010) The Hadean-Archaean Environment. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2:a002527–a002527. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002527>
- Sleep NH, Zahnle K, Neuhoff PS (2001) Initiation of clement surface conditions on the earliest Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:3666–3672. <https://doi.org/10.1073/pnas.071045698>
- Smith JV, Arnold FP, Parsons I, Lee MR (1999) Biochemical evolution III: Polymerization on organophilic silica-rich surfaces, crystal-chemical modeling, formation of first cells, and geological clues. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96:3479–3485. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.3479>
- Stern RA, Bleeker W (1998) Age of the World's Oldest Refined Using Canada's SHRIMP: The Acasta Gneiss Complex, Northwest Territories, Canada. *Geoscience Canada* 25:27–31
- Stoks PG, Schwartz AW (1979) Uracil in carbonaceous meteorites. *Nature* 282:709–710. [https://ui.adsabs.harvard.edu/link\\_gateway/1979Natur.282..709S/doi:10.1038/282709a0](https://ui.adsabs.harvard.edu/link_gateway/1979Natur.282..709S/doi:10.1038/282709a0)
- Sugitani K, Grey K, Allwood A, et al (2007) Diverse microstructures from Archaean chert from the Mount Goldsworthy–Mount Grant area, Pilbara Craton, Western Australia: Microfossils, dubiofossils, or pseudofossils? *Precambrian Research* 158:228–262. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2007.03.006>
- Sugitani K, Mimura K, Nagaoka T, et al (2013) Microfossil assemblage from the 3400Ma Strelley Pool Formation in the Pilbara Craton, Western Australia: Results form a new locality. *Precambrian Research* 226:59–74. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2012.11.005>
- Sun F-J, Caetano-Anollés G (2008) Evolutionary Patterns in the Sequence and Structure of Transfer RNA: Early Origins of Archaea and Viruses. *PLoS Comput Biol* 4:. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000018>
- Tannenbaum E, Kaplan IR (1985) Low- M r hydrocarbons generated during hydrous and dry pyrolysis of kerogen. *Nature* 317:708–709. <https://doi.org/10.1038/317708a0>

- Tashiro T, Ishida A, Hori M, et al (2017) Early trace of life from 3.95 Ga sedimentary rocks in Labrador, Canada. *Nature* 549:516–518. <https://doi.org/10.1038/nature24019>
- Thomsen PF, Willerslev E (2015) Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 183:4–18. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019>
- Tissot B (2012) Petroleum formation and occurrence: a new approach to oil and gas exploration. Springer-Verlag Berlin An, Place of publication not identified
- Toporski JKW, Steele A, Westall F, et al (2002) The Simulated Silicification of Bacteria— New Clues to the Modes and Timing of Bacterial Preservation and Implications for the Search for Extraterrestrial Microfossils. *Astrobiology* 2:1–26. <https://doi.org/10.1089/153110702753621312>
- Ueno Y, Isozaki Y, Yurimoto H, Maruyama S (2001) Carbon Isotopic Signatures of Individual Archean Microfossils(?) from Western Australia. *International Geology Review* 43:196–212. <https://doi.org/10.1080/00206810109465008>
- Ungerer P, Pelet R (1987) Extrapolation of the kinetics of oil and gas formation from laboratory experiments to sedimentary basins. *Nature* 327:52–54. <https://doi.org/10.1038/327052a0>
- Van Bergen PF, Collinson ME, Briggs DEG, et al (1995) Resistant biomacromolecules in the fossil record. *Acta Botanica Neerlandica* 44:319–342. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1995.tb00791.x>
- van Zuilen MA, Lepland A, Arrhenius G (2002) Reassessing the evidence for the earliest traces of life. *Nature* 418:627–630. <https://doi.org/10.1038/nature00934>
- Vandenbroucke M, Largeau C (2007) Kerogen origin, evolution and structure. *Organic Geochemistry* 38:719–833. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2007.01.001>
- Vinogradoff V, Bernard S, Le Guillou C, Remusat L (2018) Evolution of interstellar organic compounds under asteroidal hydrothermal conditions. *Icarus* 305:358–370. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2017.12.019>
- Vinogradoff V, Rimola A, Duvernay F, et al (2012) The mechanism of hexamethylenetetramine (HMT) formation in the solid state at low temperature. *Physical Chemistry Chemical Physics* 14:12309. <https://doi.org/10.1039/c2cp41963g>
- Wacey D, Menon S, Green L, et al (2012) Taphonomy of very ancient microfossils from the ~3400Ma Strelley Pool Formation and ~1900Ma Gunflint Formation: New insights using a focused ion beam. *Precambrian Research* 220–221:234–250. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2012.08.005>
- Wacey D, Saunders M, Kong C, et al (2016) 3.46 Ga Apex chert ‘microfossils’ reinterpreted as mineral artefacts produced during phyllosilicate exfoliation. *Gondwana Research* 36:296–313. <https://doi.org/10.1016/j.gr.2015.07.010>
- Wacey D, Saunders M, Roberts M, et al (2015) Enhanced cellular preservation by clay minerals in 1 billion-year-old lakes. *Scientific Reports* 4. <https://doi.org/10.1038/srep05841>
- Wächtershäuser G (1988) Pyrite Formation, the First Energy Source for Life: a Hypothesis. *Systematic and Applied Microbiology* 10:207–210. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(88\)80001-8](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(88)80001-8)
- Wächtershäuser G (1992) Groundworks for an evolutionary biochemistry: The iron-sulphur world. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 58:85–201. [https://doi.org/10.1016/0079-6107\(92\)90022-X](https://doi.org/10.1016/0079-6107(92)90022-X)

- Walsh MM, Lowe DR (1985) Filamentous microfossils from the 3,500-Myr-old Onverwacht Group, Barberton Mountain Land, South Africa. *Nature* 314:530–532
- Walter MR, Buick R, Dunlop JSR (1980) Stromatolites 3,400–3,500 Myr old from the North Pole area, Western Australia. *Nature* 284:443–445
- Weiss MC, Sousa FL, Mrnjavac N, et al (2016) The physiology and habitat of the last universal common ancestor. *Nature Microbiology* 1: <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.116>
- Westall F, Boni L, Guerzoni E (1995) The experimental silification of microorganisms. *Palaeontology* 38:
- Westall F, de Wit MJ, Dann J, et al (2001) Early Archean fossil bacteria and biofilms in hydrothermally-influenced sediments from the Barberton greenstone belt, South Africa. *Precambrian Research* 106:93–116. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(00\)00127-3](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(00)00127-3)
- Westall F, Folk RL (2003) Exogenous carbonaceous microstructures in Early Archaean cherts and BIFs from the Isua Greenstone Belt: implications for the search for life in ancient rocks. *Precambrian Research* 126:313–330. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(03\)00102-5](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(03)00102-5)
- Wickman FE (1941) On a new possibility of calculating the total amount of coal and bitumen. *Geologiska Föreningen i Stockholm Förhandlingar* 63:419–421. <https://doi.org/10.1080/11035894109445079>
- Wilde SA, Valley JW, Peck WH, Graham CM (2001) Evidence from detrital zircons for the existence of continental crust and oceans on the Earth 4.4 Gyr ago. *Nature* 409:175–178. <https://doi.org/10.1038/35051550>
- Wilks ME, Nisbet EG (1985) Archaean stromatolites from the Steep Rock Group, northwestern Ontario, Canada. *Canadian Journal of Earth Sciences* 22:792–799. <https://doi.org/10.1139/e85-086>
- Woese CR, Fox GE (1977) Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74:5088–5090. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.11.5088>
- Woese CR, Kandler O, Wheelis ML (1990) Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87:4576–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576>
- Wu LM, Zhou CH, Keeling J, et al (2012) Towards an understanding of the role of clay minerals in crude oil formation, migration and accumulation. *Earth-Science Reviews* 115:373–386. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2012.10.001>
- Zhang X, Briggs DEG (2007) The nature and significance of the appendages of Opabinia from the Middle Cambrian Burgess Shale: Appendages of Opabinia from the Burgess Shale. *Lethaia* 40:161–173. <https://doi.org/10.1111/j.1502-3931.2007.00013.x>

**Partie 2.**

**Méthodes expérimentales  
et analytiques**

La réalisation au laboratoire d'expériences de fossilisation d'ARN en présence de différentes phases minérales nous a conduit à réaliser des gels synthétiques de silice ou de montmorillonite. Cette partie décrit dans un premier temps leur synthèse puis le protocole de fossilisation expérimental en tant que tel ainsi que la liste des échantillons produits.

L'analyse des résidus expérimentaux obtenus a été réalisée à l'aide de techniques d'analyses des solides, à la fois en « bulk » (DRX, RMN) et résolues spatialement (MET, STXM), et de techniques d'analyses des liquides (RMN et spectrométrie de masse). Cette partie décrit brièvement le principe de fonctionnement de ces techniques, l'intérêt de leur utilisation dans le cadre de cette étude ainsi que les conditions dans lesquelles elles sont utilisées.

# I. Préparation des gels de silice et des gels précurseurs d'argiles

## 1. Préparation des gels de silice (Gel SiO<sub>2</sub>)

Le gel de silice utilisé lors des expériences de fossilisation expérimentale est réalisé par méthode sol-gel selon la méthode décrite par Nassif (Nassif et al. 2002).

Le principe de la synthèse est de faire croître des nuclei de silice dans une solution contenant des ions orthosilicates dans un milieu progressivement acidifié pour permettre la polycondensation des ions orthosilicates.

Le protocole retenu pour la préparation du gel en absence d'ARN est le suivant :

480 µL de silice colloïdale (LUDOX-HS40, Sigma-Aldrich®) est ajoutée à 480 µL d'une solution de silicate de sodium (Sigma-Aldrich®). Le mélange est agité après addition de 3,1 mL d'eau déionisée. 900 µL d'acide chlorhydrique 5M sont ajoutés jusqu'à gélification du mélange.

En présence d'ARN, la quantité d'acide chlorhydrique ajoutée pour atteindre la gélification est plus faible car l'ARN se comporte comme l'acide phosphorique.

## 2. Préparation d'un gel de composition Montmorillonite (Gel Mt)

Le précurseur amorphe de composition montmorillonite (Ca<sub>0,2</sub>Si<sub>4</sub>Al<sub>1,6</sub>Mg<sub>0,4</sub>O<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>) utilisé lors des expériences de fossilisation expérimentale est réalisé par méthode sol-gel selon la méthode décrite par Delevoye et al. (Delevoye et al. 2003). Une fois synthétisé, ce précurseur se présente sous la forme d'une poudre.

La première étape est l'obtention d'un hydrogel formé par le mélange d'un alcoxyde de silicium (TEOS) et de solutions contenant les cations dans des proportions conformes à la stoechiométrie de la montmorillonite. La gélification intervient après un ajout suffisant d'une solution basique. La seconde étape est la calcination de l'hydrogel permettant la vaporisation de l'eau, de la matière organique issu de l'alcoxyde de silicium, des contre-ions nitrates sous forme d'oxydes d'azote et de l'ammoniac.

Le protocole retenu est le suivant :

25,1 mL d'une solution de nitrate d'aluminium (81,2 g/L) et 4,01 mL d'une solution de nitrate de magnésium (100,45 g/L) sont ajoutés dans 15 mL d'éthanol contenant 0,1 mol de TEOS (tetraéthylorthosilicate) et 0,005 mol de  $\text{CaCO}_3$ . Une solution d'ammoniaque à 33% est ensuite ajoutée jusqu'à gélification du mélange. Le gel est réservé 1 nuit pour mûrissement à température ambiante puis chauffé 1 jour à 200°C et 1 jour à 650°C.

Lors des expériences de fossilisation expérimentale, le précurseur est réhydraté et simplement mélangé par agitation magnétique à de l'ARN ou à des bactéries.



## II. Fossilisation expérimentale

### 1. Traitement hydrothermal

Les expériences de fossilisation expérimentale réalisées au cours de cette étude consistent à placer une biomolécule ou un organisme modèle au contact d'une matrice minérale dans des conditions typiques de diagénèse.

Ces expériences sont réalisées en conditions hydrothermales dans des autoclaves en titane Parr® de 25 mL contenant 100 mg d'ARN ou de bactéries E.Coli, 200 mg de gel précurseur de composition montmorillonite ou de gel de silice et 5 mL d'eau déionisée. Les réacteurs sont ensuite placés à 200°C et sous pression autogène (environ 15 bars) pendant 20 jours avant d'être refroidis à température ambiante. Le résidu solide est séparé du surnageant par centrifugation. L'ensemble des expériences réalisées et leurs variantes sont résumées à la page suivante (Tableau 1).

### 2. Extraction des composés solubles

De manière à séparer la fraction organique fortement associée aux minéraux de celle physisorbée, un protocole de lavage des résidus a été réalisé.

Le résidu solide obtenu est lavé (3x5 mL) à l'eau déionisée. L'ensemble des eaux de lavage est ensuite regroupé avec le surnageant récupéré immédiatement après l'expérience pour ne constituer qu'une seule fraction liquide. Cette solution est ensuite concentrée par évaporation sous pression réduite pour ne former à la fin qu'un volume de 1,0 mL et est conservée au réfrigérateur.

Le résidu solide est séché une nuit à 60°C puis finement broyé au mortier.

A l'issue de ces expériences de fossilisation expérimentale, deux échantillons sont donc obtenus : un résidu solide sous forme d'une fine poudre et une solution aqueuse contenant des composés organiques solubles dans l'eau. Chaque échantillon est alors caractérisé à l'aide de techniques adaptées à l'étude de la matière organique ou inorganique.

**Tableau 1.** Résumé des expériences de fossilisation réalisées et des échantillons produits au cours de cette étude

Echantillon	Quantité d'eau	Traitement	Atmosphère	Remarque
<b>PARTIE 3</b>				
ARN	x	x	x	référence
ARN	5 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
ARN	5 mL	200°C, 20 jours	Argon	Exp. témoin
Gel SiO <sub>2</sub>	x	x	Air	référence
Gel SiO <sub>2</sub>	5 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
<b>Gel SiO<sub>2</sub> + ARN</b>	<b>5 mL</b>	<b>200°C, 20 jours</b>	<b>Air</b>	<b>Fossilisation</b>
Quartz	x	x	x	référence
Quartz	5 mL	200°C, 20 jours	Argon	Exp. témoin
<b>Quartz + ARN</b>	<b>5 mL</b>	<b>200°C, 20 jours</b>	<b>Argon</b>	<b>Fossilisation</b>
Silice fumée	x	x	x	référence
Silice fumée	5 mL	200°C, 20 jours	Argon	Exp. témoin
<b>Silice fumée + ARN</b>	<b>5 mL</b>	<b>200°C, 20 jours</b>	<b>Argon</b>	<b>Fossilisation</b>
<b>PARTIE 4</b>				
ARN	1 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
Gel Mt	x	x	Air	référence
Gel Mt	5 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
Gel Mt	1 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
<b>Gel Mt + ARN</b>	<b>5 mL</b>	<b>200°C, 20 jours</b>	<b>Air</b>	<b>Fossilisation</b>
<b>Gel Mt + ARN</b>	<b>1 mL</b>	<b>200°C, 20 jours</b>	<b>Air</b>	<b>Fossilisation</b>
Gel Mt + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	5 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
Gel Mt + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
Gel Mt + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	5 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin
Gel Mt + HCl	5 mL	200°C, 20 jours	Air	Exp. témoin

### III. Diffractométrie des rayons X sur poudre

La diffractométrie des rayons X sur poudre permet d'obtenir des informations cristallographiques sur des solides sous forme de poudre. Le principe de la diffractométrie des rayons X repose sur la propriété des rayons X, dont la longueur d'onde est de l'ordre de l'angström, d'être diffracté par les plans formés par un réseau cristallin dont la distance entre chaque plan, appelée distance inter-réticulaire est également de l'ordre de l'angström.

En pratique, un faisceau incident qui rencontre un cristal selon une certaine orientation  $(hkl)$  ne sera pas seulement transmis mais aussi diffracté selon un angle  $\theta$ . La valeur de cet angle est reliée à la distance interréticulaire  $d_{hkl}$  du plan qui diffracte par la loi de Bragg :

$$2d_{hkl} \sin \theta = n\lambda \quad (1)$$

où  $\lambda$  est la longueur d'onde de rayon X incident dont la valeur dépend de l'anode utilisée et  $n$  l'ordre de diffraction.

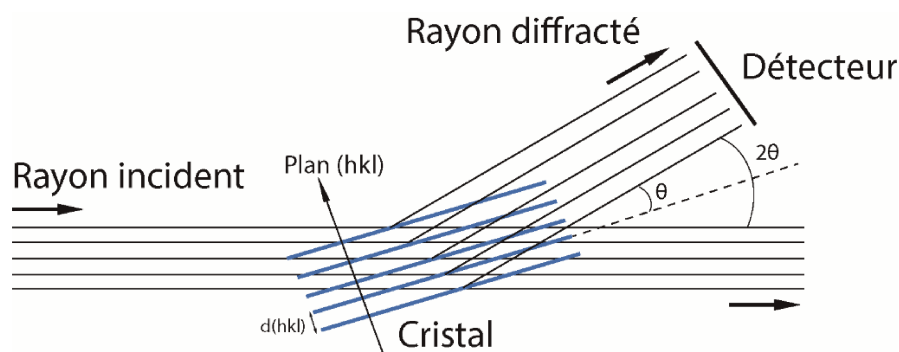


Figure 1. Schéma de principe de la diffractométrie des rayons X. Adapté de Van Meerssche (1984)

Les échantillons de cette étude ont été analysés sur un diffractomètre Brücker D8 Advance de géométrie dite «  $2\theta$  » (telle que décrite Fig. 1) situé à l'IMPC (Paris). Le faisceau utilisé est produit par une anode cuivre ( $\lambda_{K\alpha} = 1,5406 \text{ \AA}$ ).

Tableau 2. Conditions employées pour l'analyse des poudres

Type d'échantillon	Domaine angulaire	Pas angulaire	Comptage par pas	Temps total
Minéraux argileux (Mt et gels Mt)	3 – 70°	0,01°	1 s	1h52
Silice (Quartz et gels SiO <sub>2</sub> )	17 – 86 °	0,01°	1 s	1h55
Matière organique pure (ARN, E.Coli...)	15 – 80°	0,02°	1 s	54 min

Les phases cristallines présentes sont identifiées en utilisant la base de données du logiciel Brücker EVA ou en utilisant la base de données minéralogiques en ligne RRUFF (<https://rruff.info/>) sur laquelle les fichiers .cif des minéraux ont été téléchargés

## IV. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

### 1. Principes généraux

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) permet d'obtenir des informations sur l'environnement électronique local d'un noyau. Cette technique est utilisée aussi bien pour caractériser des composés moléculaires en solution que des matériaux solides.

La RMN repose sur la propriété de certains noyaux à posséder un moment angulaire intrinsèque  $\hat{I}$ , appelé moment de spin. Le moment  $\hat{I}$  est une grandeur quantique homogène à un moment cinétique. Sa magnitude est :

$$\|\hat{I}\| = \sqrt{I(I + 1)} \hbar \quad (2)$$

où  $I$  le nombre quantique de spin nucléaire, prenant des valeurs entières ou demi-entières selon les noyaux (Table 3).

Table 3. Nombre de spin  $I$  de différents noyaux rencontrés dans cette étude

Nombre de spin $I$	Noyaux
0	$^{12}\text{C}$ , $^{16}\text{O}$
1/2	$^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , $^{15}\text{N}$ , $^{29}\text{Si}$ , $^{31}\text{P}$
1	$^2\text{H}$ , $^{14}\text{N}$
5/2	$^{17}\text{O}$ , $^{27}\text{Al}$

Les noyaux de spin non nul ( $I \neq 0$ ) se comportent comme des aimants permanents dont le moment magnétique est proportionnel à  $\hat{I}$  :

$$\hat{\mu} = \gamma \hat{I} \quad (3)$$

La constante de proportionnalité  $\gamma$  est appelée rapport gyromagnétique et est caractéristique du noyau (Table 4).

Tableau 4. Rapports gyromagnétiques et abondances naturelles des noyaux observés en RMN au cours de cette étude

Noyaux	$\gamma$ ( $10^7 \text{T}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )	Abondance naturelle (%)
$^1\text{H}$	26,75	99,98
$^{13}\text{C}$	4,11	0,015
$^{15}\text{N}$	-2,71	0,37
$^{29}\text{Si}$	-5,32	4,70
$^{31}\text{P}$	10,84	100
$^{27}\text{Al}$	6,98	100

Le phénomène de RMN intervient lorsque les noyaux sont placés dans un champ magnétique uniforme  $\mathbf{B}_0$ . Les spins nucléaires s'orientent alors selon la direction du champ et précessent à une fréquence  $\nu_0$  appelée fréquence de Larmor :

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (4)$$

En RMN, ces fréquences sont de l'ordre de quelques centaines de MHz selon les noyaux et les champs magnétiques utilisés.

Dans le champ  $\mathbf{B}_0$ , les spins se répartissent en  $2I + 1$  niveaux d'énergie. Dans le cas le plus courant où  $I = 1/2$ , les deux niveaux d'énergie (alors appelés état parallèle  $\uparrow$  et anti-parallèle  $\downarrow$ ) sont séparés de :

$$\Delta E = \gamma B_0 \hbar \quad (5)$$

La statistique de Boltzmann donne alors le rapport de population entre les deux niveaux :

$$\frac{n_{\downarrow}}{n_{\uparrow}} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} \quad (6)$$

Ce déséquilibre entre les deux populations confère à l'échantillon une aimantation globale  $\mathbf{M}$  parallèle à  $\mathbf{B}_0$ . A température ambiante, ce rapport est compris entre  $10^{-4}$  et  $10^{-6}$ . C'est ce très faible écart qui produit le signal RMN. Pour cette raison, la spectroscopie RMN est donc une technique extrêmement peu sensible. Sa sensibilité augmente lorsque l'écart entre les

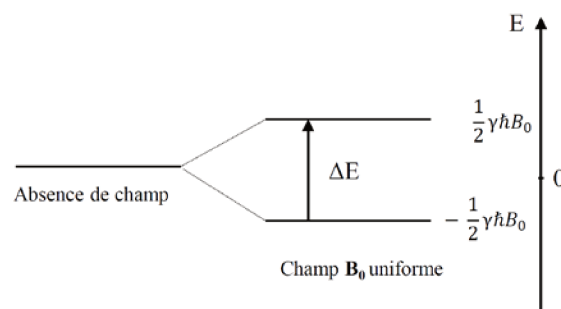


Figure 2. Séparation des spins en 2 niveaux d'énergie sous l'effet d'un champ uniforme  $B_0$  (cas d'un spin  $1/2$ )

niveaux d'énergie se réduit ce qui dépend, d'après l'équation (4), du rapport gyromagnétique  $\gamma$  et de la valeur du champ magnétique, et d'après l'équation (6) de la température. En spectroscopie RMN, la mesure est donc plus favorable à basse température sur des noyaux de  $\gamma$  élevé comme le  $^1\text{H}$  ou le  $^{31}\text{P}$  et sur des spectromètres équipés d'aimants les plus puissants.

Lorsque des électrons sont présents autour des noyaux, ceux-ci écrantent le champ  $\mathbf{B}_0$  ce qui conduit à une modification légère du champ magnétique ressenti par le noyau. Ce champ magnétique effectif conduit alors à une modification de la fréquence de Larmor qui se traduit par un décalage de la fréquence de résonance des noyaux. Ce décalage appelé déplacement chimique  $\delta$  et traduisant l'influence du nuage électronique s'exprime en ppm afin de ne pas dépendre de la valeur de champ magnétique, propre à l'instrument utilisé et d'éviter de manipuler des valeurs élevées. Il se calcule à l'aide de la mesure  $\nu_{ref}$  de la fréquence de résonance d'un composé de référence sur le spectromètre utilisé :

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{ref}}{\nu_0} \cdot 10^6 \quad (7)$$

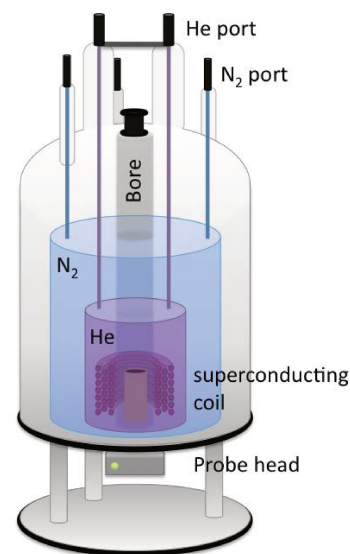
avec  $\nu_0$  est la fréquence d'accord de la sonde du spectromètre.

Des ouvrages de références donnent plus de détails concernant les principes de la RMN et son utilisation (Mitchell and Costisella 2007; Keeler 2010).

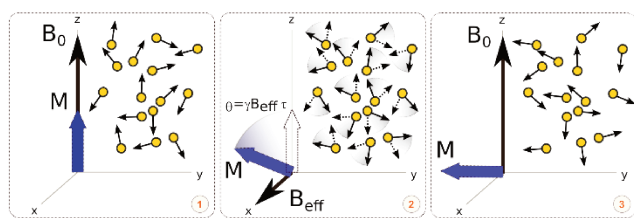
## 2. RMN liquide $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$

La RMN liquide  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  permet de caractériser des composés organiques en solution et donne des informations à la fois sur la chaîne carbonée et les fonctions chimiques. Elle s'effectue dans un spectromètre constitué d'un aimant supraconducteur et d'une sonde radiofréquence dans laquelle le tube contenant l'échantillon est placé (Fig. 3).

L'expérience RMN impulsionnelle de base consiste à émettre à l'aide de la sonde une impulsion radiofréquence (RF) ayant pour effet de faire basculer l'aimantation globale  $M$  (Fig. 4). Le choix de



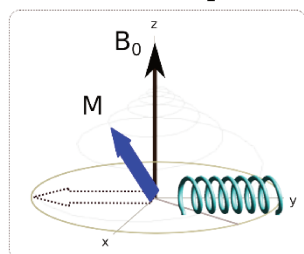
**Figure 3.** Schéma de l'aimant d'un spectromètre RMN contenant une sonde supraconductrice refroidie à 4K dans l'hélium liquide (chemie.uni-hamburg.de)



**Figure 4.** Effet d'une impulsion  $90^\circ$  sur une population de spins. 1. À l'équilibre, l'aimantation  $M$  est alignée avec  $B_0$ . 2. L'impulsion RF produit un champ local permettant le basculement de l'aimantation d'un angle  $\theta$ . 3. On peut choisir  $\tau$  tel que  $M$  soit dans le plan  $(xy)$  (d'après Wikipédia)

particulière comme par exemple dans le plan  $(xy)$  perpendiculaire au champ  $B_0$  (l'impulsion est alors appelée « impulsion  $90^\circ$  ») ou de retourner complètement les populations de spin (« impulsion  $180^\circ$  »). Le cas le plus simple

consiste à effectuer une impulsion  $90^\circ$  puis laisser le système revenir à l'équilibre, ce qui s'effectue, d'un point de vue classique, par un mouvement de précession de  $M$  le long du champ



**Figure 5.** Retour à l'équilibre de l'aimantation par un mouvement de précession autour de  $B_0$ . La composante transversale du champ induit dans la bobine est enregistrée

$B_0$  (Fig. 5). Ce mouvement de l'aimantation  $M$  produit un champ induit dont il est possible de détecter la composante transversale grâce à la bobine contenue dans la sonde. Ce signal pseudo-périodique se nomme le FID (*Free Induction Decay*) et sa transformée de Fourier constitue le spectre RMN. Un scan en RMN correspond à la séquence impulsion-détection-retour à l'équilibre, qu'il est possible de répéter afin d'améliorer le rapport signal/bruit.



De façon à corriger les inévitables variations du champ au cours de l'expérience (présence d'objets métalliques, proximité du mètre, etc...), un canal spécial de la sonde permet l'enregistrement continu de la fréquence de résonance du deutérium  $^2\text{H}$ , qui sert de noyau de référence (= signal « *lock* »). Dans notre cas, 20% de  $\text{D}_2\text{O}$  ont été ajoutés à toutes les solutions analysées.

En RMN  $^1\text{H}$  comme  $^{13}\text{C}$ , la calibration des instruments (permettant de connaître  $\nu_{\text{ref}}$  a été effectuée avec le TMS (tétraméthylsilane). Dans le cas de la RMN  $^{13}\text{C}$ , une simple séquence d'impulsion  $90^\circ$  a été utilisée. La faible abondance et le faible rapport gyromagnétique du  $^{13}\text{C}$  ont conduit à acquérir un très grand nombre de scans. Pour la RMN  $^1\text{H}$  à l'inverse, quelques scans suffisent mais dans le cas de nos solutions contenant majoritairement de l'eau, il est nécessaire d'appliquer une séquence permettant la suppression du signal de l'eau. Pour cela, une séquence impulsion  $90^\circ$  à double suppression de solvant est utilisée. Son principe est de saturer à l'aide d'impulsions RF la transition correspondant à la fréquence de résonance de l'eau. Dans tous les cas, les conditions retenues ici permettent des mesures quantitatives.

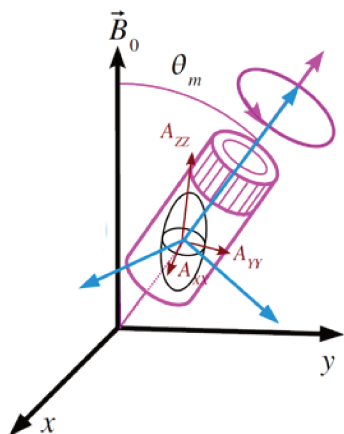
Toutes les mesures de RMN liquide ont été effectuées sur le spectromètre Brücker Avance III 500 MHz de l'IPMC (Paris) et sur le Brücker Avance III 600 MHz du CBM (Orléans).

### 3. RMN du solide à l'angle magique (RMN MAS)

La RMN du solide présente des caractéristiques très particulières qui en font une technique à part entière dans la spectroscopie RMN. Cette différence avec la RMN du liquide provient de l'existence de phénomènes d'interaction des spins qui posent problème en phase solide.

De façon générale, un spin nucléaire interagit avec des champs magnétiques d'origines diverses produisant ainsi des couplages responsables de modifications du spectre RMN. L'Hamiltonien pour un spin nucléaire dans un champ magnétique  $\mathbf{B}_0$  s'écrit ainsi :

$$\mathcal{H} = \mathcal{H}_{\text{Zeeman}} + \mathcal{H}_{\text{CSA}} + \mathcal{H}_{\text{dipolaire}} + \mathcal{H}_{\text{quadripolaire}} + \mathcal{H}_J \quad (8)$$



**Figure 6.** Orientation d'un rotor à l'angle magique par rapport au champ  $\mathbf{B}_0$ . Les composantes diagonales d'une grandeur tensorielle  $\mathbf{A}$  anisotrope sont représentées (d'après T. Charpentier, Ecole du GERM 2018, Cargèse)

Le terme Zeeman  $\mathcal{H}_{\text{Zeeman}}$  correspond à l'interaction avec le champ  $\mathbf{B}_0$  et est isotrope à haut-champ. En revanche, le terme de déplacement chimique  $\mathcal{H}_{\text{CSA}}$  traduisant l'interaction avec le nuage électronique ainsi que les termes  $\mathcal{H}_{\text{dipolaire}}$ ,  $\mathcal{H}_{\text{quadripolaire}}$  et  $\mathcal{H}_J$  traduisant respectivement les couplages dipolaires, quadripolaires (pour les noyaux de spin  $I > 1/2$ ) et les couplages  $J$  avec les spins voisins (homo ou hétéronucléaires) présentent des composantes anisotropes. Ces composantes se moyennent en solution et ne sont donc pas visibles en RMN liquide. Dans les poudres en revanche, l'absence de mouvement brownien provoque

un élargissement catastrophique des pics. En RMN du solide, le déplacement chimique est décrit par un tenseur d'anisotropie de déplacement chimique (CSA)  $\sigma$  de rang 2 (matrice 3x3) dont les composantes principales sont les termes diagonaux  $\sigma_{xx}$ ,  $\sigma_{yy}$  et  $\sigma_{zz}$ . Ainsi :

$$\mathcal{H}_{\text{CSA}} = \gamma \hat{\mathbf{I}} \cdot \sigma \cdot \mathbf{B}_0 = \gamma \hat{\mathbf{I}} \cdot \begin{pmatrix} \sigma_{xx} & 0 & 0 \\ 0 & \sigma_{yy} & 0 \\ 0 & 0 & \sigma_{zz} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ B_0 \end{pmatrix} \sim -\omega_0 \sigma_{zz} I_z \quad (9)$$

$$\text{Avec : } \sigma_{zz} = \sigma_{\text{iso}} + \Delta \left( \frac{3\cos^2\theta - 1}{2} + \frac{\eta \sin^2\theta \cos(2\Phi)}{2} \right)$$

On peut montrer également que les Hamiltoniens dipolaires  $\mathcal{H}_{\text{dipolaire}}$  et quadripolaires  $\mathcal{H}_{\text{quadripolaire}}$  sont proportionnels à un terme en  $3\cos^2\theta - 1$ . Il existe donc une valeur particulière de  $\theta$  permettant d'annuler strictement les termes dipolaires et quadripolaires et de réduire le CSA. Cet angle  $\theta_m$  est appelé *angle magique* ( $\sim 54^\circ$ ). Dans les sondes RMN solide, la poudre est donc introduite dans un rotor en zirconium fermé et tilté à l'angle magique  $\theta_m$ . L'annulation des termes anisotropes à l'angle magique suppose cependant d'effectuer une rotation de l'échantillon à très grande vitesse (de l'ordre de plusieurs kHz). Le signal obtenu comprend alors des bandes de rotation similaires au signal isotrope et espacées d'une fréquence égale à la fréquence de rotation. Afin d'écartier ces bandes au maximum, nous avons utilisé une vitesse de rotation de 14 kHz qui est la vitesse maximale admissible pour le type de rotor utilisé (rotors 4,0 mm).

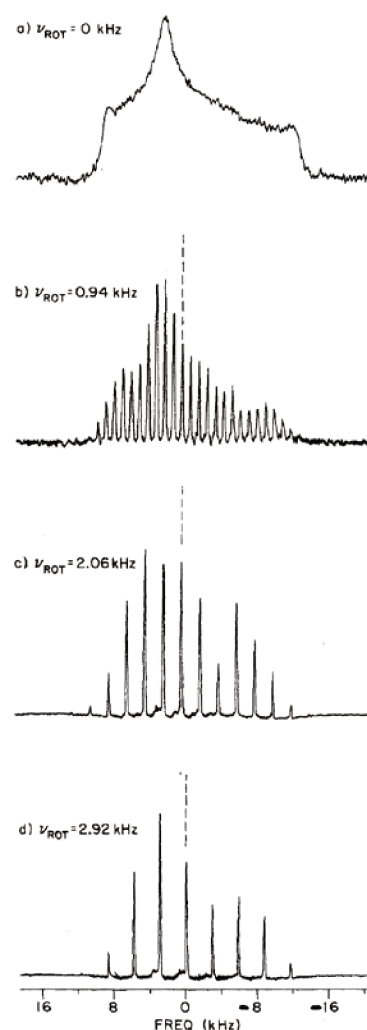
Les mesures RMN MAS de cette étude ont été réalisées sur le spectromètre Brücker Avance III 500WB de l'IMPC (Paris).

Les RMN MAS  $^1\text{H}$  et  $^{27}\text{Al}$  sont réalisées en détection directe à l'aide d'une simple séquence impulsion  $90^\circ$ .

Dans le cas de la RMN  $^{31}\text{P}$ , le rapprochement des signaux d'intérêt pour nos échantillons dans une zone assez restreinte du spectre (-20 – 5 ppm) impose d'utiliser une technique de haute-résolution. Une séquence de découplage hétéronucléaire haute puissance (hpdec) a été utilisée ici afin de supprimer les couplages hétéronucléaires  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$  responsables d'une perte de résolution (Hodgkinson 2005).

Enfin, concernant les noyaux  $^{13}\text{C}$  et  $^{29}\text{Si}$  peu abondants (0,015 % et 4,70 % resp.) et de rapport gyromagnétique faible ( $4,11 \cdot 10^7 \text{ T}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  et  $-5,32 \cdot 10^7 \text{ T}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  resp.) l'enjeu principal est l'augmentation de la sensibilité. Pour cela, nous avons utilisé une séquence de polarisation croisée (CP) consistant à transférer la magnétisation du proton qui est le noyau le plus sensible de l'échantillon vers un noyau moins sensible ( $^{13}\text{C}$  ou

$^{29}\text{Si}$ ). Cette séquence commence par une impulsion  $90^\circ$  à la fréquence du proton, suivie d'un transfert de magnétisation durant un temps de contact choisi par l'expérimentateur puis d'une séquence de découplage du proton. Cette méthode est adaptée dans le cas de l'étude de la matière organique solide telle que celle présente dans nos échantillons car elle contient une quantité significative de protons. Toutefois, les portions moléculaires moins riches en protons (noyaux polyaromatiques ou fonctions carbonylées) sont moins sensibles au transfert de polarisation ce qui rend cette technique difficilement quantitative.



**Figure 6.** Spectres RMN MAS à différentes vitesses de rotation (d'après Herzfeld, 1980)

## V. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est utilisée dans cette étude afin de déterminer qualitativement la composition moléculaire des solutions obtenues après fossilisation. Cette technique apporte des informations sur le nombre de composés formés et permet dans certains cas de remonter à leurs formules brutes.

La spectrométrie de masse employée ici est une spectrométrie de type LC-MS c'est-à-dire que l'analyse en masse proprement dite, réalisée à partir d'un liquide, est précédée d'une séparation par chromatographie. Le point de départ de la spectrométrie de masse est la formation d'ions à partir de la solution à analyser puis la séparation de ces ions selon leur rapport  $m/z$  (=masse/charge). Cette séparation repose sur le fait que des ions de différents  $m/z$  ont des trajectoires différentes dans un champ électromagnétique. Le spectre de masse obtenu donne le nombre d'ions collectés pour chaque valeur de  $m/z$ .

La technique d'ionisation utilisée ici est l'ionisation par électronébulisation (ESI) qui est la plus répandue pour l'analyse de polymères ou de biomolécules (Cole 2010). Celle-ci consiste à pomper un très faible volume du liquide à analyser *via* un capillaire en acier soumis à un champ électrique intense (plusieurs kV) (Fig. 7).

Il en résulte de fines gouttelettes chargées en sortie du capillaire. La charge importante de ces gouttes conduit à leur explosion en gouttes de plus en fines par un

mécanisme appelé explosion coulombique. L'évaporation progressive du solvant conduit alors à la formation d'ions en sortie du nébuliseur qui sont ensuite guidés vers le spectromètre placé sous vide poussé. Cette méthode permet de produire des ions jusqu'à des masses d'environ 1500 ( $m/z$ ) (Skoog et al. 2018). L'analyseur utilisé dans cette étude est un analyseur à temps de vol (TOF) de type réflectron permettant l'obtention de spectres de masse à haute-résolution (HRMS). Dans ce type d'analyseur, les ions réalisent une trajectoire en U dans un champ

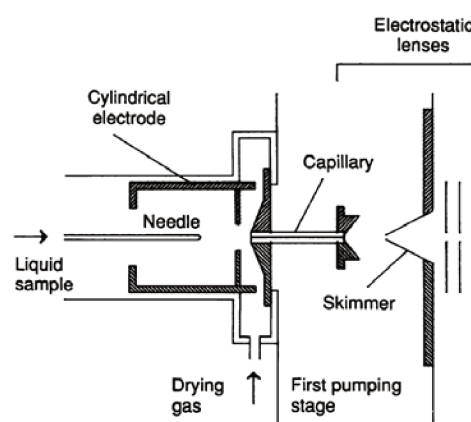
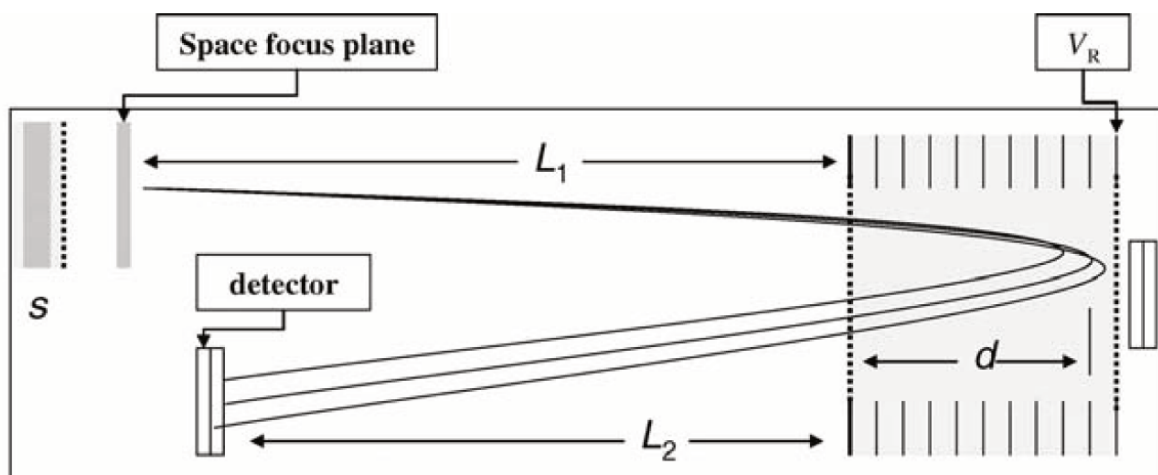


Figure 7. Schéma de principe d'un électronébuliseur (ESI) (D'après Fenn, 1989)



**Figure 8.** Schéma d'un analyseur en temps de vol de type réflectron. En sortie S du nébuliseur les ions sont accélérés puis réfléchis vers le détecteur. (D'après Cole, 2010)

électromagnétique et atteignent le détecteur en un temps directement relié à leur  $m/z$  (Fig. 8). Ce type d'analyseur permet de corriger les éventuelles dispersions en énergie cinétique en sortie du nébuliseur, en particulier pour les ions de masses élevées (Mamyrin et al. 1973). Les caractéristiques de la spectrométrie de masse et en particulier lorsqu'elle est effectuée avec ce genre d'instrument en font une technique extrêmement précise et sensible (Skoog et al. 2018). L'ensemble des mesures de spectrométrie de masse ont été réalisées en ESI-TOF-MS sur le spectromètre Brücker Q-tof Maxis de l'ICOA (Orléans). L'analyse des spectres et l'attribution des pics a été effectuée grâce au logiciel libre mMass ([mmass.org/](http://mmass.org/)) (Strohalm et al. 2008).

## VI. Microscopie électronique

La microscopie électronique permet de réaliser des images à très fort grossissement (jusqu'à  $\times 1,5$  M) et ainsi de documenter la diversité des échantillons de l'échelle mésoscopique à l'échelle atomique. Des techniques de caractérisation y sont associées comme la spectrométrie X à sélection d'énergie (EDS), la spectroscopie en perte d'énergie électronique (EELS) et la diffraction électronique.

### 1. Principe de la microscopie électronique

Contrairement à la microscopie optique qui utilise la lumière visible, le rayonnement utilisé en microscopie électronique est un faisceau d'électrons. La résolution qu'il est permis d'atteindre n'est alors plus limitée par la longueur d'onde de la lumière visible (de l'ordre du  $\mu\text{m}$ ) car les électrons présentent une longueur d'onde de l'ordre du pm. En considérant les électrons d'un point de vue ondulatoire, on peut calculer dans le cadre de la relativité restreinte qu'à une tension d'accélération de 200 kV, leur longueur d'onde de De Broglie est 3,70 pm. Les sources d'émission d'électrons généralement utilisées en microscopie sont des filaments de tungstène (W), des cristaux de  $\text{LaB}_6$  ou des pointes tungstène à effet de champ (FEG). L'utilisation de ces dernières permet d'augmenter la brillance, la cohérence et la stabilité du faisceau.

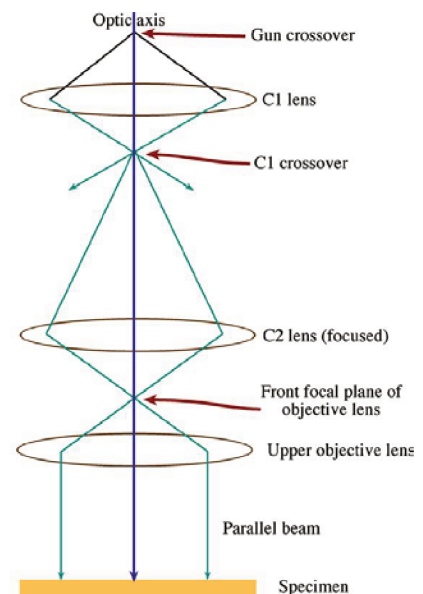
Historiquement, les premiers microscopes électroniques présentent la même construction générale (objectif, diaphragmes...) et reposent sur les mêmes principes optiques qu'un microscope optique (Knoll and Ruska 1932). Les lentilles utilisées sont des bobines électromagnétiques qui permettent de faire converger le faisceau d'électrons. A la différence d'une lentille en verre, leur distance focale peut être modifiée (comme pour l'œil) par le microscopiste en jouant sur les courants de lentille.

## 2. Microscopie électronique en transmission (MET)

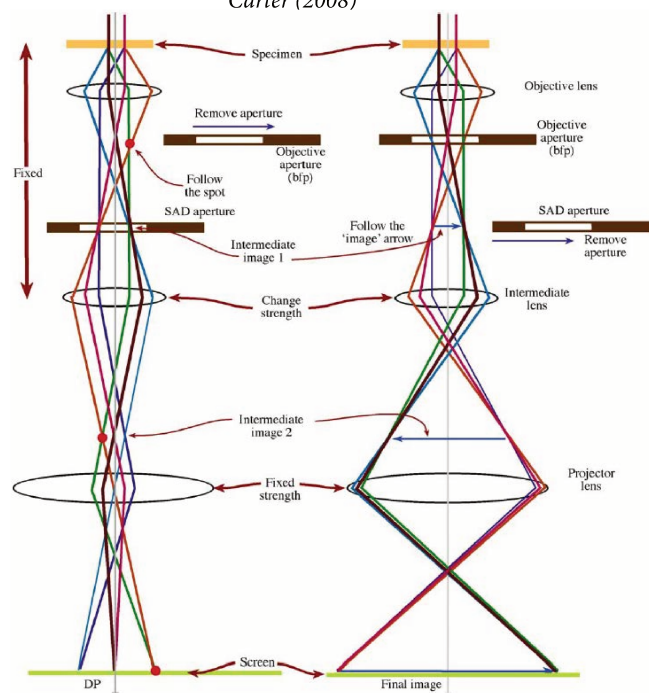
La microscopie électronique en transmission (MET) est utile pour réaliser des images à très fort grandissement d'échantillons suffisamment minces pour être traversés par un faisceau d'électrons (en général moins de 100 nm). La résolution accessible est de l'ordre de l'angström et permet donc d'obtenir des informations sur le réseau cristallin.

Le faisceau émis par la source (filament W, cristal LaB<sub>6</sub> ou pointe FEG) passe d'abord dans le système condenseur (C1, C2) (Fig. 9) afin de contrôler son parallélisme ou sa convergence, sa taille (faisceau large ou nanosonde) et d'ajuster les conditions d'éclairage par

la sélection d'une combinaison adaptée de diaphragmes. La lentille objectif, placée quelques millimètres avant l'échantillon, permet ensuite de réaliser la mise au point et détermine la résolution de l'image. Cette image est par la suite agrandie par une série de lentilles intermédiaires puis projetée sur un écran fluorescent ou une caméra CCD par un système de lentilles projectrices. Le mode d'observation le plus classique en MET consiste à éclairer l'échantillon à l'aide d'un faisceau quasi-parallèle, c'est le mode champ clair (Fig. 9). Le faisceau traverse alors l'échantillon et interagit avec lui. L'interaction électron-matière en MET est notamment caractérisée par des phénomènes de



**Figure 9.** Configuration optique d'un MET en mode champ clair. D'après Williams and Carter (2008)



**Figure 10.** Configurations des lentilles projectrices permettant la visualisation d'un cliché de diffraction (à gauche) ou d'une image de l'échantillon en contraste de diffusion (à droite). D'après Williams and Carter (2008)

Le faisceau traverse alors l'échantillon et interagit avec lui. L'interaction électron-matière en MET est notamment caractérisée par des phénomènes de

diffusion élastique (i.e. sans perte d'énergie mais avec forte déviation spatiale) ou inélastique (i.e. avec perte d'énergie et faible déviation) (**Williams and Carter 2008**). Dans le cas de la diffusion élastique, l'angle de déviation avec lequel les électrons ressortent de l'échantillon est susceptible d'apporter des informations cristallographiques, c'est la diffraction. En effet, la diffusion des électrons par des matériaux périodiques redistribue le rayonnement dans des directions particulières vérifiant la loi de Bragg. Selon la configuration des lentilles projectrices (Fig. 10), il est donc possible de visualiser (i) une image de l'échantillon (= mode champ clair) ou (ii) une image du plan de convergence des rayons diffusés formant ainsi un cliché de diffraction.

Afin de donner du sens aux images formées en MET, il est important de comprendre l'origine du contraste. Contrairement à la microscopie optique où le contraste observé est un contraste d'absorption principalement lié à l'épaisseur de l'échantillon, le contraste en MET est un contraste de diffusion. En effet, dans le cas d'un échantillon suffisamment fin, la quasi-totalité des électrons traversent l'échantillon. En revanche, les phénomènes de diffusion élastique liés à l'interaction des électrons avec l'échantillon provoquent des changements de leurs directions. Il est alors probable qu'une partie d'entre eux soient déviés d'un angle supérieur à la demi-ouverture du microscope et n'atteignent donc jamais le détecteur. Les zones les plus sombres en MET sont donc les zones qui diffusent le plus les électrons (**Egerton 2005**). Dans le cas général, les zones qui diffusent le plus sont les plus épaisses ou celles composées d'atomes de numéro atomique  $Z$  élevé. On parle alors de contraste en masse-épaisseur (**Egerton 2005**).

Concernant le mode diffraction, les clichés obtenus correspondent à des visualisations de l'espace réciproque. Il est possible à partir des distances  $R$  mesurées sur ces graphes de remonter aux angles de déviation  $\theta$  si l'on connaît la distance entre l'échantillon et le détecteur, appelée longueur de caméra  $L$  :

$$R = L \tan \theta \quad (10)$$

La connaissance de ces angles de déviation permet alors de calculer les distances interréticulaires  $d_{hkl}$  auxquelles ils correspondent en utilisant la loi de Bragg :

$$2d_{hkl} \sin \theta = n\lambda \quad (11)$$



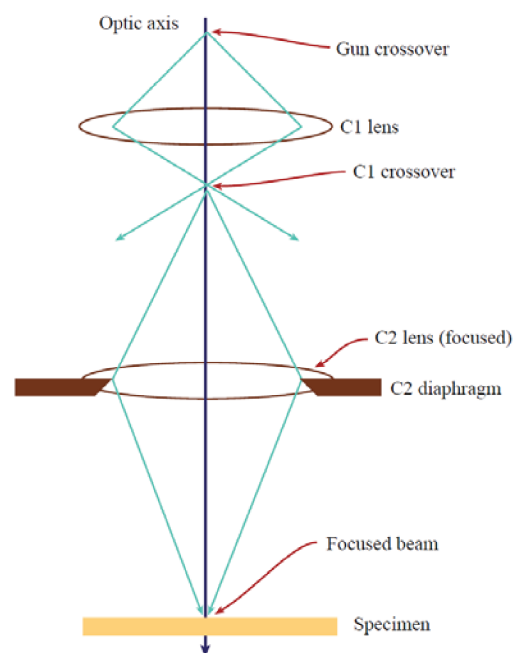
(où  $\lambda$  est la longueur d'onde (relativiste) des électrons, soit 3,70 pm à 200 kV).

Les clichés réalisés au cours de cette étude ont été acquis en utilisant un diaphragme de sélection d'aire (SAED) afin de collecter uniquement les électrons traversant les phases d'intérêt et avec une longueur de caméra de 30 cm.

Le microscope utilisé dans cette étude est un JEOL 2100F à canon à effet de champ (pointe FEG) situé à l'IMPMC (Paris) et fonctionnant à 200 kV. Les matériaux argileux étant très sensibles au faisceau d'électrons, les images de ces matériaux (partie 4) ont été réalisées sur le microscope JEOL 2100 de l'IMPMC doté d'un canon à pointe LaB<sub>6</sub> dont le faisceau est moins brillant et permettant ainsi un meilleur contraste.

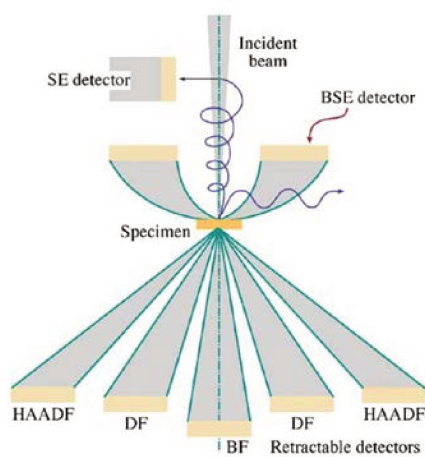
### 3. STEM-HAADF

Le mode STEM (*Scanning Transmission Electron Microscopy*) est utilisé pour former des images à l'aide d'une sonde nanométrique parcourant la zone de l'échantillon à analyser. Cette sonde est formée dans un MET à l'aide d'un faisceau d'électrons convergent sur l'échantillon (Fig. 11). Comme en mode champ clair, les électrons sont transmis et diffusés à travers l'échantillon. Le plus souvent, un détecteur annulaire HAADF (*High Angle Annular Dark Field*) est utilisé afin de collecter uniquement les électrons les plus déviés (Fig. 12). Les zones qui diffusent le plus apparaissent donc claires et le reste est noir (le



**Figure 11.** Configuration optique d'un STEM. D'après Williams and Carter (2008)

STEM-HAADF est une microscopie en champ sombre). L'avantage principal de collecter les électrons fortement déviés vient du fait que la probabilité de déviation par diffusion élastique



**Figure 12.** Différents détecteurs utilisés en MET pour collecter les électrons diffusés. D'après Williams and Carter (2008)

est proportionnelle à  $Z^2$  (avec  $Z$  le numéro atomique) (Egerton 2005). Le contraste en STEM-HAADF est donc un contraste de nature chimique.

Dans la pratique, la sonde effectue un balayage de la zone à analyser. La synchronisation du détecteur permet alors de reconstruire numériquement une image. L'utilisation d'une sonde STEM présente également l'intérêt de créer à un instant donné un petit volume dans lequel ont lieu les interactions électron-matière et ainsi de permettre la réalisation de spectroscopies (EDS, EELS...) résolues spatialement.

Les images effectuées en STEM-HAADF et présentées dans cette étude ont été réalisées sur le MET FEG FEI Titan Themis 300 du CCM (Lille) fonctionnant sous une tension de 300 kV.

#### 4. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage utilise les mêmes sources d'électrons qu'en MET et repose sur les mêmes principes optiques. A la différence du MET, le microscope électronique à balayage permet d'analyser des échantillons épais qu'il n'est pas nécessaire de traverser avec le faisceau. Ceci est possible car l'interaction électron-matière conduit à l'éjection d'électrons secondaires et rétrodiffusés dans le sens inverse du faisceau. Les électrons secondaires sont des électrons de l'échantillon peu liés aux noyaux et présents dans les bandes de valence. Un phénomène de diffusion inélastique mettant en jeu un électron du faisceau (= électron primaire) est susceptible de leur transférer suffisamment d'énergie pour qu'ils s'échappent du solide. Etant d'énergies variables et incohérents, il est impossible de faire passer ces électrons dans un système de lentilles. Le seul moyen de les utiliser pour former des images est de réaliser une sonde en focalisant le faisceau sur l'échantillon (comme en STEM) et de collecter les

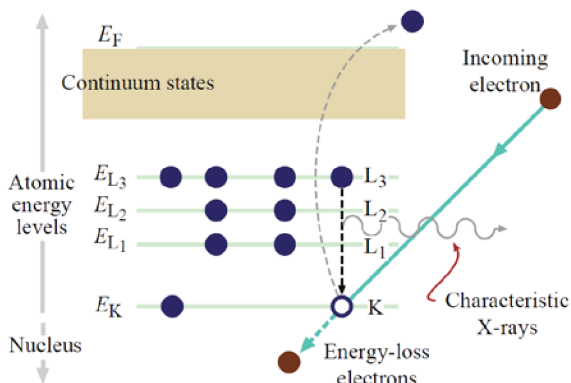
électrons secondaires produits à l'aide d'un détecteur. Le balayage de la sonde sur la zone à analyser permet alors de reconstruire numériquement des images. L'émission de ces électrons est peu dépendante de la nature de l'échantillon mais il est nécessaire que celui-ci soit suffisamment conducteur. Pour cela, certains échantillons ont été métallisés par évaporation sous vide de carbone amorphe. L'analyse en MEB par détection des électrons secondaires est une méthode de choix pour réaliser des images de la topographie de surface des échantillons.

Les images MEB de cette étude ont toutes été réalisées en imagerie des électrons secondaires entre 1,2 et 3 kV sur le MEB FEG Zeiss Ultra 55 de l'IMPMC (Paris). Cet instrument est muni de 2 détecteurs d'électrons secondaires, l'un étant placé loin de l'échantillon et orienté à 45° et permettant de collecter les électrons secondaires les plus énergétiques (SE2) et l'autre placé très près de l'échantillon directement dans la lentille objectif (SE1). La plupart des images de cette étude ont été obtenues par un mixage des signaux provenant des détecteurs SE1 et SE2.

## VII. Spectroscopie EDS et cartographies de composition chimique

### 1. Spectroscopie EDS

#### a. Principe physique



**Figure 13.** Processus d'ionisation d'un atome par éjection d'un électron de cœur et retour à l'état fondamental par émission d'un photon X (d'après Williams and Carter, 2008)

L'émission de rayons X est l'un des processus les plus importants de l'interaction électron-matière en microscopie électronique. Deux types de rayons X peuvent être produits : (i) les rayons X caractéristiques de transitions électroniques, intéressants en analyse élémentaire, (ii) le rayonnement de freinage ou *Bremsstrahlung*.

Dans un MEB comme dans un MET, l'énergie des électrons (de l'ordre de plusieurs keV à plusieurs centaines de keV) est suffisante pour éjecter des électrons de cœur des atomes de l'échantillon et créer ainsi un trou dans un niveau de cœur. Les atomes ionisés se trouvent alors dans un état

excité et retournent à l'état fondamental par la descente d'un électron de valence vers le niveau de cœur vacant, ce qui s'accompagne de l'émission d'un photon X dont l'énergie correspond à la transition entre les 2 niveaux (Fig. 13). Ces transitions entre niveaux d'énergie sont caractéristiques de l'élément considéré et permettent donc son identification. En fonction de la couche électronique de l'électron de cœur arraché, les transitions seront désignées par les lettres K, L et M (**Williams and Carter**

**Tableau 2.** Raies d'émission X de différents éléments d'après la base de données Hyperspy

Element	Type raie	Energies (keV)
C	K <sub>α</sub>	0,227
N	K <sub>α</sub>	0,392
O	K <sub>α</sub>	0,525
Na	K <sub>α</sub>	1,041
Mg	K <sub>α</sub>	1,254
Al	K <sub>α</sub>	1,485
Si	K <sub>α</sub>	1,740
P	K <sub>α</sub>	2,013
Ca	K <sub>α</sub> , K <sub>β</sub>	3,692 ; 4,013

2008). Le tableau 2 présente les transitions des éléments rencontrés au cours de cette étude. Toutes les transitions n'étant pas équiprobables, seules les plus intenses sont reportées et ont été utilisées pour l'identification des éléments. Le spectre EDS correspondant au comptage des photons X émis se compose donc de raies fines correspondant aux différents éléments de l'échantillon.

A cela, s'ajoute les photons X provenant du *Bremsstrahlung*. Leur origine provient de l'interaction inélastique entre les électrons incidents et les noyaux de l'échantillon lors de laquelle de l'énergie est dissipée sous forme d'un rayonnement d'énergie variable. Ceci crée une composante continue dans le spectre EDS dont l'intensité diminue avec l'énergie. Cette composante, importante à basse énergie et plus visible en MEB qu'en MET, doit être prise en compte lors de la modélisation des spectres pour quantifier correctement les éléments légers.

#### b. Acquisition

Les photons X émis par l'échantillon après interaction avec le faisceau sont collectés à l'aide d'un détecteur constitué d'une diode en silicium. Le bruit électronique d'un tel composant étant trop élevé à température ambiante pour effectuer de la spectroscopie, la diode est refroidie grâce à un réservoir d'azote liquide (en MET) ou par une cellule à effet Peltier (en MEB). Chaque photon arrivant sur le détecteur provoque une impulsion électrique dépendant de l'énergie du photon. Après avoir découpé la gamme d'énergie en un certain nombre de canaux (en général 2048), il est possible de compter le nombre de photons reçus par canal. Le spectre EDS est alors l'accumulation de tous les photons reçus pour chaque pas d'énergie.

Les analyses EDS sont généralement effectuées en MEB ou en STEM-HAADF c'est-à-dire avec des techniques permettant le balayage d'une sonde. Il est donc possible d'obtenir des données EDS résolues spatialement sous forme de cartographies. Les cartographies EDS sont des données hyperspectrales faisant correspondre à chaque pixel de l'image un spectre EDS, chaque pixel de l'image étant repéré par ses coordonnées (X,Y). Le nombre de pixels de l'image dépend de la résolution et de la taille de l'image choisie. Compte-tenu du nombre important de pixels

(par exemple une image 512x512 compte 262 144 pixels), le temps passé à compter sur chacun n'est donc qu'une très faible fraction du temps total de mesure. L'acquisition doit donc être suffisamment longue pour envisager des analyses statistiques ultérieures ou des quantifications.

Les cartographies EDS de la partie 4 cette étude ont été collectées sur le MET FEG FEI Titan Themis 300 du CCM (Lille), muni de 4 détecteurs EDS sans fenêtre (configuration optimisée pour les éléments légers) et fonctionnant sous une tension de 300 kV. L'acquisition, le traitement et l'interprétation de ces données ont été réalisés avec l'aide de Corentin Le Guillou (UMET, Lille).

Les données présentées dans la partie 3 ont été réalisées sur le MET FEG JEOL 2100F de l'IMPMC (Paris), muni d'un unique détecteur EDS à fenêtre en béryllium et fonctionnant à 200 kV, et sur le MEB FEG Zeiss Ultra 55 de l'IMPMC (Paris) à 15 kV.

## 2. Manipulation de données EDS hyperspectrales, code *Hyperspy*

Le code libre *Hyperspy* permet de manipuler et d'exploiter des données brutes hyperspectrales comme des cartographies EDS (<https://hyperspy.org/>) (de la Peña et al. 2018). Son intérêt est de permettre la maîtrise de toutes les étapes du traitement de données depuis l'ouverture des données brutes jusqu'au tracé des cartes de composition chimique en passant par la quantification des compositions. Les fichiers de données EDS produits par les instruments contiennent des métadonnées (résolution du détecteur, position de la platine, tension d'accélération, grossissement...) qu'il est possible d'ouvrir et d'interpréter avec *Hyperspy*. Les données hyperspectrales proprement dites sont compartimentées en deux espaces : l'espace navigation et l'espace signal. Dans le cas de données EDS, l'espace de navigation usuel est le plan de l'image (muni d'un système de coordonnées X,Y) et l'espace signal est le spectre EDS (muni d'un axe gradué en énergie) (Fig. 14). A l'ouverture du signal, la première étape consiste à ré-échantillonner les données de façon à s'assurer qu'elles sont exploitables ; en particulier, si le nombre de coups par pixel est insuffisant, il convient de diminuer la résolution de l'image en

fusionnant des pixels. Afin de diminuer le temps de calcul lors des traitements ultérieurs, le nombre de canaux de l'espace signal (spectre EDS) est également systématiquement ré-échantillonné sur 1024 canaux et un masque est appliqué sur les zones vides de l'image. Pour améliorer la précision des traitements statistiques, un modèle est ajusté aux données. Pour cela, le bruit de fond est modélisé par un polynôme et chaque pic est modélisé par une gaussienne dont la position en énergie est recalibrée par rapport à des pics de référence. La structure du modèle reste la même que les données brutes : un espace navigation (plan X,Y de l'image) et un espace signal (spectre EDS en énergie).

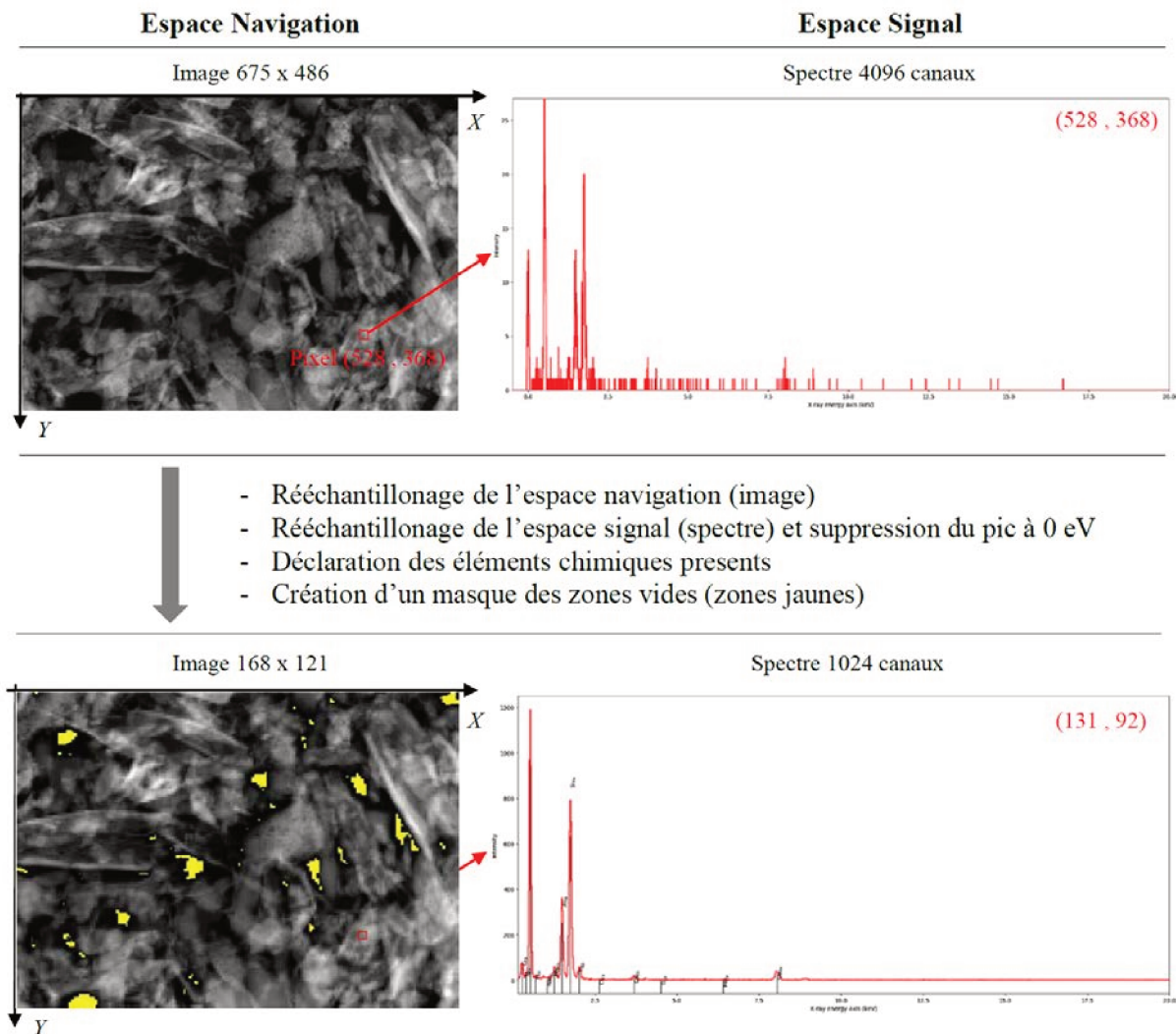


Figure 14. Ouverture et rééchantillonnage d'une donnée hyperspectrale EDS

La quantification en EDS consiste à déterminer en chaque pixel la fraction atomique  $x_i$  de chaque élément chimique  $i$  présent dans l'échantillon. Le signal correspondant au spectre EDS est donc transformé en un  $n$ -uplet des valeurs comprises entre 0 et 1 correspondant à chaque fraction atomique  $x_i$ , où  $n$  est le nombre d'éléments chimiques considérés. Il est possible à partir de cette nouvelle donnée d'effectuer des analyses statistiques pour identifier des stœchiométries correspondant aux différentes phases présentes dans l'échantillon. Ce paragraphe décrit la procédure utilisée pour transformer les spectres EDS en  $n$ -uplets de fractions atomiques.

A cause de la réabsorption par l'échantillon des rayons X de basse énergie produits par les éléments légers (ici C, N, O), la quantification des éléments légers pose problème (et en conséquence celle de tous les autres éléments, les fractions atomiques étant toutes dépendantes les unes des autres). Il est donc nécessaire de corriger ces phénomènes d'absorption ce qui suppose de connaître l'épaisseur de l'échantillon en chaque pixel (**Banchet et al. 2003**).

a. Cartes d'épaisseur obtenues par spectroscopie EELS

Les échantillons de cette étude étant des poudres de différents minéraux relativement fins, l'épaisseur de l'échantillon en chaque pixel a été estimée par la méthode d'intégration du pic élastique (*zero-loss peak*) en spectroscopie de perte d'énergie électronique (EELS) (**Banchet et al. 2003; Egerton 2011**).

La spectroscopie EELS consiste à analyser la distribution en énergie d'un faisceau d'électrons initialement monochromatique après interaction avec un échantillon. Dans le cas plus simple, le faisceau est perpendiculaire à l'échantillon et est en grande partie transmis vers un spectromètre. Ce spectromètre permet de trier les électrons incidents en fonction de leur énergie cinétique. Cette technique est réalisée dans un MET produisant une source brillante et monochromatique d'électrons. Deux processus d'interaction électrons-matière permettent d'expliquer l'allure des spectres obtenus en EELS : (i) la diffusion élastique des électrons par les noyaux qui n'impliquent aucune perte d'énergie mais seulement un changement de direction

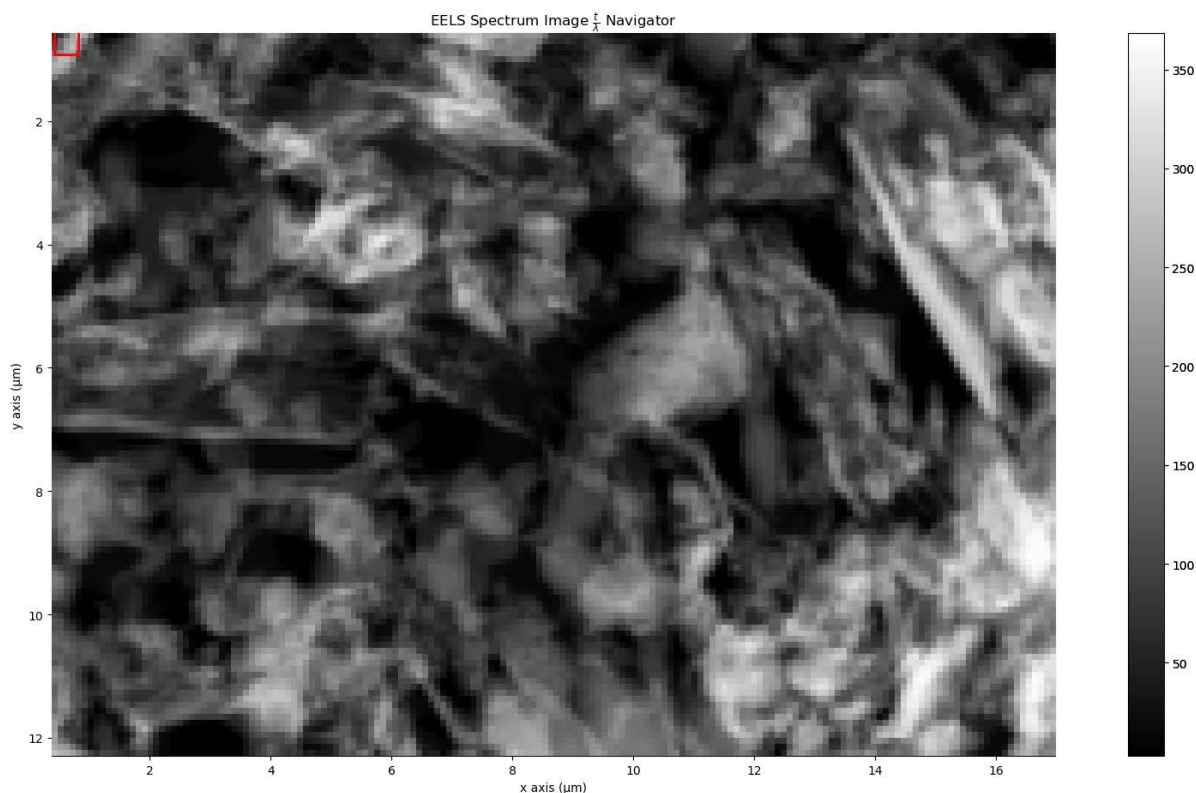


(déflexion), et (ii) la diffusion inélastique par le nuage électronique des atomes traversés qui conduit à une perte d'énergie cinétique de l'électron incident. Les électrons incidents peuvent également transférer de l'énergie à un ensemble d'électrons du réseau provoquant alors l'activation de modes d'oscillation collective appelées résonances plasmon. Ces résonances provoquent une perte d'énergie cinétique comprise entre 5 et 30 eV et sont responsables d'un pic EELS large à ces énergies. Si l'on assimile l'interaction inélastique à une collision, la probabilité que celle-ci intervienne au sein de l'échantillon fait intervenir l'épaisseur  $t$  de l'échantillon et le libre parcours moyen  $\lambda$ . Par application d'une loi de Poisson-Boltzmann, on peut montrer que :

$$t/\lambda = \ln(I_t/I_0) \quad (12)$$

avec  $I_t$  l'intensité totale (intégrée sur toute la gamme d'énergie) et  $I_0$  l'intégration du pic élastique.

En calculant la grandeur  $\ln(I_t/I_0)$  pour chaque pixel à partir d'une cartographie EELS, il est donc possible d'estimer la valeur de  $t/\lambda$  en chaque pixel. La valeur de  $t$  (=épaisseur absolue en nm) est obtenue soit en connaissant précisément l'épaisseur de l'échantillon en un pixel soit en utilisant



**Figure 15.** Carte d'épaisseur obtenue en EELS par intégration en chaque pixel du pic élastique rapporté à celui des plasmons. Le niveau de gris correspond à une échelle d'épaisseur en nm (voir échelle de droite)

l'approximation classique :  $\lambda \sim 0,8 E_0$  avec  $\lambda$  le libre parcours moyen de l'électron en nm et  $E_0$  l'énergie des électrons incidents en keV (Egerton 2011).

Dans notre cas, ces analyses ont été effectuées sur le MET FEG FEI Titan Themis 300 fonctionnant à 300 kV (CCM, Lille). La carte d'épaisseur  $t$  obtenue à l'aide d'une calibration des pixels de la membrane est présentée Fig. 15.

#### b. Quantification et correction d'absorption

La méthode d'analyse quantitative des compositions chimiques utilisée ici repose sur la méthode dite de Cliff-Florimer (Cliff and Lorimer 1975). Cette méthode consiste à exprimer des rapports de fraction atomique ou de fraction massique d'éléments pris deux à deux. On montre expérimentalement que pour tout élément  $i$  de l'échantillon ce rapport est proportionnel au rapport des intégrales des pics correspondant à  $i$  et à un élément B (un élément pris comme référence) et s'écrit pour les fractions atomiques :

$$\frac{x_i}{x_B} = k_{iB} \frac{I_i}{I_B} \quad (13)$$

avec  $k_{AB}$  le facteur de Cliff-Lorimer (ou *k-factor*) qui dépend des conditions d'acquisition (détecteur, tension d'accélération, géométrie du microscope...). Ces valeurs sont déterminées expérimentalement à l'aide d'échantillons standards. Pour chaque élément  $i$  présent dans l'échantillon, il est possible d'écrire une équation telle que l'équation (13). Pour un échantillon à  $N$  éléments, ceci conduit donc à  $N-1$  équations puisqu'un élément est à chaque fois pris comme référence. La résolution mathématique du système permettant la détermination des  $N$  fractions atomiques  $x_i$  est alors possible en considérant :

$$\sum_{i=1}^N x_i = 1 \quad (14)$$

Pour les échantillons de cette étude, il apparaît une difficulté venant du fait que cette méthode n'est valable que dans l'hypothèse d'un échantillon très fin et d'épaisseur constante. De façon simplifiée, on peut exprimer l'intensité mesurée  $I_i^{mes}$  pour un élément  $i$  en fonction de l'intensité hypothétique  $I_i^{cor}$  à épaisseur nulle et corrigée de tous les phénomènes d'absorption (**Banchet et al. 2003**) :

$$I_i^{cor} = I_i^{mes} g(t, x_i, d) \quad (15)$$

en introduisant une fonction  $g$  dépendante de l'épaisseur  $t$ , des fractions atomiques  $x_i$  et de la densité  $d$  du parcours des rayons X entre leur point d'émission et l'échantillon. Le calcul des  $x_i$  corrigés se fait alors numériquement de manière itérative. A l'aide de la valeur de l'épaisseur  $t$  déterminée en EELS (voir § précédent) et des  $x_i$  calculés par la formule de Cliff-Lorimer (13), et en faisant l'hypothèse d'une densité moyenne de 2,5 pour nos matériaux, on calcule les  $I_i^{cor}$ . Ces valeurs sont alors utilisées pour recalculer les  $x_i$  via l'équation (13) et ainsi de suite, jusqu'à ce que l'algorithme converge vers les valeurs  $x_i$  corrigées. Ceci est réalisé en chaque pixel puis une liste de  $n$  cartes (une carte par élément chimique) représentant la fraction atomique de l'élément en chaque pixel est construite, constituant ainsi le modèle quantifié.

### 3. Identification des phases par analyse statistique

L'analyse statistique des données quantifiées obtenues précédemment permet de prévoir le nombre de compositions différentes dans l'échantillon et d'en déduire les stœchiométries correspondantes. Cette analyse est particulièrement intéressante dans le cas de nos échantillons qui sont des mélanges de plusieurs phases, dont en particulier des aluminosilicates de compositions variables. De plus, ces phases sont fréquemment superposées en chaque pixel. Notre procédure d'analyse consiste donc à (1) quantifier les éléments en chaque pixel (voir §2.), (2) identifier les pôles purs correspondant aux différentes phases de l'échantillon et (3) établir une cartographie représentant les fractions de mélange en chaque pixel.

L'analyse en composantes principales (PCA) des données quantifiées conduit à la visualisation des différentes contributions à la variance du signal. Un signal recombinaison est alors créé en prenant une combinaison linéaire des spectres correspondant aux principales composantes obtenues par PCA (on rappelle qu'à ce stade, un spectre est un  $n$ -uplet de fractions atomiques). Le signal obtenu est alors débarrassé des contributions de la variance de faibles amplitudes. Cette méthode correspond ainsi à une procédure statistique d'atténuation du bruit. Le signal débruité est ensuite séparé en plusieurs composantes par une procédure dite de *blind source separation* (BSS) (Hyvärinen and Oja 2000; de la Peña et al. 2011). A ce stade, la majeure partie des pixels sont des mélanges entre plusieurs pôles purs. Pour chaque composante, il est alors nécessaire de rechercher les pixels pour lesquels la composante est la plus pure possible. Afin d'établir une cartographie de phase mettant en évidence les pourcentages de mélanges entre pôles purs en chaque pixel, on réalise un ajustement des compositions par combinaison linéaires des compositions de pôles purs. Cette opération, appelée régression linéaire multi-variables (MLLS), peut être répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention de spectres moyens physiquement satisfaisants. Ces spectres finaux, formés par un  $n$ -uplet de fractions atomiques, sont alors considérés comme les compositions chimiques des différentes phases identifiées.

L'obtention de cartes de phases dans lesquelles chaque couleur représente une composante, nécessite de fixer arbitrairement un seuil pour chaque composante correspondant à la fraction minimale nécessaire pour faire apparaître sa couleur dans un pixel (ex : fixer un seuil à 0,5 pour SiO<sub>2</sub> signifie qu'on n'affichera pas la couleur de SiO<sub>2</sub> dans tous les pixels où SiO<sub>2</sub> est présent à moins de 50%). Un exemple complet de ces seuils est consultable dans l'annexe 3.

Le script complet utilisé pour obtenir les compositions et les cartes de compositions chimiques de la partie 4 est disponible dans l'annexe 3. Les données EDS présentées dans les autres parties (et notamment les données EDS obtenues au MEB) ont été obtenues avec des versions simplifiées de ce script et ne comportent pas de quantification.

## VIII. STXM-XANES

La microscopie STXM et la spectroscopie XANES au seuil du carbone sont utilisées dans cette étude afin de fournir des informations moléculaires à l'échelle microscopique. Leur mise en œuvre nécessite l'utilisation d'un rayonnement X très brillant et cohérent qui ne peut être obtenu que sur un synchrotron.

### 1. Le rayonnement synchrotron

Un synchrotron est un grand instrument permettant l'émission de rayons X par l'intermédiaire d'électrons relativistes (proches de la vitesse de la lumière) soumis à une accélération centripète (Bessière 1996). L'obtention d'une trajectoire circulaire est réalisée par la présence de dipôles magnétiques le long de la trajectoire. Le rayonnement produit est appelé rayonnement synchrotron et il est tangent à la trajectoire des électrons (Fig. 16). Par application des équations de Maxwell, la puissance  $P$  rayonnée par un électron dans un synchrotron s'écrit :

$$P = \frac{2}{3} \frac{e^2}{m^2 c^3} \left( \frac{E}{mc^2} \right) \left( \frac{d\vec{p}}{dt} \right)^2 \quad (16)$$

avec dans le cas d'une trajectoire circulaire :

$$\left( \frac{d\vec{p}}{dt} \right)^2 = \omega_0^2 p^2 = \frac{\omega_0}{R} \beta^3 E^2 \quad (17)$$

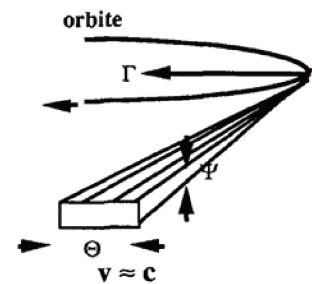


Figure 16. Rayonnement synchrotron tangent à la trajectoire des électrons relativistes (d'après Bessière, 1996)

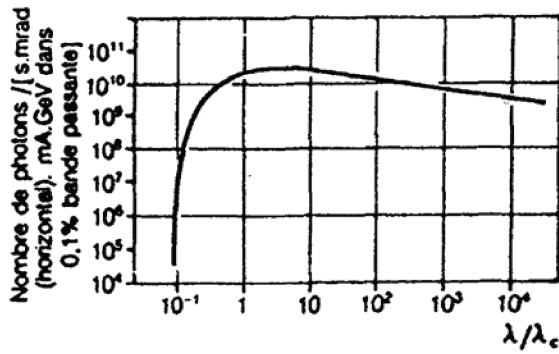


Figure 17. Spectre continu (« blanc » polychromatique) d'un rayonnement synchrotron produit par des électrons à 1 GeV (d'après Bessière, 1996)

rayonnement émis se traduit par un spectre continu dont l'allure est donnée Fig. 17. La longueur d'onde critique  $\lambda_c$  séparant la puissance émise en deux parties égales est liée à l'énergie  $E$  du faisceau par la relation :

$$\lambda_c(\text{\AA}) = \frac{18,64}{B(T) E^2(\text{GeV})} \quad (18)$$

Pour des aimants de l'ordre d'une dizaine de tesla, l'énergie du faisceau nécessaire à la production de rayons X dans un synchrotron est donc de l'ordre du GeV.

La production d'un faisceau d'électrons d'une telle énergie est réalisée en plusieurs étapes (Fig. 18). Dans le cas du Synchrotron SOLEIL, les électrons produits par un canon à électrons sont d'abords accélérés à 100 MeV dans un accélérateur linéaire (LINAC). Ce faisceau est ensuite

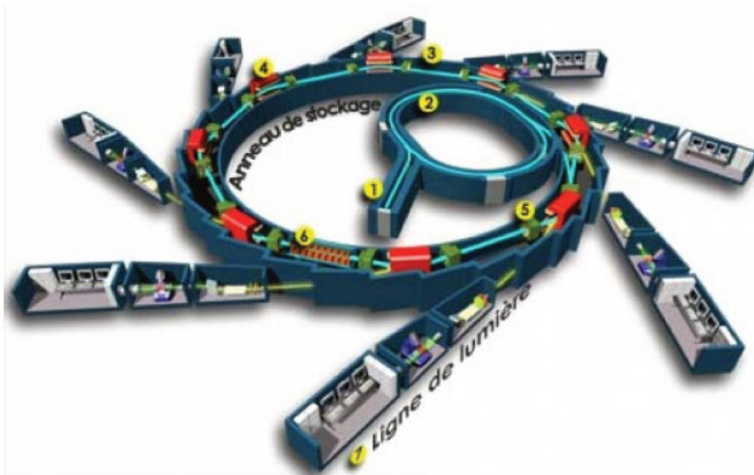


Figure 18. Schéma du synchrotron SOLEIL. (1) LINAC (2) Booster (3) Anneau de stockage (4) Onduleurs, wigglers et dipôles produisant le rayonnement synchrotron (5) Cavités radiofréquence compensant l'énergie perdue au cours du stockage (6) Elements d'optiques dirigeant le rayonnement synchrotron vers les stations de travail (7) Lignes de lumière et stations de travail (d'après [synchrotron-soleil.fr](http://synchrotron-soleil.fr))

où  $E$  est l'énergie du faisceau,  $\omega_0$  la vitesse angulaire de l'électron,  $\beta$  la vitesse réduite et  $R$  le rayon de courbure de la trajectoire (Schwinger 1949). L'obtention d'un rayonnement brillant suppose donc l'utilisation d'énergies importantes, d'une courbure suffisante et d'une vitesse relativiste (de façon à ce que  $\beta = v/c \sim 1$ ). Dans ce cas, le

dirigé vers un premier accélérateur circulaire amenant les électrons à 2,75 GeV (Booster). Ces électrons sont alors injectés dans l'anneau de stockage (113 m de diamètre à SOLEIL) et effectuent des révolutions pendant plusieurs heures. Des éléments magnétiques (aimants de

courbure et onduleurs) sont placés tout le long de l'anneau et permettent de collecter le rayonnement synchrotron qui est ensuite envoyé sur différentes lignes.

La ligne sur laquelle les données STXM de cette étude ont été collectées est la ligne HERMES du synchrotron SOLEIL (Saint-Aubin). Cette ligne reçoit un faisceau de rayons X mous de très forte brillance produit par un onduleur. Dans le cadre de cette étude, elle a été utilisée dans le but de réaliser des spectres XANES au seuil du carbone.

## 2. Microscopie STXM

L'utilisation de rayons X est intéressante en microscopie car leur longueur d'onde très courte (de l'ordre du nm) permet d'atteindre théoriquement des résolutions bien meilleures que la microscopie optique. Cependant, l'utilisation de lentilles n'est pas possible avec des rayons X car l'indice de réfraction de la plupart des matériaux pour les rayons X est très proche de 1. Un moyen commode de contourner ce problème est l'utilisation d'éléments d'optique basés sur des phénomènes de diffraction comme les lentilles de Fresnel. Une telle lentille, constituée d'anneaux concentriques espacés d'une distance caractéristique de l'ordre de la longueur d'onde (ici quelques nm), produit une série d'anneaux de diffraction. Un diaphragme particulier (*OSA order sorting aperture*) placé après la lentille de Fresnel permet de sélectionner l'anneau d'ordre 1 et ainsi de focaliser le faisceau sur l'échantillon (Fig. 19). L'absorption de la zone de l'échantillon traversée par le faisceau peut alors être mesurée à l'aide d'un détecteur. Cette technique sonde donc une très petite surface de l'échantillon et permet donc, en balayant la zone de la même façon qu'en STEM ou en MEB, de reconstruire numériquement une image à haute résolution (jusqu'à 15 nm). Le contraste des images obtenu est donc un contraste en absorption. L'absorption se définit comme :

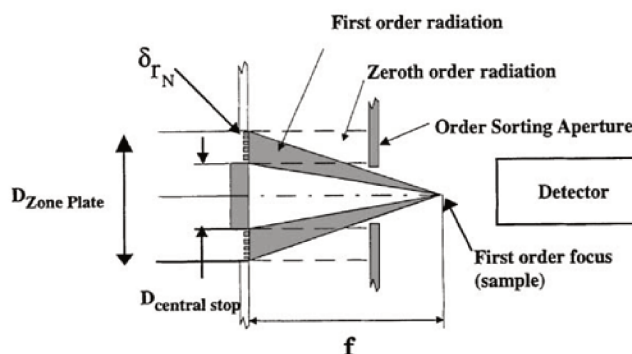
$$A = \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) \quad (19)$$

Avec  $I_0$  l'intensité du faisceau incident et  $I$  l'intensité du faisceau transmis au détecteur.

Elle est reliée à l'épaisseur  $t$  de l'échantillon par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \mu \rho t \quad (20)$$

Avec, au point  $(x, y)$  considéré,  $\mu(x, y)$  le coefficient d'absorption massique ( $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ),  $\rho(x, y)$  la masse volumique ( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ) et  $t(x, y)$  l'épaisseur (cm).



**Figure 19.** Focalisation du faisceau de rayons X sur l'échantillon par l'intermédiaire d'une lentille de Fresnel et d'un diaphragme (OSA). D'après Hitchcock 2001

### 3. Spectroscopie XANES et traitement de données hyperspectrales

L'intérêt de la microscopie X (STXM) est de permettre de réaliser, simultanément à la collecte d'images, des mesures de spectroscopie d'absorption X. En particulier, la capacité à produire sur synchrotron des rayonnements très monochromatiques permet de sonder avec une excellente résolution spectrale la matière à des énergies proches des seuils d'ionisation des éléments et de réaliser ainsi de la spectroscopie de structure fine comme le XANES (*X-Ray Absorption Near Edge Structure*).

#### a. Acquisition

A l'aide d'un monochromateur, il est possible de réaliser sur une ligne STXM une série d'images d'une même zone à différentes énergies. Les données collectées sont donc sous la forme d'une série d'images (ou *stack*) comprenant autant d'images que d'énergies explorées. En utilisant un



logiciel adapté au traitement de ce genre de données hyperspectrales, il est alors possible d'en extraire un spectre d'absorption (i.e. l'évolution de l'absorption en fonction de l'énergie du faisceau incident).

Les données collectées au cours de cette étude ont été traitées à l'aide du logiciel Axis2000 (<http://unicorn.mcmaster.ca/>). Celui-ci permet dans un premier temps d'aligner l'ensemble des images du *stack* afin de corriger d'éventuels déplacements en cours d'acquisition. En utilisant les zones de l'image absorbant très peu le faisceau, il est possible de déterminer la valeur de  $I_0$  pour chaque énergie (équivalent à « faire le blanc »). A partir des valeurs de  $I$  mesurées, il est alors possible de calculer l'absorption  $A$  en n'importe quelle zone de l'image et pour toutes les énergies (i.e. générer un spectre XANES). Les spectres XANES présentés dans cette étude ont été réalisés de cette façon, en sommant le signal de plusieurs pixels correspondant aux zones d'intérêt. Les spectres XANES obtenus ont tous été normalisés à la quantité de carbone en utilisant le script QUANTORXS (Le Guillou et al. 2018).

#### b. Interprétation des spectres XANES

La spectroscopie XANES au seuil du carbone réalisée lors de cette étude a eu pour but de sonder les propriétés de structure fine du carbone dans des molécules organiques. L'interaction photon-matière entre des rayons X mous proches du seuil d'ionisation du carbone et des molécules organiques permet en effet de promouvoir des électrons de cœur du carbone dans des niveaux électroniques plus élevés. Ce mécanisme est à l'origine des phénomènes d'absorption particuliers observés au seuil du carbone (Stöhr 2010).

Dans les molécules organiques, les électrons des niveaux d'énergie les plus élevés (électrons de valence) sont décrits par des orbitales moléculaires (OM). Pour rappel, la structure électronique du carbone à l'état fondamental est  $1s^2 2s^2 2p^2$ . Les électrons de cœur correspondent donc aux électrons  $1s$  et les électrons de valence  $2s$  et  $2p$  sont impliqués dans les liaisons chimiques. Dans le cas du carbone, la différence d'énergie étant faible entre les niveaux des orbitales atomiques (OA)  $2p$  et  $2s$ , des interactions à 3 orbitales sont possibles et il est d'usage de modéliser ce

phénomène en considérant des orbitales moléculaires hybridées  $sp$  qui sont alors formellement des combinaisons linéaires d'orbitales  $s$  et  $p$ . Ce sont alors les interactions entre les OA hybridées du carbone et les OA des atomes voisins qui forment les OM et expliquent les liaisons chimiques dans les molécules organiques. En spectroscopie XANES du carbone, la promotion des électrons  $1s$  se fait donc vers les OM de plus haute énergie (vides). La structure et surtout le niveau d'énergie de ces OM détermine alors l'énergie des transitions observées en XANES.

Plusieurs cas de figures peuvent être rencontrés. Le premier cas possible fait intervenir une hybridation des 4 orbitales  $2p_x$ ,  $2p_y$ ,  $2p_z$  et  $2s$  du carbone (en considérant l'état excité  $1s^2 2s^1 p_x^1 2p_y^1 2p_z^1$ ) pour former 4 OA hybridées  $sp^3$ . Ces orbitales sont chacune orientées dans une direction différente et font entre elles des angles de  $109^\circ$ . Ce cas concerne donc les atomes de carbone tétraédriques. Leur symétrie leur permet un recouvrement avec des OA d'atomes voisins pour former des OM de type  $\sigma$ , dirigées selon l'axe des liaisons chimiques et localisées entre 2 atomes. Ce type d'OM permet par interaction avec un photon X de réaliser des transitions  $1s \rightarrow \sigma^*$  ( $\sigma^*$  étant la notation de l'orbitale anti-liante (vide) de plus haute énergie). Ces orbitales étant généralement très hautes en énergie, les électrons promus se retrouvent dans des états proches du continuum ce qui a pour effet d'élargir les pics correspondants en spectroscopie XANES. Dans le cas de liaisons simples C-C, les transitions  $1s \rightarrow \sigma^*$  sont situés après 292 eV (Cody et al. 1995) et ne seront pas utilisées dans cette étude. En revanche, les OM  $\sigma^*$  correspondant à des liaisons C-H sont susceptibles d'interagir avec des OA vacantes du carbone de plus haute énergie et de symétrie compatible comme certaines  $3p$  (appelées états Rydberg) pour former des orbitales mixtes  $3p/\sigma^*_{CH}$  dont l'énergie est abaissée (Stöhr 2010). Des transitions  $1s \rightarrow 3p/\sigma^*$  sont alors observables en XANES entre 287,5 et 288 eV et correspondant aux  $C_{\text{tétra}}\text{-H}$  (permettant ainsi d'identifier les carbones aliphatiques) et entre 289,3 et 289,5 eV correspondant aux  $C_{\text{tétra}}\text{-OH}$  des alcools.

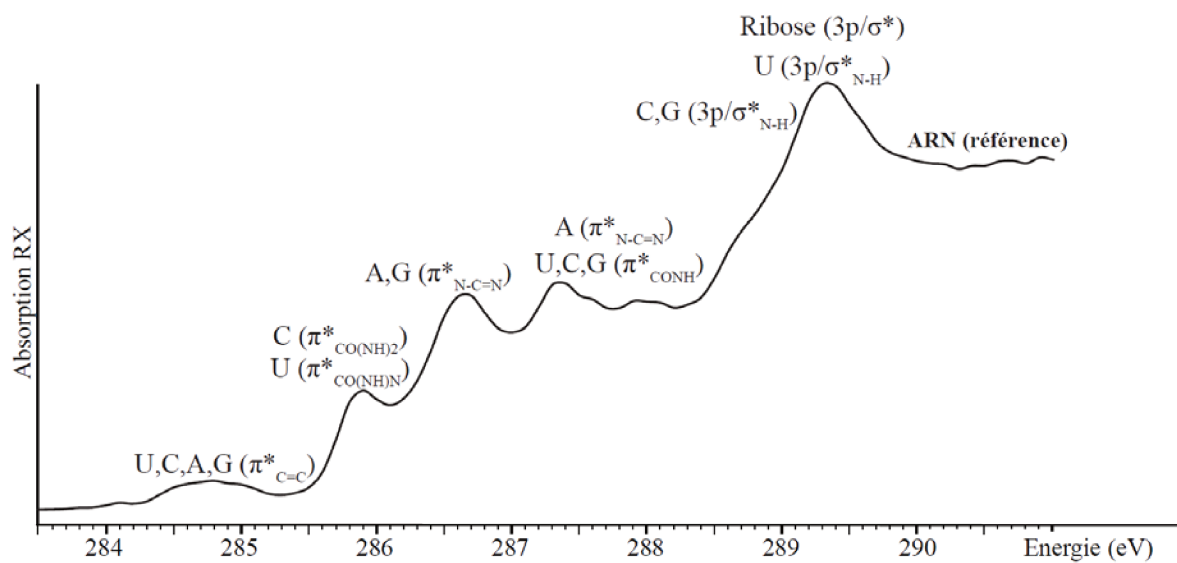
Le second cas fait intervenir une hybridation de 3 orbitales  $2p_x$ ,  $2p_y$  et  $2s$  pour former 3 OA hybridées  $sp^2$ . Ces orbitales sont localisées dans le plan  $xy$  et ne peuvent pas interagir avec les orbitales  $p_z$  pour des raisons de symétrie. Ce cas concerne les carbones trigonaux. Les orbitales  $sp^2$  sont susceptibles d'interagir avec les atomes voisins de la même façon que les orbitales  $sp^3$

pour former des orbitales  $\sigma$ . Les orbitales  $p_z$  interagissent alors indépendamment de ce système avec d'autres orbitales de même symétrie (i.e. antisymétrique  $/(xy)$ ) pour former des orbitales moléculaires  $\pi$  à l'origine des doubles liaisons. Ces orbitales sont donc orientées selon l'axe  $z$  et sont localisées entre les atomes contribuant au système  $\pi$ , ce qui peut aller de deux atomes minimum à un très grand nombre d'atomes dans le cas de système délocalisés. Le nombre d'atomes impliqués dans le système  $\pi$  détermine le nombre de niveaux d'énergie du système  $\pi$ . L'énergie des orbitales  $\pi^*$  est en général très inférieure à celle des  $\sigma^*$  ce qui permet d'observer en XANES des transitions  $1s \rightarrow \pi^*$  bien avant le seuil. Les pics correspondant à ces transitions sont donc fins.

Dans le cas de l'analyse de composés inconnus, la littérature permet de formuler des hypothèses fiables sur la nature des fonctions chimiques présentes car les orbitales associées à une fonction donnée conduisent à des transitions variant sur un domaine d'énergie assez restreint (Cody et al. 1995; Urquhart et al. 1999; Hitchcock et al. 2001).

Tableau 5. Table d'indexation des pics XANES au seuil K du carbone

Energie (eV)	Transition	Attribution
284,9 – 285,5	$1s \rightarrow \pi^*$	-C=C- (alcènes, cycles aromatiques)
285,7 – 286,8	$1s \rightarrow \pi^*$	-C=N- (imines) -N-C=N- (énamines) -HN(CO)NH- (urées)
285,7 – 287,3	$1s \rightarrow \pi^*$	-C=O (cétones, aldéhydes)
287,5 – 288,0	$1s \rightarrow 3p/\sigma^*_{CH}$	CH, CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> (chaînes aliphatiques)
287,2 – 288,2	$1s \rightarrow \pi^*$	-HN-C=O (amides)
288,5 – 288,7	$1s \rightarrow \pi^*$	-(CO)O- (dérivés d'acide)
288,8 – 289,8	$1s \rightarrow 3p/\sigma^*_{NH}$	-HN-C=O (amides)
289,3 – 289,5	$1s \rightarrow 3p/\sigma^*_{CO}$	C-O (alcools, oses)



**Figure 20.** Exemple d'attribution des pics en XANES au seuil du carbone dans le cas de la molécule d'ARN utilisée au cours de cette étude

## **IX. Préparation des échantillons pour les microscopies en transmission**

### **1. Préparation simple par dispersion**

La méthode la plus classique de préparation d'une poudre consiste à la disperser dans un peu d'éthanol puis de déposer une goutte de ce mélange sur une grille MET de type Holey. Dans ce cas, les particules composant les échantillons formant de gros agrégats minéral-matière organique et l'observation ultérieure par des techniques de microscopie en transmission (MET et STXM) peut s'avérer difficile. L'utilisation d'un bain à ultrasons réduit la taille des agrégats déposés mais cela s'avère souvent insuffisant, notamment en STXM où une trop grande épaisseur est particulièrement critique car la grandeur mesurée est l'absorption.

### **2. Cryo-ultramicrotomie**

L'ultramicrotomie est une technique permettant de réaliser des coupes très fines (de l'ordre de 30 à 100 nm) à l'aide d'un couteau en diamant. La microtomie est intéressante car elle permet de réaliser un très grand nombre de coupes « à l'aveugle » et donc restituer la diversité de l'échantillon.

Cette technique est usuellement utilisée pour la coupe de matériaux organiques (polymères, tissus vivants...) mais beaucoup plus rarement pour la coupe de minéraux, principalement à cause de leur dureté qui endommage le couteau (Ayache et al. 2010). Dans les échantillons de cette étude (partie 4), les minéraux argileux présentent une dureté modérée ce qui en fait des matériaux utilisables en ultramicrotomie. La stratégie classique pour les poudres est de les inclure dans une résine et d'effectuer des coupes du matériau formé. Dans notre cas, l'utilisation de résine étant à éviter absolument pour permettre des analyses de la matière organique, nous

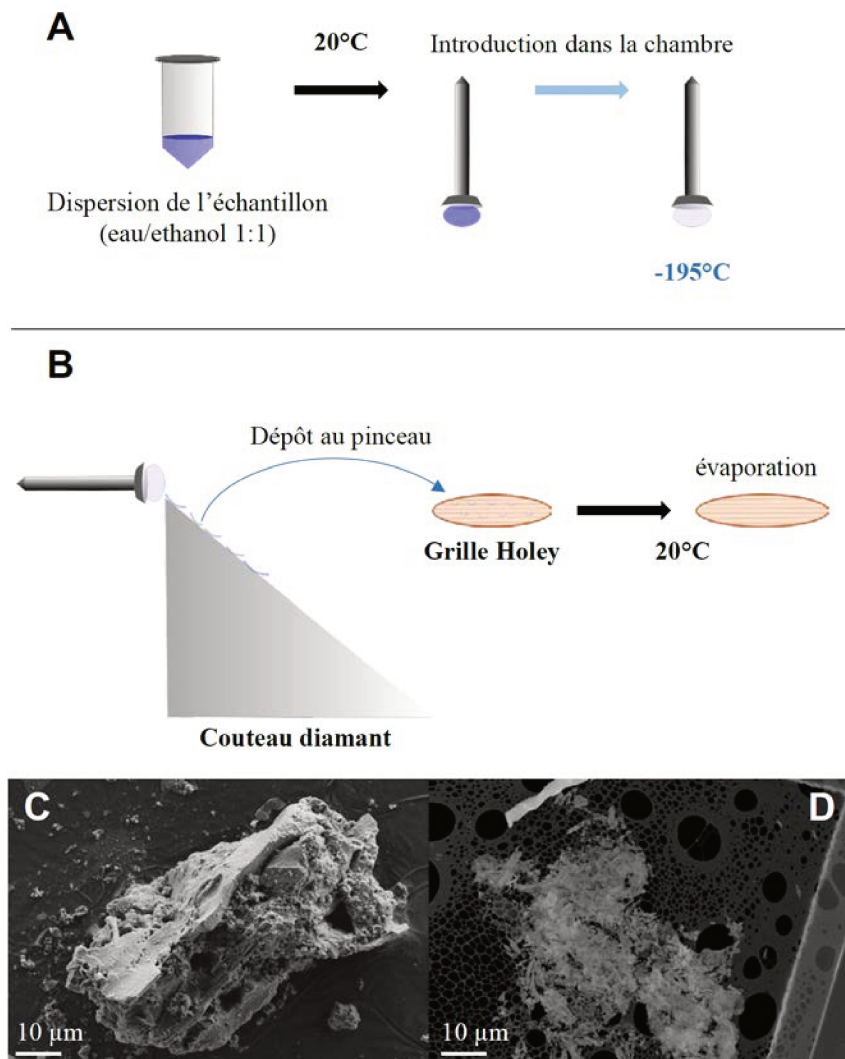
avons opté pour l'inclusion des résidus expérimentaux dans de la glace et donc pour l'utilisation d'un cryo-ultramicrotome.

En pratique, la méthode consiste à disperser la poudre dans un mélange eau/éthanol (1:1) (permettant le meilleur compromis entre une évaporation rapide, un bon mouillage et une température de solidification raisonnable) puis à déposer une goutte de cette préparation sur la tête d'un clou qui servira de porte-échantillon (Fig. 21). Le clou est alors introduit dans la chambre du cryo-ultramicrotome se trouvant à la température de l'azote liquide (~78K). La goutte gèle donc très rapidement et il est alors possible de travailler sa surface à l'aide du couteau. Un couteau en verre est d'abord utilisé pour égaliser la surface puis des coupes calibrées à 70 nm sont réalisées à l'aide du couteau diamant. Les coupes de glace contenant l'échantillon s'accumulent alors sur le couteau et sont par la suite récupérées et déposées à l'aide d'un pinceau sur une grille MET de type holey placée au préalable dans la chambre. A la sortie de la chambre, la glace se liquéfie puis s'évapore, laissant ainsi l'échantillon sans aucune trace de solvant ou de résine. L'ensemble de ces opérations est réalisé sous loupe binoculaire.

L'aspect des coupes obtenues est visible Fig. 21. Il est donc facile de trouver des zones peu épaisses pouvant être traversées par les faisceaux en MET ou en STXM.

Il paraît cependant difficile d'affirmer que cette technique conserve les relations spatiales entre les différentes phases et que toutes se comportent de la même façon sous le couteau. L'observation des coupes doit donc s'effectuer avec une certaine réserve et il convient d'en vérifier la cohérence avec celles réalisées sur des échantillons non coupés.

Les coupes réalisées au cours de cette étude ainsi que toutes les expériences préliminaires ayant permis d'aboutir à ce protocole ont été réalisées sur le cryo-ultramicrotome Leica EMFCS de l'UMET (Lille).



**Figure 21.** Préparation des échantillons par cryo-ultramicrotomie. **A.** Inclusion de l'échantillon dans la glace **B.** Réalisation des coupes et dépôt sur grille Holey **C.** Echantillon agrégé et non coupé observé au MEB **D.** Coupes obtenues par cryo-ultramicrotomie observées au MEB sur une grille Holey

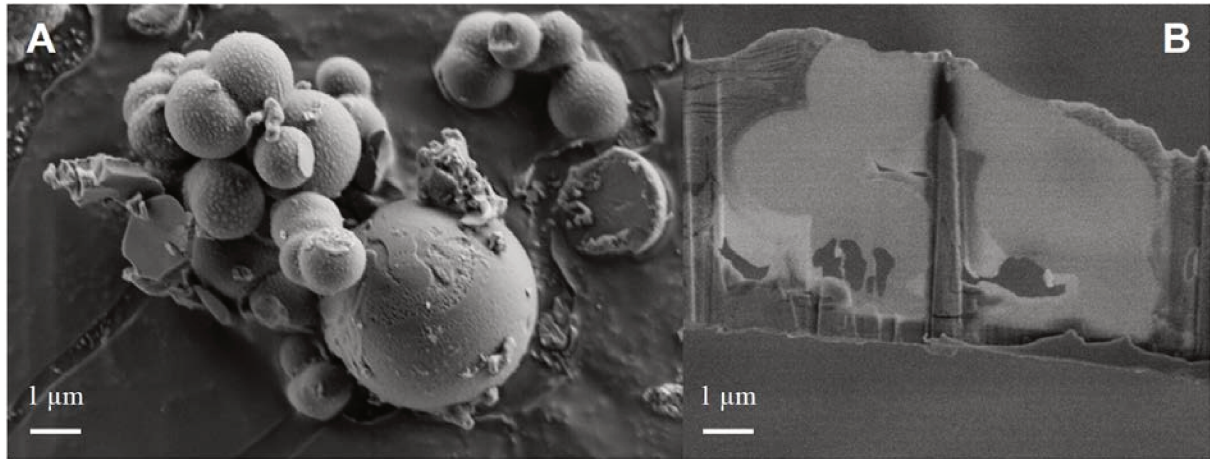
### 3. Faisceau d'ions focalisés (FIB)

Cette technique permet de réaliser des coupes nanométriques lisses et d'épaisseur constante d'une zone particulière de l'échantillon. Après métallisation de l'échantillon, la lame est dégagée de l'échantillon en creusant à l'aide d'un faisceau focalisé d'ion gallium  $\text{Ga}^{3+}$ . La lame est ensuite extraite et déposée sur une demi-grille MET à l'aide d'un micromanipulateur.

L'utilisation de cette technique suppose l'existence dans l'échantillon de domaines cohérents suffisamment grands pour pouvoir y réaliser des lames entières. Cette technique ne s'applique

donc pas aux matériaux lamellaires comme ceux de la partie 4 mais plutôt à des structures homogènes comme les structures organiques sphériques observées à la partie 3.

Les lames FIB réalisées pour cette étude ont été produites à l'LEMN (Lille).



**Figure 22.** A. Structures organiques (voir partie 3) B. Lame FIB réalisée à partir des structures en A.



## X. Références

- Ayache J, Beaunier L, Boumendil J, et al (2010) *Sample Preparation Handbook for Transmission Electron Microscopy*. Springer New York, New York, NY
- Banchet V, Michel J, Jallot E, et al (2003) Light elements quantitative x-ray microanalysis of thin samples in STEM. Absorption correction using EELS data. *Journal of Physics D: Applied Physics* 36:1599–1604. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/36/13/326>
- Bessière M (1996) Introduction au rayonnement synchrotron et à ses avantages. *Le Journal de Physique IV* 06:C4-511-C4-535. <https://doi.org/10.1051/jp4:1996449>
- Cliff G, Lorimer GW (1975) The quantitative analysis of thin specimens. *Journal of Microscopy* 103:203–207. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1975.tb03895.x>
- Cody GD, Botto RE, Ade H, et al (1995) Inner-Shell Spectroscopy and Imaging of a Subbituminous Coal: In-Situ Analysis of Organic and Inorganic Microstructure Using C(1s)-,Ca(2p)-,and C1(2s)-NEXAFSt. *Energy & Fuels* 9:525–533
- Cole RB (2010) *Electrospray and MALDI Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications, Second Edition*. Wiley
- de la Peña F, Berger M-H, Hochepeid J-F, et al (2011) Mapping titanium and tin oxide phases using EELS: An application of independent component analysis. *Ultramicroscopy* 111:169–176. <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2010.10.001>
- de la Peña F, Vidar Tonaas Fauske, Pierre Burdet, et al (2018) hyperspy/hyperspy v1.4.1. Zenodo
- Delevoye L, Robert J.-L, Grandjean J. (2003)  $^{23}\text{Na}$  2D 3QMAS NMR and  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{27}\text{Al}$  MAS NMR investigation of Laponite and synthetic saponites of variable interlayer charge. *Clay Minerals* 38:63–69. <https://doi.org/10.1180/0009855033810079>
- Egerton RF (2005) *Physical principles of electron microscopy: an introduction to TEM, SEM, and AEM*. Springer, New York, NY
- Egerton RF (2011) *Electron Energy-Loss Spectroscopy in the Electron Microscope*. Springer US, Boston, MA
- Fenn J, Mann M, Meng C, et al (1989) Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science* 246:64–71. <https://doi.org/10.1126/science.2675315>
- Herzfeld J, Berger AE (1980) Sideband intensities in NMR spectra of samples spinning at the magic angle. *The Journal of Chemical Physics* 73:6021–6030. <https://doi.org/10.1063/1.440136>
- Hitchcock AP, Koprinarov I, Tyliczszak T, et al (2001) Optimization of scanning transmission X-ray microscopy for the identification and quantitation of reinforcing particles in polyurethanes. *Ultramicroscopy* 88:33–49. [https://doi.org/10.1016/S0304-3991\(00\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3991(00)00113-3)
- Hodgkinson P (2005) Heteronuclear decoupling in the NMR of solids. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 46:197–222. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2005.04.002>
- Hyvärinen A, Oja E (2000) Independent component analysis: algorithms and applications. *Neural Networks* 13:411–430. [https://doi.org/10.1016/S0893-6080\(00\)00026-5](https://doi.org/10.1016/S0893-6080(00)00026-5)
- Keeler J (2010) *Understanding NMR Spectroscopy, 2nd edition*. Wiley

- Knoll M, Ruska E (1932) Das Elektronenmikroskop. *Zeitschrift für Physik* 78:318–339
- Le Guillou C, Bernard S, De la Pena F, Le Brech Y (2018) XANES-Based Quantification of Carbon Functional Group Concentrations. *Analytical Chemistry* 90:8379–8386.  
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00689>
- Mamyrin BA, Karataev VI, Shmikk DV, Zagulin VA (1973) The mass-reflectron, a new nonmagnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution. *Sov Phys JETP* 37:
- Mitchell TN, Costisella B (2007) *NMR--from spectra to structures: an experimental approach*, 2nd rev. and expanded ed. Springer, Berlin ; New York
- Nassif N, Bouvet O, Noelle Rager M, et al (2002) Living bacteria in silica gels. *Nature Materials* 1:42–44.  
<https://doi.org/10.1038/nmat709>
- Schwinger J (1949) On the Classical Radiation of Accelerated Electrons. *Physical Review* 75:1912–1925.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRev.75.1912>
- Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR (2018) *Principles of Instrumental Analysis*, 7th edition
- Stöhr J (2010) *NEXAFS spectroscopy*. Springer
- Strohalm M, Hassman M, Košata B, Kodíček M (2008) mMass data miner: an open source alternative for mass spectrometric data analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22:905–908.  
<https://doi.org/10.1002/rcm.3444>
- Urquhart SG, Hitchcock AP, Smith AP, et al (1999) NEXAFS spectromicroscopy of polymers: overview and quantitative analysis of polyurethane polymers. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 100:119–135. [https://doi.org/10.1016/S0368-2048\(99\)00043-2](https://doi.org/10.1016/S0368-2048(99)00043-2)
- Van Meerssche M, Feneau-Dupont J (1984) *Introduction à la cristallographie et à la chimie structurale*, 3<sup>ème</sup> édition. Peeters, Louvain-La-Neuve
- Williams DB, Carter CB (2008) *Transmission electron microscopy: a textbook for materials science*, 2nd ed. Springer, New York

# **Partie 3. Fossilisation d'ARN en conditions hydrothermales**

L'ARN est une macromolécule très fragile dont la dégradation est très rapide en solution même dans des conditions douces (**Li and Breaker 1999**). A l'échelle des temps géologiques, on ne s'attend donc pas à observer de l'ARN préservé tel quel dans l'enregistrement fossile (en particulier Archéen) mais très vraisemblablement ses produits de dégradation. Des expériences témoins réalisées au laboratoire dans des conditions hydrothermales ont permis d'en apprendre davantage sur leur nature.

Dans cette première expérience, une suspension d'ARN de levures a été placée 20 jours à 200°C en système fermé sous air (voir Partie 2 I.). L'ARN étant peu soluble dans l'eau, il forme principalement à température ambiante des colloïdes de taille micrométrique (Fig. 1). Ainsi, seule une faible concentration d'ARN dissous est-elle observée dans la solution initiale. Cette

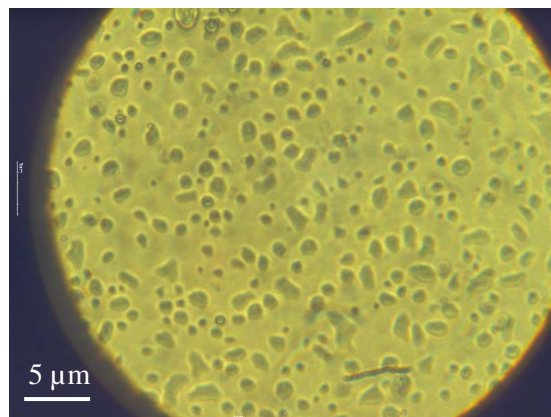


Figure 1. Suspension d'ARN observée au microscope optique

concentration qui traduit en quelque sorte la solubilité de l'ARN dans l'eau pure à 25°C, a été estimée par titrage à  $3,78 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  (exprimée en monomères).

## I. Caractérisation du résidu solide

Pour rappel, l'ARN est constitué de nucléotides formés par l'association d'un sucre (ribose) et d'une base azotée (purine ou pyrimidine) reliés entre eux par des ponts phospho-diester. Sur un échantillon de référence, le ribose et les bases azotées peuvent être facilement identifiés en RMN CP-MAS du  $^{13}\text{C}$  (domaines 51-112 et 128-170 ppm respectivement) (Fig. 3A). En spectroscopie XANES (Fig. 3B), le ribose est caractérisé par un pic large centré en 289,3 eV ( $1s \rightarrow 3p/\sigma^*_{\text{C-OH}}$ ) et les bases azotées sont identifiées par des signaux caractéristiques dont la table d'attribution complète est donnée partie 2.VIII. 3 (Fig. 20, p. 108).

Après traitement hydrothermal (200°C, 20 jours), le résidu solide se compose d'agrégats qui ont sédimenté au fond du réacteur et d'un film noir brillant à la surface de la solution (Fig. 2). L'ensemble du résidu solide est récupéré en une seule fraction par centrifugation (voir partie 2 II.). Aucun signal n'est présent en RMN CP-MAS du  $^{13}\text{C}$  entre 51 et 112 ppm ce qui implique que le ribose a été entièrement dégradé. L'apparition de signaux larges entre 0 et 50 ppm montre que les composés formés comportent des groupes alkyles (chaînes aliphatiques). Le groupe de pics larges compris entre 95 et 160 ppm correspond à des carbones formant des liaisons C=C (alcènes, (hétéro)cycles aromatiques). La présence du pic large et intense en XANES centré en



Figure 2. Film organique en surface de la solution obtenue après traitement hydrothermal de l'ARN

284,9 eV ( $1s \rightarrow \pi^*_{C=C}$ ) confirme cette observation et précise que la fraction organique est majoritairement insaturée. La présence de pics en RMN entre 128 et 170 ppm (similaires à ceux des bases azotées) suggère que des N-hétérocycles comprenant des imines et des énamines sont présents. Ceci est confirmé par la

présence d'un signal en XANES à 287,9 eV ( $1s \rightarrow \pi^*_{N-C=N}$ ). Enfin, le signal large et peu intense en RMN entre 168 et 184 ppm témoigne de la présence de composés carbonylés (cétones et dérivés d'acides). Les pics à 288,0 eV ( $1s \rightarrow \pi^*_{HCNO}$ )

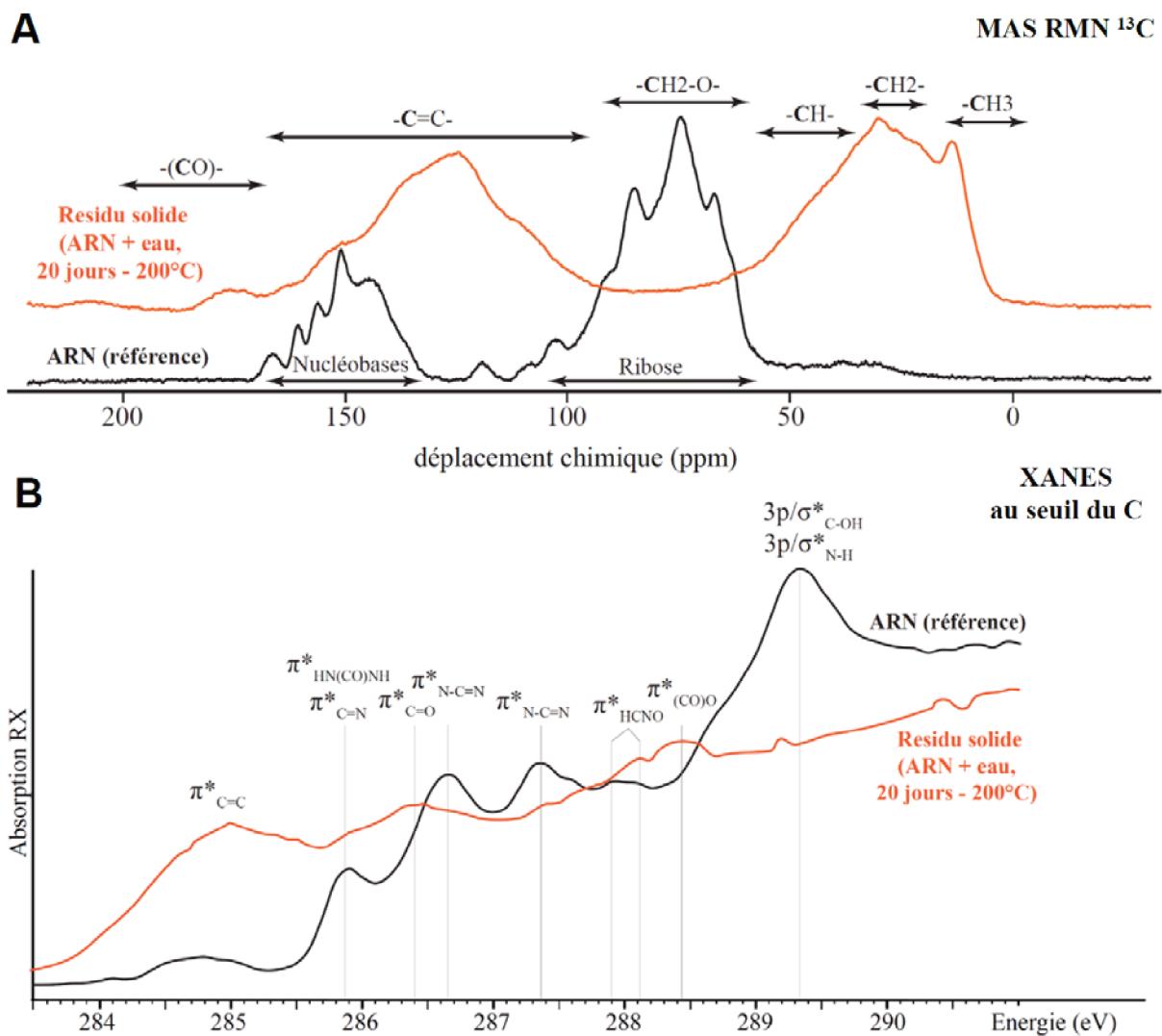
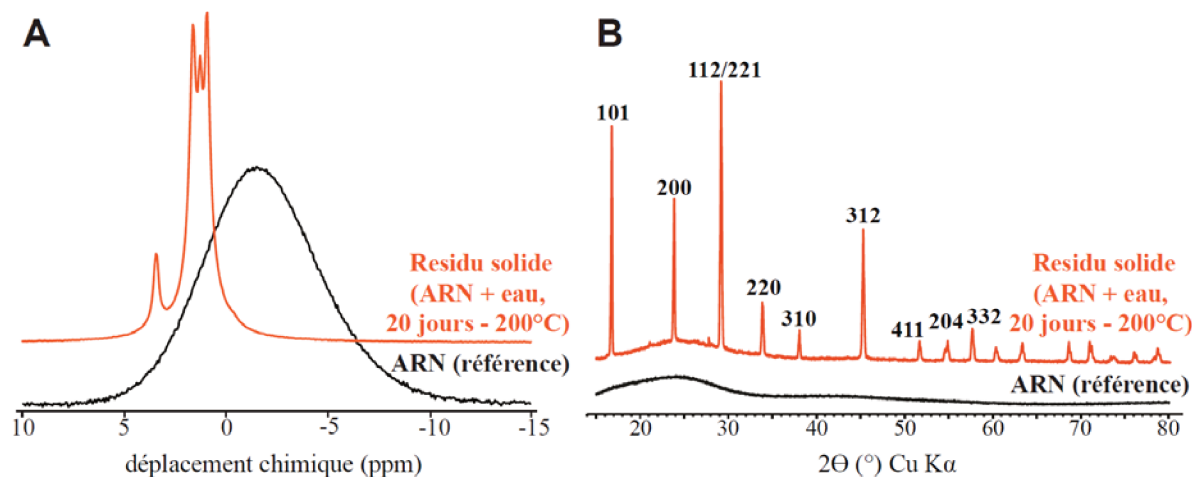


Figure 3. A. Spectres RMN MAS  $^{13}C$  B. Spectres XANES obtenu en microscopie d'absorption STXM

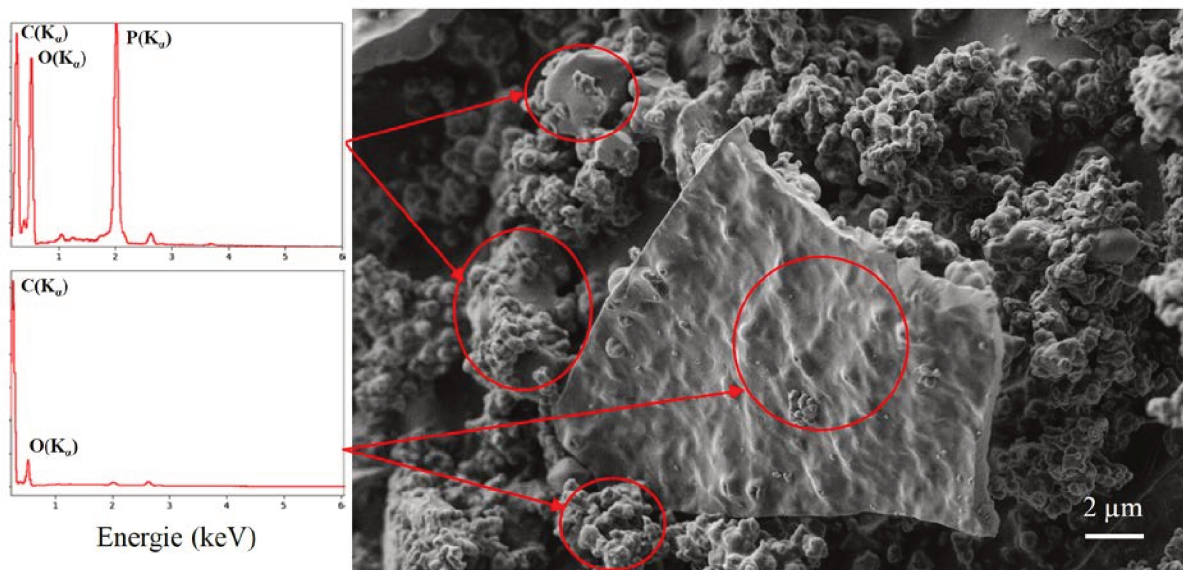


**Figure 4.** A Spectres RMN MAS  $^{31}\text{P}$  B. Diffractogrammes de rayons X (anode Cu K $\alpha$ ). Les réflexions indiquées correspondent à celles de la biphosphammite

et à 286,9 eV ( $1s \rightarrow \pi^*_{\text{C=O}}$ ) en XANES permettent de montrer qu'il s'agit respectivement d'amides et de cétones.

Il est intéressant de remarquer la disparition en RMN MAS du  $^{31}\text{P}$  (Fig. 4A) du pic large centré en -2 ppm présent pour l'ARN et l'apparition de 4 pics fins entre 0 et 4 ppm (0,98 ; 1,31 ; 1,68 et 3,49 ppm). Ceci traduit le fait que les phosphates, initialement présents dans l'ARN uniquement sous forme de phosphodiesteres précipitent pour former des phosphates inorganiques. Ainsi, plus aucun groupe phosphate n'est-il intégré à la matière organique à l'issue de l'expérience. Le diffractogramme de rayons X du résidu (Fig. 4B) permet d'identifier que le phosphate formé est la biphosphammite, un orthophosphate de formule  $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ . Les 3 pics fins à 0,98 ; 1,31 et 1,68 ppm correspondent aux différents sites cristallographiques de la biphosphammite. Le singulet à 3,5 ppm en RMN du  $^{31}\text{P}$  provient vraisemblablement d'un phosphate d'ammonium sous forme mono-protonée ayant précipité avec un cation présent dans la solution (impureté).

A l'échelle microscopique, l'analyse des résidus en microscopie électronique à balayage (MEB) (Fig. 5) montre que le résidu formé est composé de particules de matière organique en forme de boules d'une taille variable comprise entre 200 et 500 nm et formant pour certaines des agrégats en forme de plaquettes. Ces plaquettes pourraient être des fragments du film flottant à la surface en sortie d'expérience (Fig. 2). La microscopie XANES (STXM) a permis de mettre en évidence que ces particules présentent une composition homogène entre elles avec toutes le



**Figure 5.** Image MEB du résidu obtenu par traitement hydrothermal d'une suspension d'ARN (20 jours, 200°C) et les spectres EDS associés aux différentes structures observées

même spectre que celui présenté Fig. 3B. Les phosphates, de morphologie mal définie et identifiables en spectroscopie MEB-EDS, forment quant à eux des cristallites d'une taille proche du micromètre (Fig. 5).

En résumé, la dégradation de l'ARN en conditions hydrothermales conduit à la formation de particules organiques riches en hydrocarbures fonctionnalisés présentant un assez fort caractère insaturé et à la formation de cristaux de phosphates d'ammonium. Ces caractéristiques sont donc très éloignées de celles de l'ARN initial.



## II. Caractérisation des produits de dégradation solubles

La solution obtenue à l'issue de l'expérience contient des composés organiques qu'il est possible de caractériser par d'autres techniques. La spectrométrie de masse (ESI-MS) montre que les composés organiques solubles présentent des masses ( $m/z$ ) allant jusqu'à 500 en mode positif (Fig. 7). Les produits de dégradation solubles dans l'eau ne sont donc pas des macromolécules organiques mais des molécules de taille relativement faible.

Les signaux observés en RMN du  $^{13}\text{C}$  (réalisée ici en détection directe, Fig. 6B) sont très majoritairement situés après 120 ppm et se répartissent en 3 groupes : (i) les pics à 127, 131, 132, 133 ppm (ii) le pic à 158 ppm, (iii) le pic à 173 ppm. Les 4 pics autour de 130 ppm sont caractéristiques de carbones présents dans des cycles aromatiques. La présence du pic à 158 ppm correspond également à des carbones aromatiques mais nettement plus déblindés ce qui précise l'existence d'hétérocycles aromatiques. Enfin, le pic à 173 ppm correspond à des C=O

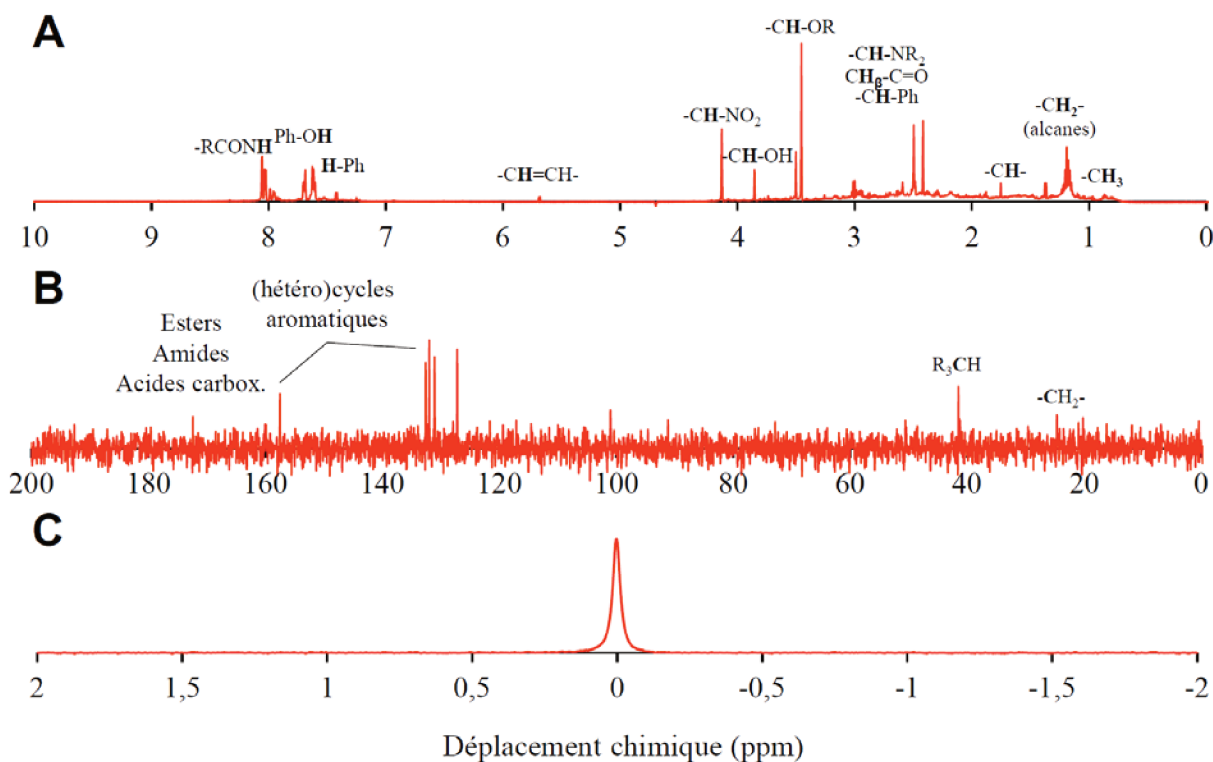
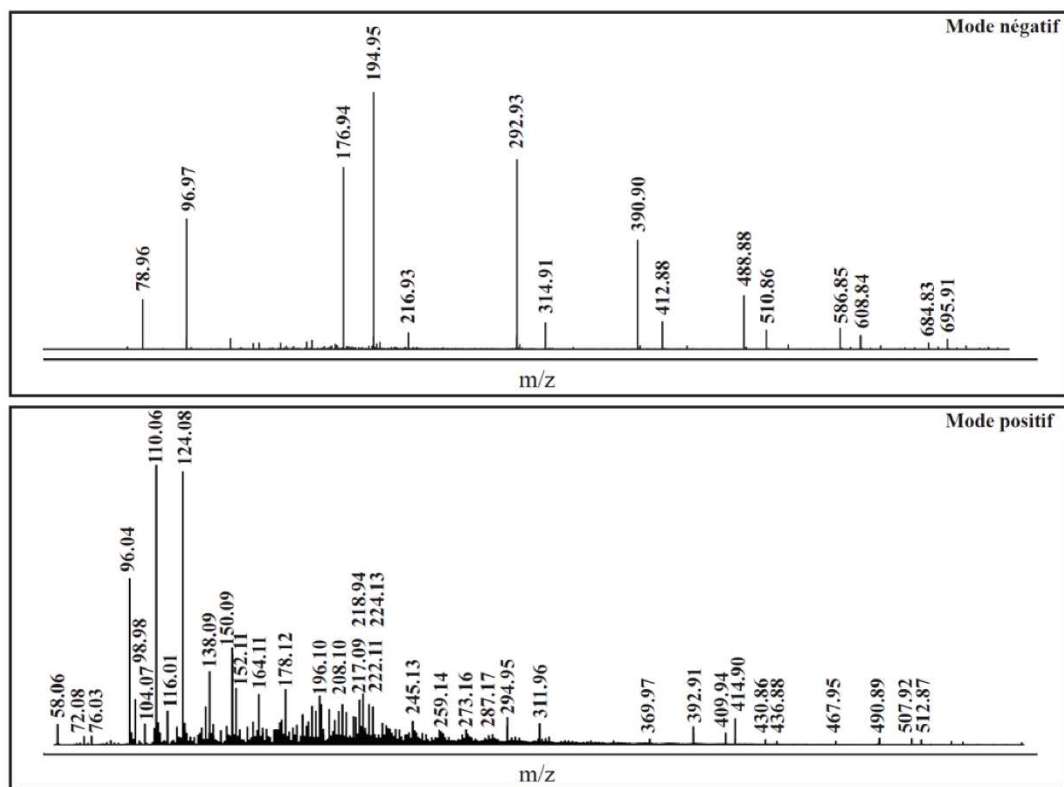


Figure 6. A. Spectre RMN  $^1\text{H}$  B. Spectre RMN  $^{13}\text{C}$ . C. Spectre RMN  $^{31}\text{P}$



Mode négatif

Mode positif

Masse mesurée	Attribution probable	Masse mesurée	Attribution probable
78,95921965	PO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	58,06525397	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
96,97012067	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	72,08073419	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
176,9366266	{H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , PO <sub>3</sub> <sup>-</sup> }	76,03916368	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
194,947448	{H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> }	96,04432173	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> NO <sup>+</sup>
216,9297687	{C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , HPO <sub>3</sub> , PO <sub>3</sub> <sup>-</sup> }	98,98380125	H <sub>4</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>
292,9250298	{(H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> }	104,0702512	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
314,9070792	{C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , HPO <sub>3</sub> , PO <sub>3</sub> <sup>-</sup> }	110,0595373	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> NO <sup>+</sup>
390,902428	{(H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> }	116,0101934	{(C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )(C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )} <sup>+</sup>
412,8844337	{C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 2 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , HPO <sub>3</sub> , PO <sub>3</sub> <sup>-</sup> }	124,0750841	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> NO <sup>+</sup>
488,8798621	{(H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> }	138,0907586	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> NO <sup>+</sup>
510,8619315	{C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , HPO <sub>3</sub> , PO <sub>3</sub> <sup>-</sup> }	150,0907508	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> NO <sup>+</sup>
586,8571106	{(H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>5</sub> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> }	152,1060998	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> NO <sup>+</sup>
608,839022	{C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 4 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , HPO <sub>3</sub> , PO <sub>3</sub> <sup>-</sup> }	164,1064907	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> NO <sup>+</sup>
684,8345229	{(H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> }	178,1220927	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> NO <sup>+</sup>
695,9102544	{C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> , 5 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , HPO <sub>3</sub> , PO <sub>3</sub> <sup>-</sup> }	196,0959152	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		208,0960547	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		217,0964762	{(C <sub>3</sub> H <sub>11</sub> NO), (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )} <sup>+</sup>
		218,9423588	{Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , C <sub>3</sub> HO} <sup>+</sup> ?
		222,1116583	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		224,1273905	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		245,1276787	{C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO, (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )} <sup>+</sup>
		259,1435633	{C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> NO, (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )} <sup>+</sup>
		273,1593736	{C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> NO, (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )} <sup>+</sup>
		287,1748985	{C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> NO, (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), (C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )} <sup>+</sup>
		294,9371511	{Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , (C <sub>4</sub> HO) <sub>2</sub> } <sup>+</sup> ?
		311,9636277	{CH <sub>6</sub> P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , (C <sub>5</sub> O) <sub>2</sub> } <sup>+</sup> ?
		369,969083	{NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , (C <sub>5</sub> O) <sub>2</sub> , (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )} <sup>+</sup> ?
		392,9144007	{Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , (C <sub>5</sub> O) <sub>2</sub> , (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )} <sup>+</sup> ?
		409,9409805	{CH <sub>6</sub> P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , (C <sub>5</sub> O) <sub>2</sub> , (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )} <sup>+</sup> ?

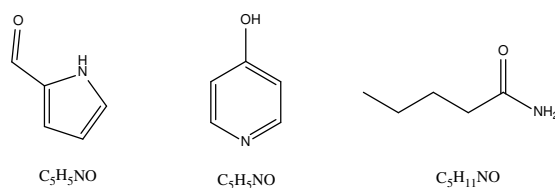
Figure 7. Spectres ESI-MS en mode positif et négatif. Une liste des masses principales est présentée pour chaque mode et une formule brute probable est proposée

dans des dérivés d'acides (amides, esters). Deux pics faibles sont observés avant 40 ppm et correspondent à des carbones aliphatiques. En RMN du  $^1\text{H}$  (Fig. 6A), l'essentiel des signaux est présent entre 0,7 et 4,1 ppm. Un massif de pics est notamment présent entre 0,7 et 2 ppm correspondant à une superposition de nombreux signaux de multiplicité élevée. Ces déplacements chimiques sont caractéristiques d'enchaînements de carbones aliphatiques dans des chaînes carbonées de type alkyle. Deux pics notables sont observés à 2,4 et 2,5 ppm. Le premier est un singulet correspondant à des substituants  $\text{CH}_3$  sur des cycles aromatiques. Le second est un triplet correspondant aux protons  $\text{CH}_2$  d'une chaîne alkyle en position  $\alpha$  d'un amide. Les pics à 3,45 ; 3,86 et 4,13 ppm donnent des informations sur la fonctionnalisation de la chaîne et traduisent respectivement la présence de fonctions étheroxydes, hydroxydes et nitroxydes. Les signaux faibles observés entre 7,5 et 8 ppm présentent une multiplicité importante et caractérisent des protons portés par des cycles aromatiques substitués. Enfin, le pic large à 8,1 ppm confirme la présence d'amides. Le fait que les signaux correspondant aux protons des chaînes aliphatiques soient particulièrement intenses en RMN du  $^1\text{H}$  est prévisible car ces chaînes correspondent aux structures organiques les plus protonées. En revanche, la RMN du  $^{13}\text{C}$  montre ici quantitativement que l'essentiel des atomes de carbones sont en fait contenus dans des groupements insaturés et en particulier aromatiques.

Un unique pic très fin est observé en RMN du  $^{31}\text{P}$  à 0,0 ppm. Le phosphore présent dans l'échantillon est donc entièrement sous forme d'orthophosphates et n'est donc jamais intégré à des molécules organiques (comme c'est le cas *a contrario* dans l'ARN sous forme de phosphodiester).

La spectrométrie de masse (ESI-MS) en mode négatif permet d'identifier l'ion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  à la masse 96,97 (Fig. 7). Ceci confirme également la présence d'orthophosphates dans la solution. De nombreuses autres masses sont également observées à des  $m/z$  supérieurs mais celles-ci sont toutes attribuables à des adduits d'orthophosphates ou à des adduits orthophosphates/glyoxal ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2$ ). Ce composé organique (présent pour l'anecdote en faible concentration dans l'atmosphère à cause des activités anthropiques) se forme en général par oxydation en phase gaz de composés organiques volatils (Vrekoussis et al. 2009). Il est donc vraisemblablement formé

dans le nébuliseur du spectromètre et ne provient pas de l'échantillon. En mode positif, l'ESI-MS fait apparaître un nombre très important de pics. Ceci témoigne de la grande diversité des composés formés au cours des expériences de fossilisation. Parmi les pics principaux, on notera celui à 96,04 correspondant à un (ou des) composé(s) de formule brute  $C_5H_5NO$ . Ce pic est le premier d'une série de 5 pics séparés d'une masse 14,02 correspondant à  $CH_2$ . Compte-tenu des signaux RMN observés précédemment, il est possible de proposer 2 structures de base pour le composé  $C_5H_5NO$  sur lesquelles se greffent ensuite jusqu'à 4 groupes méthyle pour obtenir les composés de masses supérieures (Fig. 8). Une série similaire est observée à partir de la masse 217,10 correspondant à un composé de formule brute  $C_5H_{11}NO$ , présent dans un adduit avec 2 molécules de glyoxal. Cette formule brute évoque plutôt une molécule présentant une chaîne carbonée de type alkyle. Une proposition de structure pour la molécule  $C_5H_{11}NO$  (Fig. 8) permet d'expliquer les signaux observés en RMN.



**Figure 8.** Propositions de structures modèles pour les formules brutes  $C_5H_5NO$  et  $C_5H_{11}NO$  en accord avec les signaux RMN

### III. Hypothèses mécanistiques

La dégradation de l'ARN en conditions hydrothermales mène à la formation d'un grand nombre de composés. La caractérisation de l'ensemble de ces produits de dégradation étant difficilement exhaustive, nous proposerons ici un schéma réactionnel très simplifié comprenant les principales étapes de la dégradation de l'ARN.

Les acides nucléiques *ex vivo* sont connus pour être des macromolécules fragiles et instables en solution, même à basse température et se montrent particulièrement sensibles à l'hydrolyse et à l'oxydation (Lindahl 1993; Li and Breaker 1999). En conditions hydrothermales, la solubilité de l'ARN augmente ce qui favorise l'hydrolyse acide des ponts phospho-diesters et donc la formation de nucléotides en solution. La précipitation de l'ensemble des phosphates sous forme inorganique est le signe que les structures organiques colloïdales initiales (Fig. 1) comprenant des ponts phosphodiester sont entièrement dissoutes. Il existe donc un intervalle de temps où l'essentiel de la matière organique est en solution. Ceci est rendu possible par une diminution de la polarité de l'eau liée à l'augmentation de la température (Siskin and Katritzky 2001). Ces conditions de température sont susceptibles de favoriser la déshydratation du ribose (à partir de sa forme ouverte) conduisant selon un mécanisme connu à la formation de composés de types furfurals (Sinag et al. 2003; Sevilla and Fuertes 2009; Akouche et al. 2016). De plus, il a été montré que la déshydratation du ribose est catalysée par la présence de phosphates qui, dans cette situation, sont présents en solution (Salak Asghari and Yoshida 2006). Le furfural proprement dit ( $C_5H_4O_2$ ) n'a pas été identifié dans la solution par ESI-MS mais les composés hétérocycliques observés ont des structures similaires et un même nombre de carbones dans le cas des composés  $C_5H_5NO$  et  $C_5H_{11}NO$ . Il est donc envisageable que ces molécules soient issues du furfural et formées par des réactions entre le furfural et les bases azotées (ou leurs produits de dégradation N-hétérocycliques), expliquant ainsi la présence systématique d'atomes d'azote dans les composés observés. Ces produits de déshydratation peuvent par la suite se condenser entre eux et ainsi conduire à la formation de macromolécules de type humine, comprenant des

clusters aromatiques (Sevilla and Fuertes 2009). Dans ces conditions, ces composés macromoléculaires sont majoritairement insolubles dans l'eau ce qui provoque la démixtion du mélange et l'apparition d'une phase organique. Afin d'abaisser la tension de surface, cette phase organique composée majoritairement d'hydrocarbures se développe à la surface de la solution (à l'interface air/solution) ce qui est à l'origine du film noir observé en sortie d'expérience (Fig. 2). Lorsque l'interface air-solution est saturée en composés organiques (i.e. qu'une couche recouvrant l'interface a été formée), l'augmentation de la surface de la phase organique implique alors la formation en solution de structures sphériques de types « micelles ». Ceci suppose la présence de groupements hydrophiles permettant d'abaisser la tension de surface à l'interface eau-phase organique. En l'occurrence, les composés identifiés comme issus de la dégradation du ribose contiennent des groupements carbonylés (amides, cétones, esters) présentant un caractère hydrophile. La matière organique composant les micelles étant solide à température ambiante, ces structures ne coalescent pas au moment du séchage ce qui explique pourquoi il est possible de les observer au MEB (Fig. 5).

Les principales étapes du mécanisme de dégradation de l'ARN peuvent être résumées de la façon suivante :

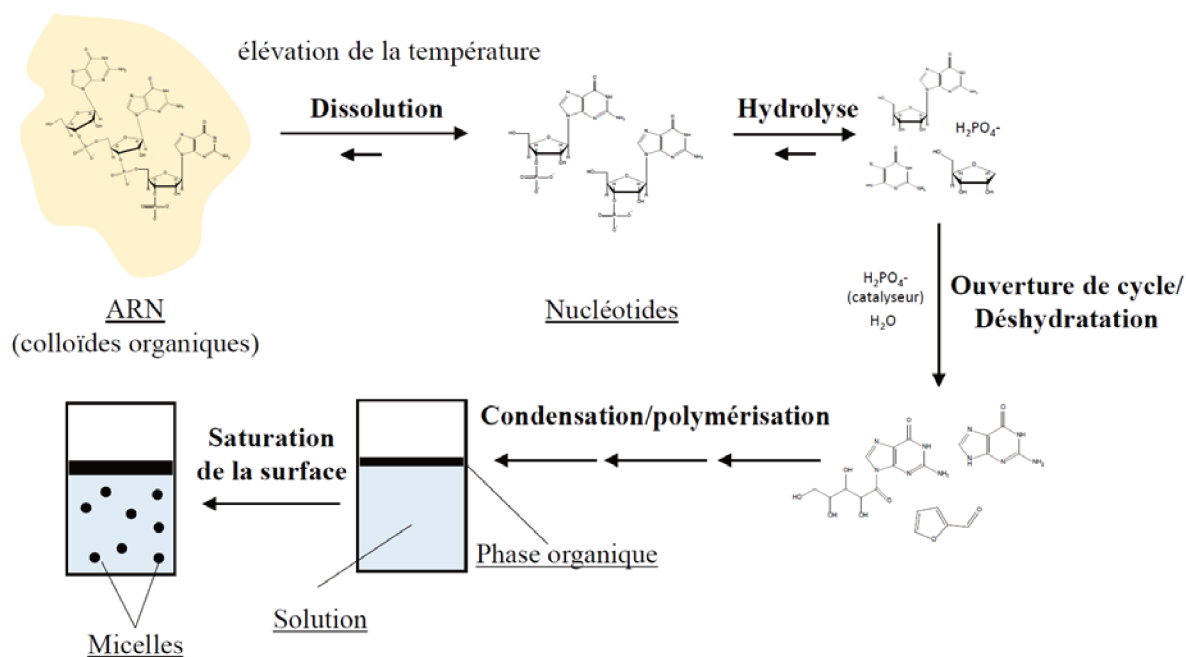


Figure 9. Schéma réactionnel simplifié de la dégradation de l'ARN en conditions hydrothermales

Cette expérience met en évidence la grande fragilité de l'ARN dans un contexte de diagénèse. Comme on peut s'y attendre, la structure initiale de l'ARN ainsi que sa signature moléculaire ont été entièrement perdues au cours de cette expérience ce qui implique que des entités primitives du « monde à ARN » conduisent *a priori* à la formation de produits de dégradation dans des conditions de température typiques de la diagénèse en milieu humide. La recherche de traces de formes de vie primitives du « monde à ARN » apparaît donc - s'il est nécessaire de le rappeler - comme un exercice hautement délicat. Toutefois, les traces fossiles vieillissent toujours dans des sédiments constitués de différentes phases minérales pouvant jouer un rôle significatif sur la préservation des biosignatures. Certes, cette influence est susceptible de rendre l'interprétation des fossiles encore plus complexe mais elle laisse aussi entrevoir des possibilités de préservation particulières voire « exceptionnelles ». Le rôle de ces phases minérales doit donc être attentivement étudié et nous commencerons, en suivant la même démarche expérimentale que dans ce premier paragraphe, par l'étude du rôle de la silice.

## IV. Références

- Akouche M, Jaber M, Zins E-L, et al (2016) Thermal Behavior of d-Ribose Adsorbed on Silica: Effect of Inorganic Salt Coadsorption and Significance for Prebiotic Chemistry. *Chemistry – A European Journal* 22:15834–15846. <https://doi.org/10.1002/chem.201601418>
- Li Y, Breaker RR (1999) Kinetics of RNA Degradation by Specific Base Catalysis of Transesterification Involving the 2'-Hydroxyl Group. *Journal of the American Chemical Society* 121:5364–5372. <https://doi.org/10.1021/ja990592p>
- Lindahl T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362:709–715. <https://doi.org/10.1038/362709a0>
- Salak Asghari F, Yoshida H (2006) Acid-Catalyzed Production of 5-Hydroxymethyl Furfural from D -Fructose in Subcritical Water. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 45:2163–2173. <https://doi.org/10.1021/ie051088y>
- Sevilla M, Fuertes AB (2009) Chemical and Structural Properties of Carbonaceous Products Obtained by Hydrothermal Carbonization of Saccharides. *Chemistry – A European Journal* 15:4195–4203. <https://doi.org/10.1002/chem.200802097>
- Sinag A, Kruse A, Schwarzkopf V (2003) Formation and Degradation Pathways of Intermediate Products Formed during the Hydrolysis of Glucose as a Model Substance for Wet Biomass in a Tubular Reactor. *Engineering in Life Sciences* 3:469–473. <https://doi.org/10.1002/elsc.200300054>
- Siskin M, Katritzky AR (2001) Reactivity of Organic Compounds in Superheated Water: General Background. *Chemical Reviews* 101:825–836. <https://doi.org/10.1021/cr000088z>
- Vrekoussis M, Wittrock F, Richter A, et al (2009) Temporal and spatial variability of glyoxal as observed from space. *Atmos Chem Phys* 20



# **Partie 4. Fossilisation d'ARN**

## **en présence de silice**

De nombreux fossiles anciens très bien préservés ont été retrouvés dans des cherts ce qui fait de la silice une matrice minérale incontournable pour la fossilisation expérimentale d'ARN. Des gels de silice ont donc été utilisés afin d'identifier les traces qu'un « monde à ARN » serait susceptible de laisser au contact de minéraux hydratés riches en silice. Les cherts étant constitués de différentes formes cristallines de silice, des expériences ont été menées dans un second temps à l'aide de quartz et de silice fumée.

## I. Préservation des premières traces de vie dans les cherts anciens

La plupart des ‘fossiles’ de l’Archéen ont été retrouvés dans des cherts c’est-à-dire des roches constituées majoritairement de silice (Buick et al. 1981; Walsh and Lowe 1985; Schopf 1993; Westall et al. 2001; Ueno et al. 2001; Westall and Folk 2003; Wacey et al. 2012; Lepot et al. 2013). Ce constat suggère que la silice pourrait constituer une matrice minérale favorable à la préservation des fossiles et plus généralement des traces de vie. En effet, il a été montré pour des fossiles Archéens qu’il est possible de conserver dans des cherts certaines signatures moléculaires (De Gregorio 2006; Alleon et al. 2018) et il a également été mis en évidence dans des cas plus récents (fossiles du Phanérozoïque notamment) que les cherts sont susceptibles d’abriter des fossiles très bien préservés d’un point de vue morphologique (Butterfield 2003). De même, la silicification des tissus vivants qui intervient dans les sédiments après la mort des organismes, a été identifiée par certains auteurs comme un paramètre essentiel dans la préservation de la morphologie des microfossiles (Schultze-Lam et al. 1995; Konhauser and Ferris 1996; Cady and Farmer 2007; Campbell et al. 2015). Par ailleurs, quelques études de fossilisation expérimentale ont été conduites sur des bactéries, des archées et des virus et ont également permis de mettre en évidence une préservation morphologique en présence de silice (Oehler and Schopf 1971; Oehler 1976; Lalonde et al. 2005; Orange et al. 2011, 2012) et une préservation de certaines signatures moléculaires comme les amides (observées en XANES) (Alleon et al. 2016) et ou certains rapports  $\text{CH}_3/\text{CH}_2$  des chaînes aliphatiques (en FTIR) (Igisu et al. 2018). Ces observations laissent donc supposer que la silice pourrait jouer un rôle majeur dans la préservation d’éventuelles formes de vie très anciennes comme celles ayant éventuellement existé dans un « monde à ARN ». La fossilisation expérimentale constitue dans ce cas une approche de choix afin de mieux comprendre le rôle de la silice au cours des processus de fossilisation de l’ARN. Ceci doit pouvoir *in fine* nous amener à proposer des hypothèses sur le type de biosignatures qu’il est pertinent de rechercher dans les cherts archéens afin de

retrouver des traces des premières formes de vie et ce en dépit de leur très longue histoire géologique. En particulier, nous rechercherons les produits de dégradation caractéristiques de l'ARN en présence de silice et nous interrogerons sur le type d'information susceptible d'être préservée dans l'enregistrement fossile.

## 1. Les cherts

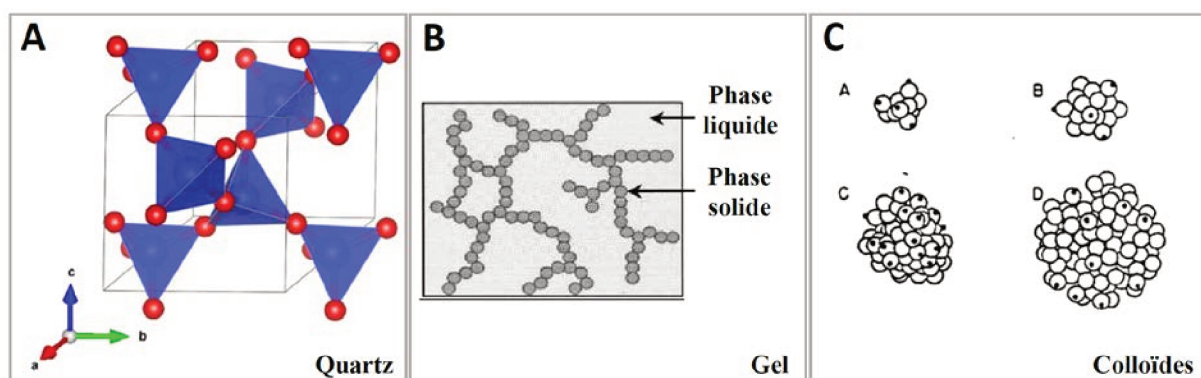
### a. Formation des cherts

Les cherts sont des roches sédimentaires composées majoritairement de silice (à plus de 80%) et notamment par ordre d'importance de quartz micro-cristallin (particules < 20 µm), de calcédoine (fibres de quartz de quelques centaines de nm), de méga-quartz (particules > 20 µm) et d'impuretés (**Perry and Lefticariu 2007**). Ces roches semblent très présentes à la surface de la Terre Archéenne (**Nisbet 1987; Papineau 2010**). Sur la Terre actuelle, les cherts sont formés presque exclusivement par dépôt au fond des océans de restes d'organismes présentant un squelette siliceux (diatomées, éponges...). La biominéralisation de silice par les organismes marins est d'ailleurs une des raisons expliquant la très faible teneur en silice des océans actuels (~1 ppm). A l'Archéen en revanche, de tels organismes n'existent pas (**Maliva et al. 1989**) et la plupart des estimations tendent vers une teneur des océans en silice dissoute beaucoup plus élevée qu'aujourd'hui (de l'ordre de 60 à 120 ppm) (**Siever 1992**).

Il existe deux modèles principaux permettant d'expliquer la formation des cherts Archéens. Le premier consiste à considérer les cherts comme le résultat d'un processus de silicification de roches préexistantes par interaction avec des fluides riches en silice dissoute (**van den Boorn et al. 2007; Rouchon and Orberger 2008**). Le second modèle de formation des cherts consiste en une précipitation directe de silice à partir d'un océan sursaturé en silice dissoute (ce qui est probablement le cas à l'Archéen) suivie d'une floculation permettant aux particules de silice d'être incorporées au sédiment (**Sugitani et al. 1998; van den Boorn et al. 2007**). Les particules formées par précipitation sont majoritairement de la silice amorphe mais il a été montré que du

quartz peut également précipiter directement à partir de l'eau de mer à basse température (Mackenzie and Gees 1971). Au cours de ces processus, la présence de matière organique ou d'organismes vivants est susceptible d'avoir joué un rôle dès l'Archéen notamment en modifiant des paramètres clés comme la solubilité de la silice (Birnbaum and Wireman 1985). A la suite de leur formation, la diagenèse conduit, en fonction de la nature des cations présents, à la transformation des formes amorphes de silice en des phases mieux cristallisées comme l'opale-CT ou le quartz (Kastner 1977). Ceci explique pourquoi les cherts Archéens constituent d'excellents témoins de cette époque et notamment de la composition des océans archéens (Sugitani et al. 1998) ainsi que de la nature de l'éventuelle biosphère. La présence dans les cherts de différentes formes cristallographiques de silice nous amène à nous intéresser à leur structure et à préciser la terminologie que nous utiliserons dans la suite de cette étude.

#### b. Structures de la silice



**Figure 1.** Différentes structures de la silice. A. Maille du quartz- $\alpha$  B. Organisation d'un gel de silice en solution. Chaque sphère représente une particule de silice amorphe C. Différentes structures de silice amorphe colloïdale. (d'après Iler 1979 et Papirer 2000)

La silice se présente sous des formes très diverses dans les milieux naturels (Fig. 1). A l'état solide, on distingue en particulier (Iler 1979) : (i) la silice anhydre (principalement quartz, tridymite, cristobalite) en général très cristalline et pouvant former de gros cristaux parfois macrométriques, (ii) la silice hydratée (opale A et opale CT), (iii) la silice micro-amorphe (gels, colloïdes) constituée de particules amorphes inférieures au  $\mu\text{m}$  et formée à basse température et (iv) la silice vitreuse, constituée de silice amorphe et formée par refroidissement rapide de

silice liquide. Les cherts Archéens tels qu'on peut les observer aujourd'hui sont constitués presque exclusivement de silice anhydre micro-cristalline (quartz) (Orberger et al. 2006) mais il est vraisemblable que d'autres formes de silice aient été présentes au moment de leur formation (Perry and Lefticariu 2007). La silice est susceptible d'exister également sous forme dissoute  $\text{Si}(\text{OH})_4$  (acide silicique). Ce composé moléculaire peut se déprotoner en milieu basique (à  $\text{pH} > 10$ ).

A l'échelle moléculaire, la silice est constituée d'atomes de silicium entourés généralement de 4 atomes d'oxygène formant un tétraèdre. Il est d'usage de voir la silice comme un polymère formé d'une succession d'unités  $[\text{SiO}_4]$ . Dans le cas de minéraux cristallins comme le quartz, ces unités forment une structure périodique à 3 dimensions dont la maille est représentée Fig.

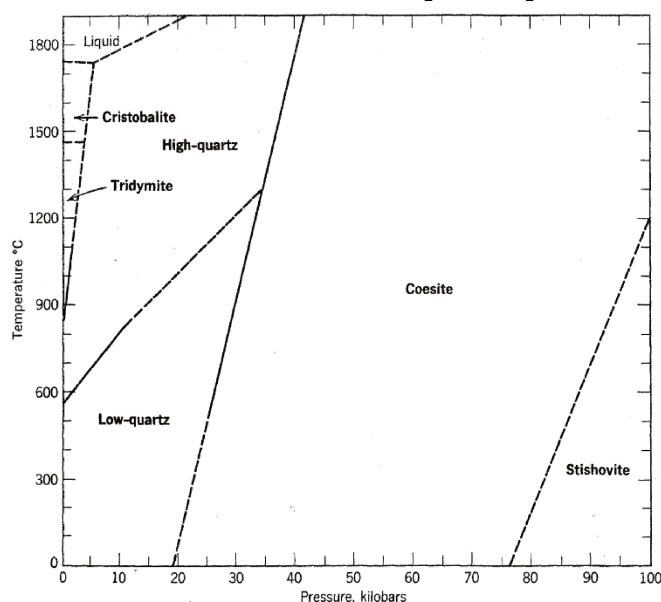


Figure 2. Diagramme de stabilité de la silice d'après Klein 2001

1A. Il est important de noter que toutes les formes de silice amorphe sont métastables quelles que soient les conditions et tendent à évoluer vers des phases cristallines plus stables en fonction des conditions physico-chimiques du milieu. Un diagramme de stabilité de la silice (Fig. 2) montre qu'aux températures typiques de la

diagénèse (200-300°C) et à basse pression, le polymorphe de silice le plus stable est le

quartz (Swamy et al. 1994; Klein 2001). Ceci explique pourquoi les cherts archéens contiennent essentiellement du quartz micro-cristallin. En conditions hydrothermales, le quartz est également le polymorphe de silice le moins soluble (Iler 1979).

## 2. Système expérimental

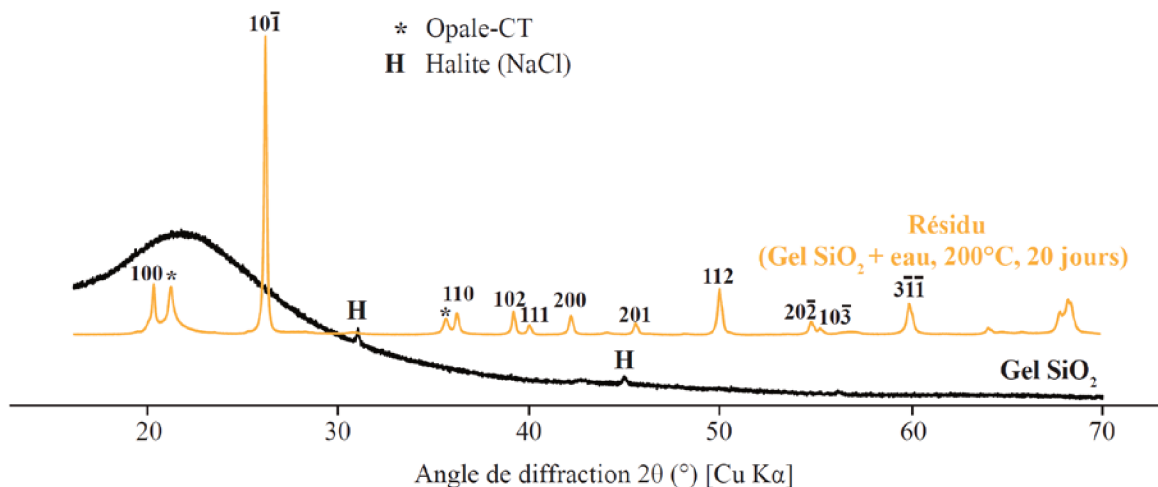
L'ARN apparaît comme la biomolécule la plus emblématique et la plus importante du vivant primitif dans l'hypothèse du « monde à ARN ». C'est une molécule qui présente plusieurs réactivités caractéristiques du vivant grâce à la présence simultanée de phosphates (également présents dans le vivant dans l'ATP ou les phospholipides), de sucres (présents en quantité importante dans le vivant) et des bases azotées.

Il paraît important d'identifier les principaux produits de dégradation de l'ARN afin d'évaluer la possibilité de reconnaître dans des cherts des traces du monde à ARN. Pour cela, nous avons placé de l'ARN en présence de silice en conditions hydrothermales (20 jours, 200°C) afin de simuler des processus de diagénèse consécutifs à l'enfouissement de la matière organique. En réalité, l'interaction entre la silice et la matière organique commence à un stade précoce de la formation des cherts et donc principalement avec de la silice micro-amorphe. Nous nous focaliserons donc dans un premier temps sur les interactions entre l'ARN et des gels de silice amorphe (§ III.). Les cherts Archéens étant constitués majoritairement de phases microcristallines (notamment le quartz) et éventuellement d'autres types de matériaux d'origine volcanique comme la silice vitreuse, nous étudierons également l'influence de ces diverses formes de silice sur la dégradation de l'ARN au cours de la diagénèse (§ IV).

## II. Fossilisation d'ARN en présence de silice micro-amorphe

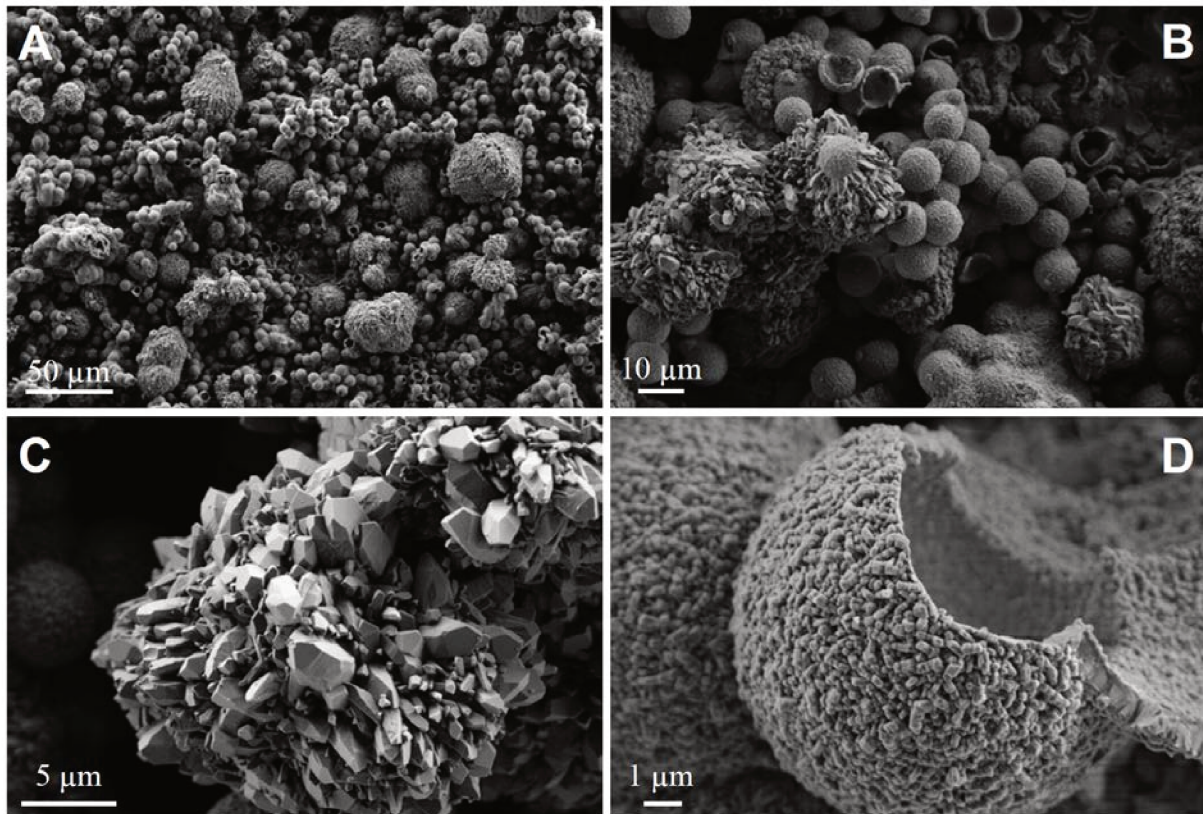
### 1. Cristallisation du gel de silice en conditions hydrothermales (expérience témoin)

Le gel de silice (Gel  $\text{SiO}_2$ ) utilisé comme matrice minérale dans les expériences de fossilisation se présente sous la forme d'un matériau amorphe comme le montre son diffractogramme de rayons X (Fig. 3). Il contient de la silice  $\text{SiO}_2$  sous forme polymérisée, de la silice en solution (sous forme  $\text{Si}(\text{OH})_4$  car le pH initial est de 2,4) et des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  provenant de la synthèse du gel (voir partie 2 I.). Le diffractogramme de rayons X du gel séché montre d'ailleurs que ces ions précipitent pour former le solide  $\text{NaCl}$  (halite). Après traitement hydrothermal (200°C, 20 jours, 15 bars, sous air) en absence d'ARN, le gel cristallise pour former un résidu composé d'opale-CT et de quartz, facilement identifiables en DRX (Fig. 3). Son observation au MEB (Fig. 4C) montre que les cristaux de quartz formés ont une dimension de l'ordre de quelques  $\mu\text{m}$  et présentent une morphologie caractéristique (faces prismatiques terminées par une pyramide (Haüy 1801)). L'opale-CT est présente quant à elle sous forme de lépisphères creuses caractéristiques (Flörke et al. 1976) formées de cristallites d'une centaine de nm environ (Fig.



**Figure 3.** Diffractogramme X sur poudre du gel amorphe de départ séché et après traitement hydrothermal. Les réflexions (hkl) indexées correspondent à celles du quartz.



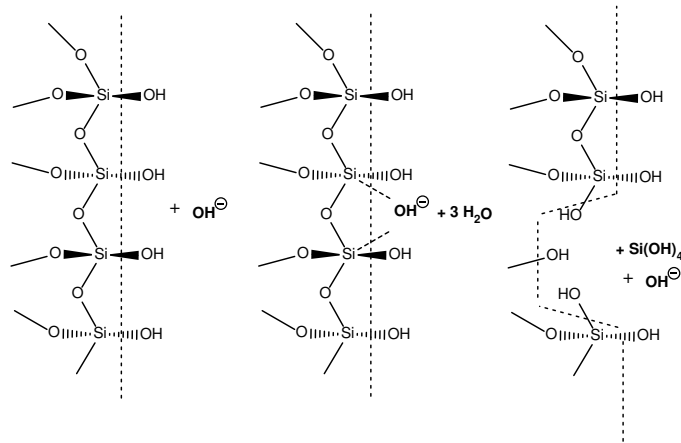


**Figure 4.** Images MEB du matériau obtenu après traitement hydrothermal (200° C, 20 jours) du gel de silice en absence d'ARN

4A, B, D). L'absence d'halite (NaCl) dans le résidu s'explique simplement par le fait que les résidus sont lavés à l'eau en sortie d'expérience.

Les réactions se produisant au cours de cette expérience témoin s'inscrivent dans la séquence diagénétique classique de formation des cherts : Opale-A (Silice amorphe) → Opale-CT → Quartz (**Kastner 1977**). Un mécanisme de type dissolution-recristallisation permet d'expliquer la formation de quartz et d'opale-CT à partir du gel de silice (**Carr and Fyfe 1958**). Le fait que le résidu expérimental contienne après 20 jours un mélange quartz/opale-CT (l'opale-CT étant métastable) implique l'existence de barrières cinétiques dans le processus de formation du quartz. L'élévation initiale de la température (de 25 à 200°C) ayant pour effet d'augmenter fortement la solubilité du gel, la première étape de ce mécanisme est donc la dissolution du gel de silice (**Iler 1979**). Ce processus de dissolution est catalysé, en l'absence de cations métalliques et de matière organique, uniquement par les ions hydroxydes présents dans la solution (ce qui à pH=2,4 constitue une première limitation cinétique) (Fig. 5). Dans le cas présent, il est donc plus vraisemblable qu'à un tel pH le processus de dissolution fasse intervenir les ions Na<sup>+</sup> et leur

sphère de solvation (Iler 1979). Le pH final atteignant environ 10, il est clair que l'importance de l'effet catalytique des ions hydroxydes sur la dissolution s'accroît au cours du temps. Au bout d'un certain temps, la dissolution du gel permet d'atteindre une concentration en acide silicique suffisante pour recristalliser de l'opale-CT et du quartz dont les solubilités sont beaucoup plus faibles que la silice amorphe. Ceci aboutit ainsi à la formation de nuclei de quartz et d'opale-CT, suivie de leur croissance entraînant *in fine* la dissolution complète du gel. D'un point de vue cinétique, la croissance de l'opale-CT est plus rapide que celle du quartz, cependant il en va de même de sa dissolution. La composition finale du système (entre quartz et opale-CT) est ainsi difficile à prévoir sans modélisation thermocinétique et l'obtention d'un mélange comme observé lors d'une expérience de 20 jours n'est pas surprenant.



**Figure 5.** Schéma de dissolution de la silice catalysée par les ions hydroxydes. Le silicium passe par un état intermédiaire pentacoordonné ce qui affaiblit les liaisons Si-O (adapté de Iler, 1979)

## 2. Description globale du résidu solide (analyse « bulk »)

Comme nous venons de le voir, le gel de silice seul cristallise en un mélange quartz/opale-CT après traitement hydrothermal. En revanche, lorsque la même expérience est réalisée en présence d'ARN, la DRX comporte un unique pic très large centré autour de 4,2 Å (Fig. 6). Dans ces conditions le gel n'a donc pas cristallisé et le matériau obtenu est une silice amorphe de structure proche de celle du matériau de départ. Par ailleurs, plusieurs pics fins sont aussi observés dans le diffractogramme. Ces signaux correspondent à des phosphates de sodium ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) issus de l'hydrolyse des ponts phosphodiester de l'ARN. Les cations sodium

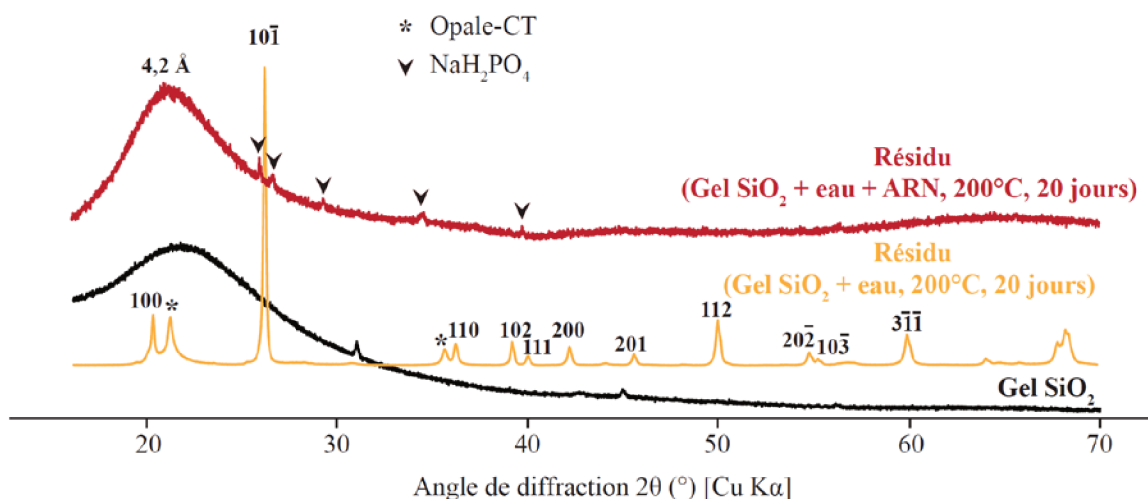
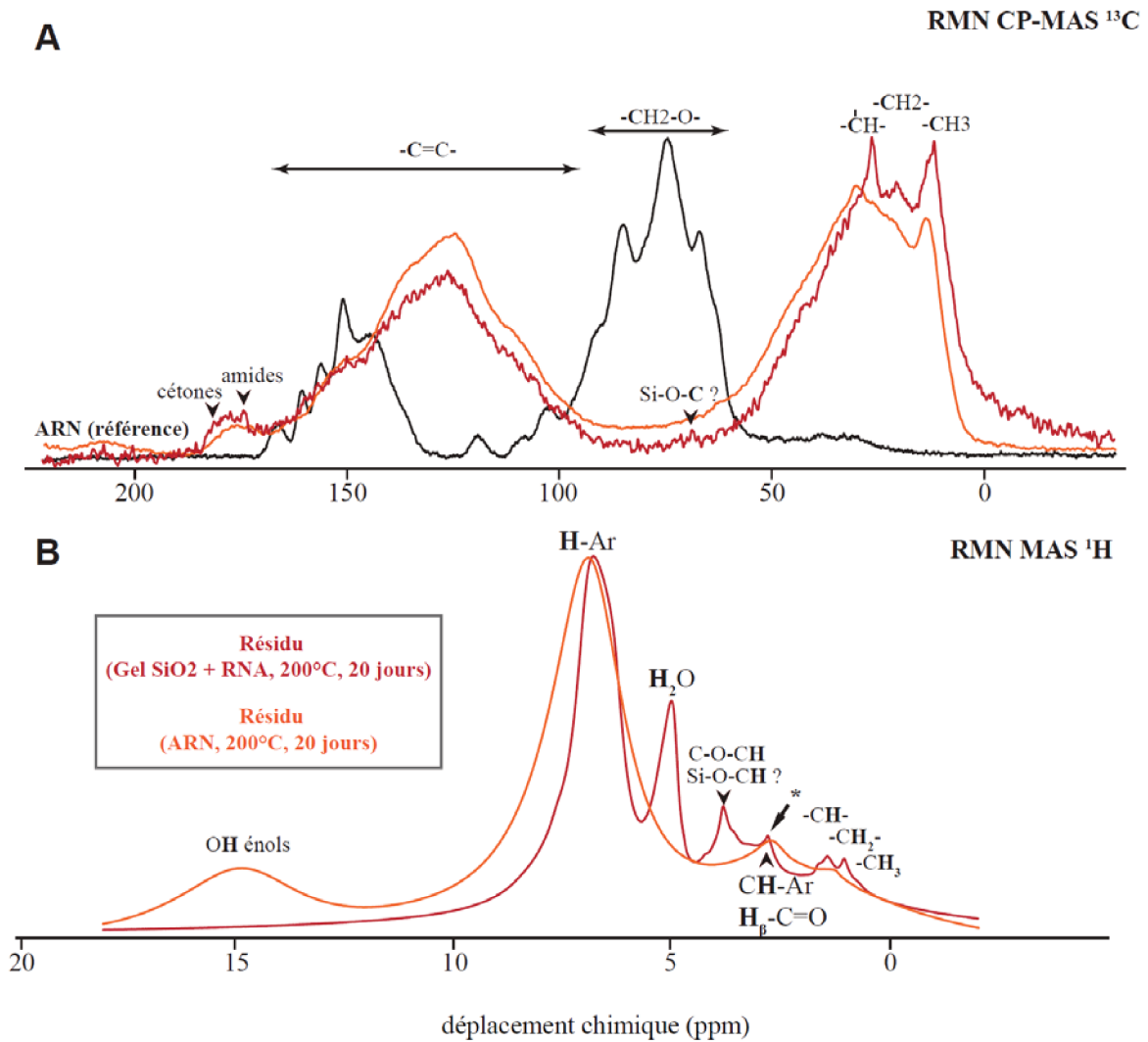


Figure 6. Diffractogrammes de rayons X du résidu expérimental après traitement hydrothermal (rouge)

proviennent quant à eux des réactifs utilisés pour former le gel (orthosilicates de sodium dans la soude) (voir partie 2 I.).

Concernant la fraction organique du résidu, le spectre obtenu par RMN CP-MAS du  $^{13}\text{C}$  se décompose en 3 régions (Fig. 7A) : (i) un groupe de pics très larges entre 0 et 50 ppm correspondant aux carbones aliphatiques, (ii) un groupe de pics très larges entre 95 et 160 ppm correspondant aux carbones impliqués dans des C=C (alcènes, (hétéro)cycles aromatiques) et (iii) un signal d'intensité faible entre 170 et 180 ppm correspondant à des fonctions carbonylées (cétones, acides carboxyliques, amides, esters). Il est possible de noter également la présence d'un pic très peu intense à 70 ppm caractéristique des alcoxydes (C-O-C). En RMN MAS du  $^1\text{H}$  (Fig. 7B), le pic intense à 6,8 ppm correspond aux H des cycles (hétéro)aromatiques et vraisemblablement aussi aux amides. Les  $\text{H}_\beta$  des cétones sont quant à eux visibles à 2,8 ppm. Le pic à 3,8 ppm confirme la présence d'alcoxydes carbonés (C-O-C) ou éventuellement d'alcoxydes de silicium (Si-O-C). Une autre différence est la légère augmentation de la quantité de carbones aliphatiques et un pic des amides plus visible dans le résidu produit en présence de silice. Enfin, la RMN MAS du  $^1\text{H}$  met en évidence la présence d'eau dans le résidu bien qu'il ait été séché à l'étuve. Le résidu solide contient donc une certaine quantité d'eau adsorbée ou piégée.

Finalement, la spectroscopie RMN MAS ( $^{13}\text{C}$  et  $^1\text{H}$ ) du résidu montre que les produits de dégradation sont, à l'instar du résidu témoin sans silice, assez peu fonctionnalisés, plutôt



**Figure 7.** A. Spectres RMN du  $^{13}\text{C}$  obtenus en polarisation croisée (CP-MAS). B. Spectres RMN MAS du  $^1\text{H}$  obtenus en détection directe

insaturés et très différents de l'ARN qui a constitué la molécule de départ. La présence de silice micro-amorphe conduit donc à une dégradation de l'ARN très légèrement différente de celle observée sans silice. Cependant, il paraît difficile de conclure à partir de ces résultats d'un effet significatif de la silice sur la préservation moléculaire de l'ARN dans les conditions employées ici (200°C, 15 bars, 20 jours), correspondant à des conditions de diagénèse précoce. Dans ce cas, l'interaction silice-matière organique est donc différente du cas des expériences réalisées avec des micro-organismes à 250°C, 250 bars, où un effet significatif de la silice sur la préservation est observé (Alleon et al. 2016). Cette étude rapporte en particulier la persistance de signatures (en XANES) de fonctions amides sur 100 jours en présence de silice. Les pics des amides étant

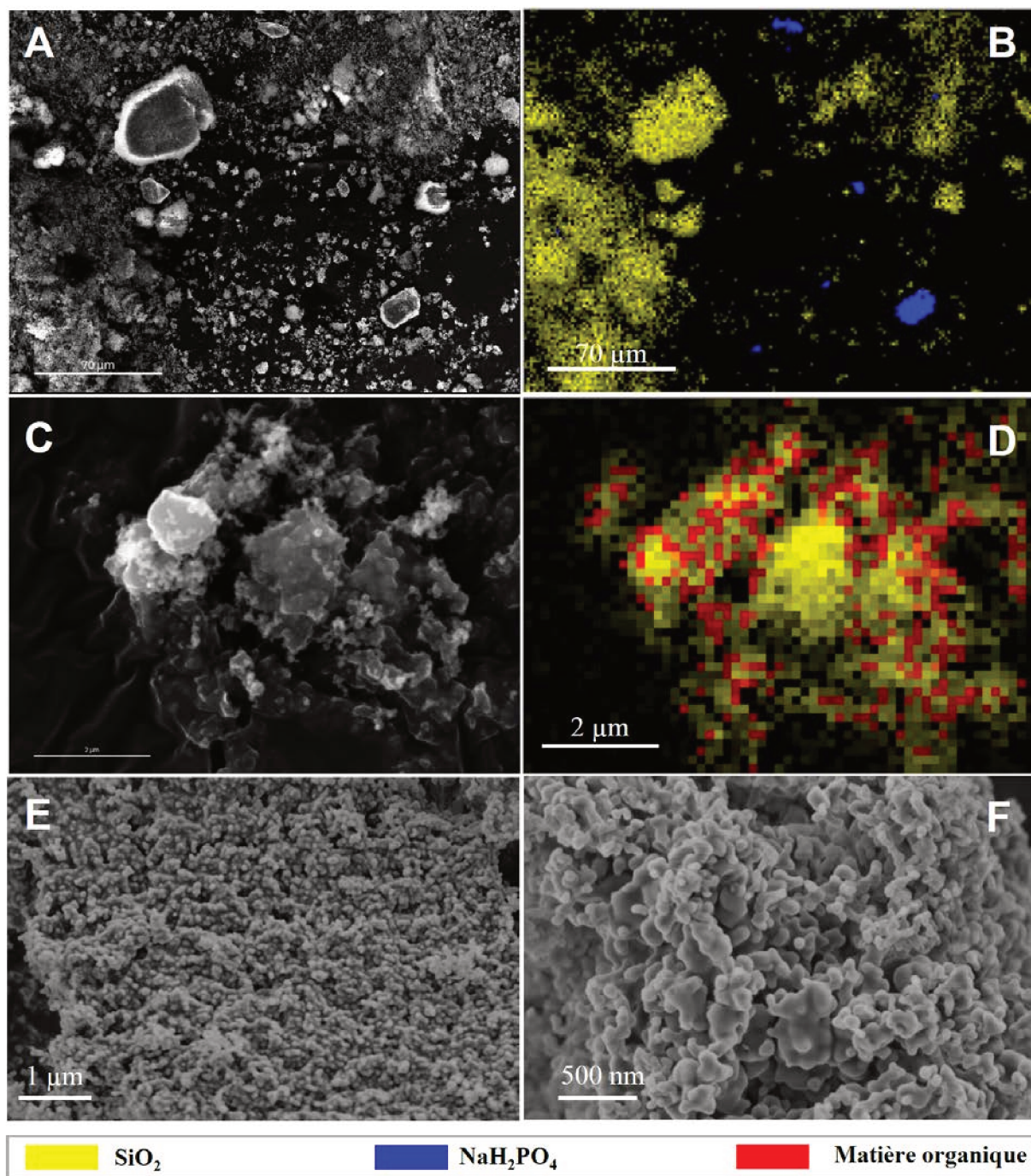
systématiquement superposés en RMN MAS du  $^1\text{H}$  à d'autres pics (Fig. 7B), il est impossible dans notre cas de quantifier la différence entre les expériences avec et sans silice. La RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 7A) suggère tout de même qualitativement qu'il existe une différence au pic des amides entre les deux échantillons. Un effet de préservation de signatures moléculaires induit par la silice et d'effet similaire à celui observé par Alleon et al. serait donc envisageable dans le cas de l'ARN à plus basse pression et température et pourrait être confirmé plus quantitativement par spectroscopie XANES.

### 3. Description de l'hétérogénéité du résidu solide (analyse microscopique)

A l'échelle microscopique, l'échantillon est relativement homogène et forme de gros agrégats de plusieurs dizaines de  $\mu\text{m}$  constitués majoritairement de silice comme le montre les images obtenues au MEB et les données EDS (Fig. 8A, B). Les phosphates de sodium ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) identifiés en DRX forment des cristaux indépendants de la silice et leur composition est confirmée en EDS. A cette échelle (Fig. 8A, B), il n'est pas possible de séparer les composantes correspondant à la matière organique de l'échantillon et celle du scotch carbone utilisé. A plus petite échelle, la structure caractéristique de la silice micro-amorphe est reconnaissable sur les images MEB (Fig. 8E, F). Celle-ci se compose de particules très hétéromorphes d'environ 50 nm, qui sont très similaires à celles présentes à l'état gel dans la matrice minérale de départ. Ces particules sont partiellement recouvertes de matière organique comme le montre leur cartographie EDS (Fig. 8C, D). Les conditions employées ici ne permettent pas de déduire rigoureusement le rapport N/C de cette matière organique mais celle-ci contient une quantité significative d'azote et il est donc possible de déconvoluer sa composante de celle du scotch et d'obtenir sa cartographie. La matière organique est présente sur l'ensemble des agrégats de silice et ne semble pas former de particules isolées et visibles en MEB comme dans le cas où l'ARN est seul (Fig. 7, partie 3).

Un schéma bilan des résultats de cette section est consultable Fig. 9.





**Figure 8.** A.C.E.F. Images MEB du résidu B.D. Cartographies EDS du résidu. Chaque couleur représente une composante obtenue par déconvolution du signal

#### 4. Hypothèses mécanistiques

Le fait que la matière organique se répartisse préférentiellement sur la silice est le témoin d'une auto-organisation très différente de celle observée en absence de silice où l'on assiste à la

formation de micelles et de plaquettes. Ceci suggère un phénomène d'interaction d'une partie de la matière organique avec les surfaces minérales du gel de silice.

La signature moléculaire de la matière organique est cependant très proche de celle observée en absence de silice. Malgré l'existence probable d'interfaces silice/matière organique, il n'y a donc pas de raison de penser que les processus de dégradation de la matière organique soient très différents de ceux sans silice décrits au §II (dissolution, hydrolyse, déshydratation, condensation). Cependant, la présence de silice influence l'organisation du liquide et il apparaît plus favorable dans ce cas de former des interfaces silice/matière-organique/eau que des interfaces air/matière-organique ou eau/matière-organique. D'un point de vue moléculaire, cette affinité de la matière organique avec la silice s'explique par la présence de groupements silanols (Si-OH) en surface du gel de silice (**Lambert 2008**). Ces groupements peuvent former des liaisons hydrogène avec les composés formés en solution comprenant des groupements acides carboxyliques, amides et cétones. La présence de silanols est également à l'origine d'interactions électrostatiques car le très faible caractère basique des silanols implique que les surfaces de silice soient la plupart du temps chargées négativement sauf en milieu très acide (le pH au PZC (point de charge nulle) est compris entre 2 et 3,5) (**Papirer 2000; Dixit and Van Cappellen 2002**). Le pH en fin d'expérience étant autour de 10, les surfaces de silice chargées négativement peuvent alors fixer des amines sous leur forme ammonium par interaction électrostatique. Ceci explique également le fait que les anions phosphate précipitent séparément avec les cations sodium. Enfin, une chimisorption de certains composés organiques par formation de liaisons covalentes Si-O-C est également envisageable (**Rimola et al. 2013**). **Alleon et al.** ont également soulevé cette hypothèse à la suite de leurs expériences de fossilisation expérimentale de microorganismes dans des gels de silice en conditions hydrothermales (**Alleon et al. 2016**). Dans notre cas, cette hypothèse est appuyée par la présence de pics alcoxydes en RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  sans toutefois être démontrée car ces pics peuvent tout à fait s'expliquer par la présence d'étheroxydes carbonés (C-O-C). Une analyse complémentaire en RMN MAS  $^{29}\text{Si}$  pourrait permettre de repérer spécifiquement les alcoxydes de silicium (**Hsu et al. 2000**). Les faibles différences observées avec l'expérience sans silice et en particulier la

production légèrement supérieure de chaînes aliphatiques peuvent s'expliquer par le fait que des réactions peuvent avoir lieu entre des réactifs adsorbés. Toutefois, il apparaît que ce phénomène est limité et que le rôle catalytique de la silice est faible dans le cas présent.

L'hypothèse d'une adsorption rapide des composés organiques explique également l'absence de cristallisation du gel de silice. En effet, l'occupation des sites de surface par des composés organiques bloque cinétiquement la dissolution du gel. Sa reprécipitation sous forme de quartz ou d'opale-CT, n'est donc pas possible en 20 jours dans les conditions expérimentales utilisées. Ce ralentissement de la cristallisation de la silice en présence de matière organique explique pourquoi de l'opale-CT localisée autour de microfossiles a pu être observée dans des roches de la Old Draken Formation (700-800 Ma), dont la matrice est par ailleurs constituée de quartz (**Foucher and Westall 2013**). En revanche, il est possible qu'une forte pression permette de quand même cristalliser du quartz à l'instar des expériences d'Alleon et al. dans lesquelles des gels de silice cristallisent au bout de quelques jours malgré la présence de cyanobactéries à 250 bars et 250°C.

La faible cristallinité de la silice semble donc être dans certains cas un indice de la présence de matière organique et en particulier lorsque la roche a connu des pressions faibles, c'est-à-dire uniquement dans le cas d'une interaction silice-matière organique lors des premiers stades de la diagénèse.



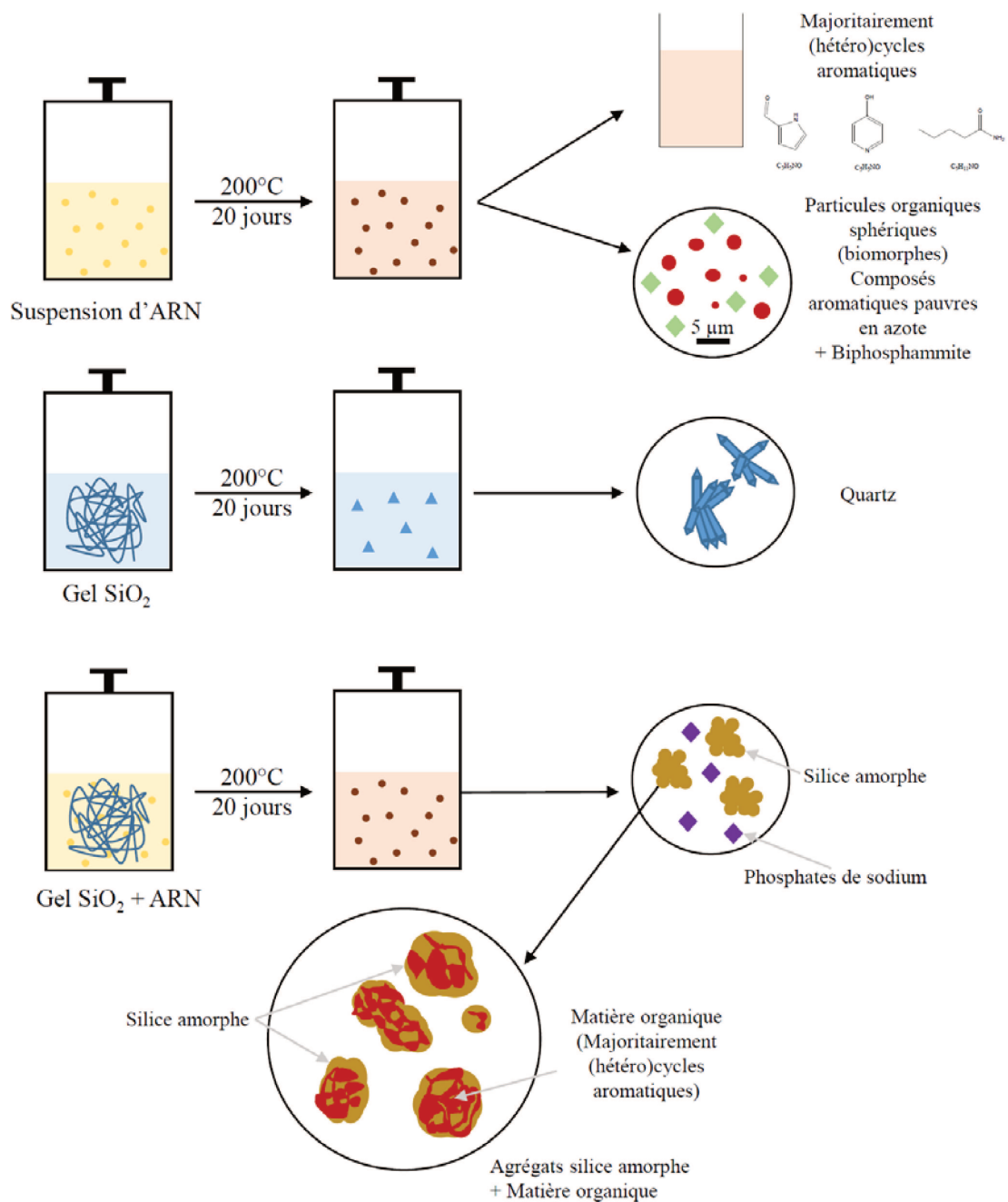


Figure 9. Schéma bilan

### III. Influence de la cristallinité de la matrice minérale sur la fossilisation

Après avoir étudié l'évolution d'un assemblage ARN/silice micro-amorphe (§III), nous allons maintenant nous intéresser à des assemblages faisant intervenir les deux autres principaux types de silice présentés §I : le quartz et la silice vitreuse (ou silice fumée). Des expériences de fossilisation expérimentale de l'ARN analogues à celles réalisées précédemment ont été conduites (cf. Partie 2.I). Dans toutes les expériences de cette section, une atmosphère inerte d'argon a été utilisée. Ces expériences permettent donc uniquement de comparer l'influence de 2 formes de silice différentes : le quartz et de la silice fumée, et ne seront donc pas comparées à l'expérience de la partie 3 (ARN, 20 jours, 200°C, sous air).

#### 1. Description minéralogique des résidus

Les diffractogrammes de rayons X du quartz et de la silice fumée utilisés comme matrices minérales dans ces expériences sont présentés Fig. 10 (références). Le quartz est identifiable par ses réflexions caractéristiques tandis que la silice fumée produit un signal large caractéristique de la silice amorphe centré à 4,2 Å (très similaire au gel présenté §III).

Après traitement hydrothermal en absence d'ARN, les diffractogrammes de rayons X de ces matériaux ne changent pas (Fig. 10). Les matériaux obtenus sont donc très proches des matériaux initiaux (quartz ou silice fumée). Dans le cas du quartz, les images MEB montrent que quelques rares figures de dissolution peuvent être observées à la surface des cristaux (Fig. 13A, C). En effet, à l'introduction du quartz dans l'eau pure un équilibre de dissolution s'établit ce qui explique l'existence de ces structures. Après traitement hydrothermal, les particules de silice fumée présentent une morphologie typique de silice amorphe composée de particules d'environ 50 nm (Fig. 12A, C) très similaires à celles présentes dans le réactif. La silice fumée,

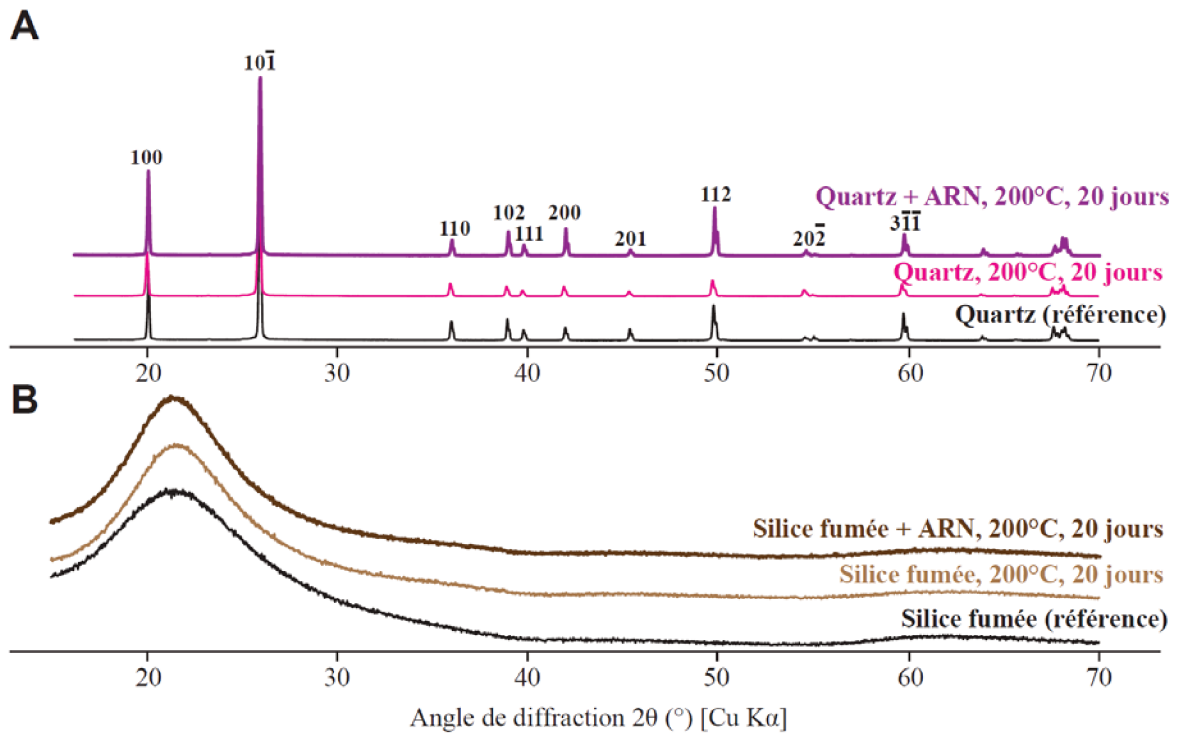


Figure 10. Diffractogrammes de rayons X des résidus solides obtenus A. avec du quartz B. avec de la silice fumée

bien qu'assez soluble et métastable, suit un processus de dissolution très lent (Iler 1979) ce qui empêche sa recristallisation en quartz sur la durée de l'expérience (20 jours).

En présence d'ARN, aucune différence avec les expériences témoins n'est observée dans les diffractogrammes de rayons X (Fig. 10). Concernant l'aspect des minéraux, la forme générale des particules de quartz ne change pas en présence d'ARN, cependant des figures de dissolution

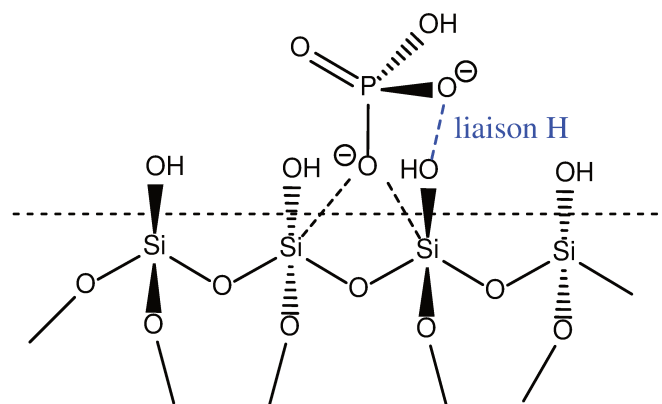
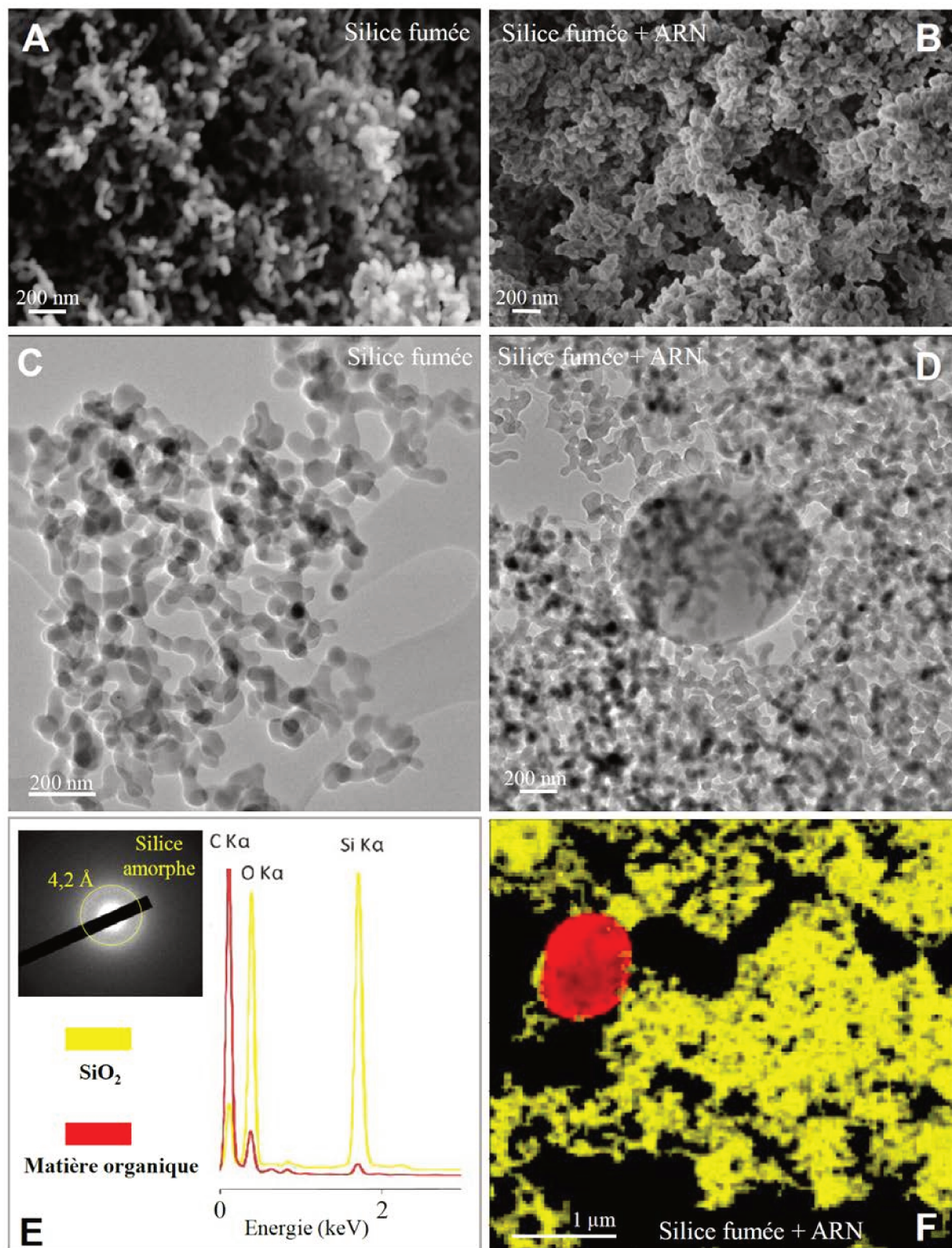
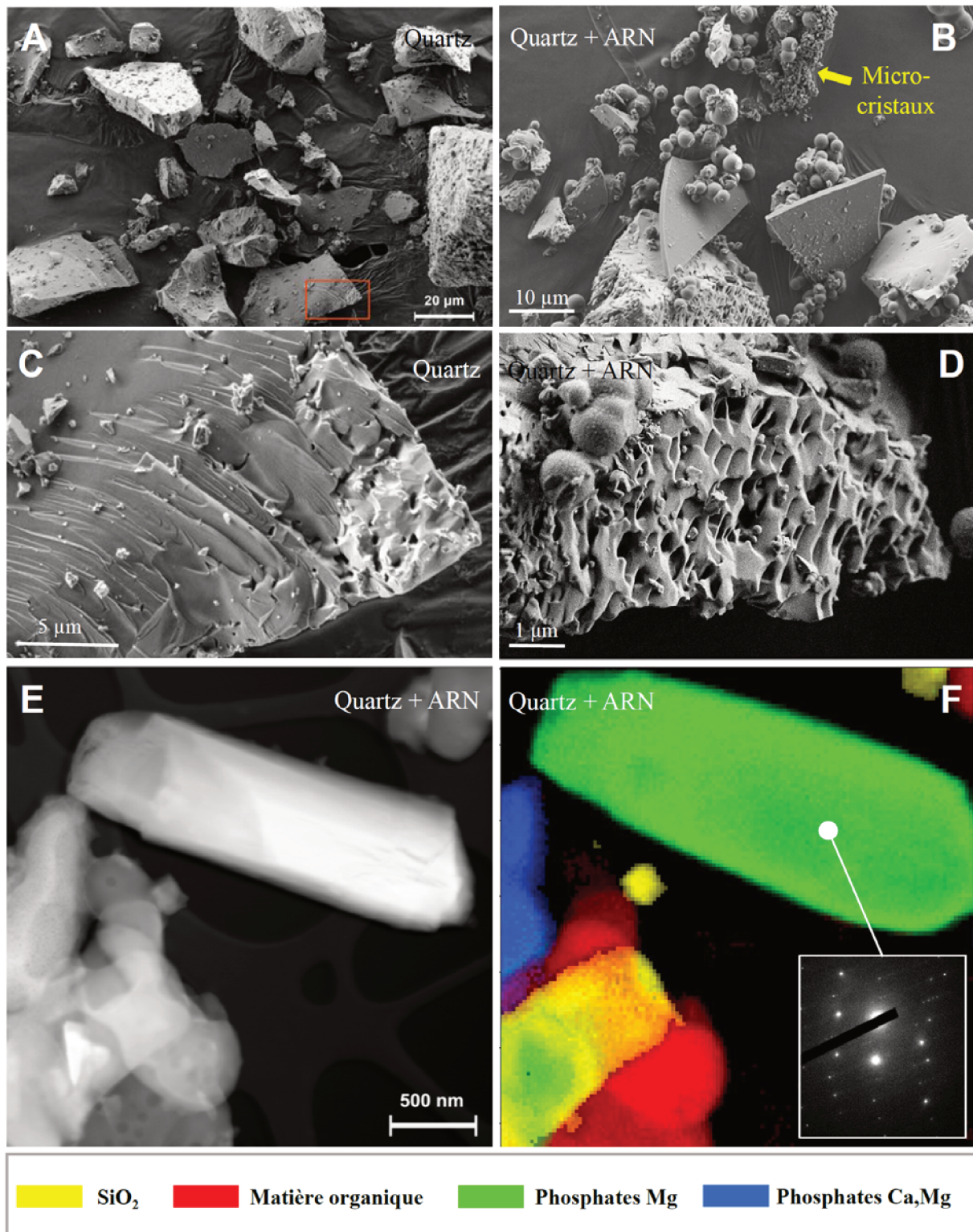


Figure 11. Etat intermédiaire probable lors de la dissolution de la silice catalysée par les ions phosphates. Le silicium passe par un état intermédiaire pentacoordiné et une liaison hydrogène s'établit entre le phosphate et un silanol. Ceci conduit à l'élimination d'un complexe  $\text{Si}(\text{OH})_3\text{HPO}_4^-$  rapidement hydrolysé en  $\text{Si}(\text{OH})_4$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$



**Figure 12.** A.B. Images MEB de la silice fumée après traitement hydrothermal avec et sans ARN, C.D. Images MET de la silice fumée après traitement hydrothermal avec et sans ARN, E. Spectres EDS correspondant aux composants identifiées en F. + cliché de diffraction électronique de la zone correspondant à la silice amorphe, F. cartographie EDS de la silice fumée après traitement hydrothermal en présence d'ARN

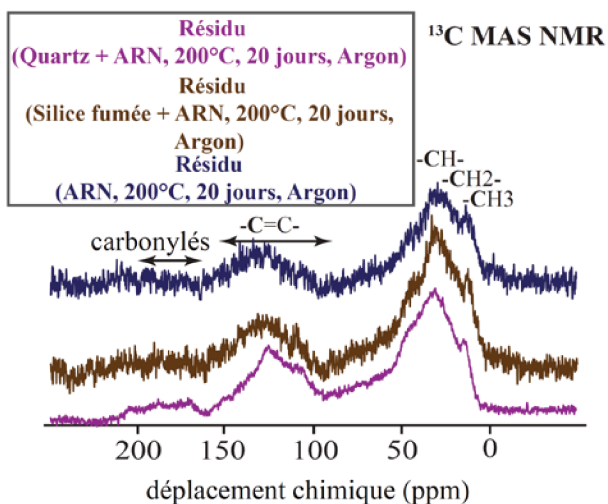




**Figure 13.** A.B.C.D. Images MEB du quartz après traitement hydrothermal avec et sans ARN. E. Image STEM-HAADF du résidu de quartz obtenu en présence d'ARN. F. Cartographie EDS du résidu de quartz obtenu en présence d'ARN + cliché de diffraction électronique correspondant au phosphate de magnésium

apparaissent plus nettement (Fig. 13D). L'accélération de la dissolution de la silice en présence de matière organique est un résultat assez classique que nous avons évoqué au §I (**Birnbaum and Wireman 1985**). Dans le cas de l'ARN, il est envisageable que les phosphates interviennent également selon le schéma réactionnel proposé Fig. 11. Quelques cristaux de phosphates de magnésium présentant un certain caractère cristallin et des phosphates mixtes Ca, Mg ont pu être observés au MET (Fig. 13F) mais ils demeurent présents en faibles quantités car ils sont absents des diagrammes de rayons X sur poudre (Fig. 10).

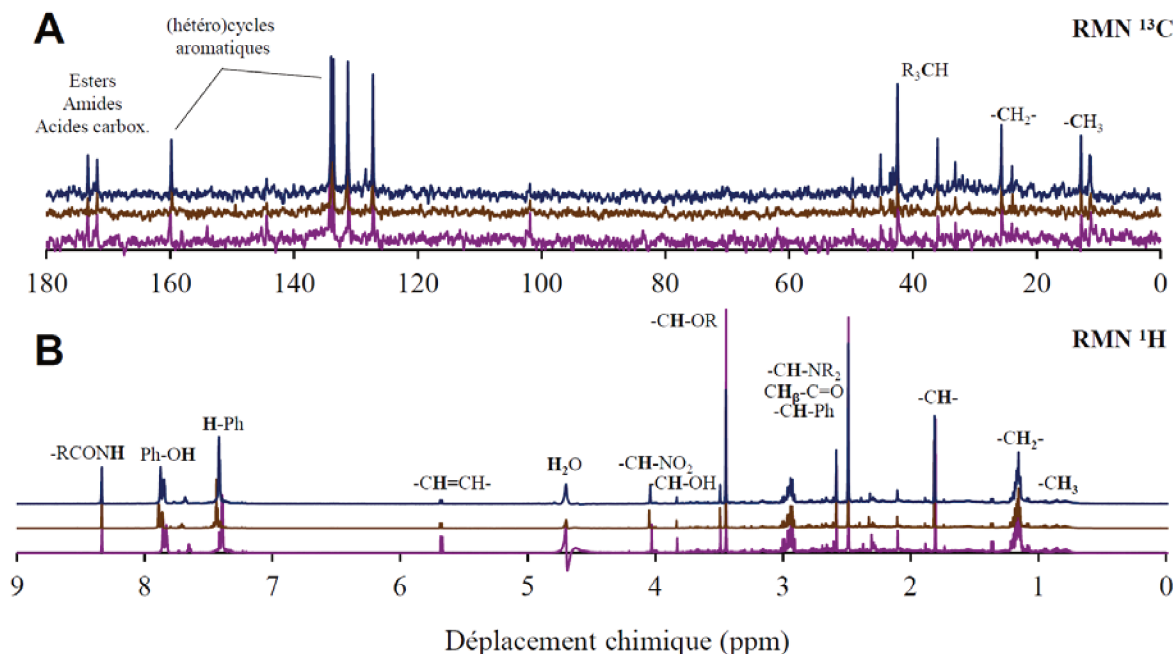
## 2. Contenu organique des résidus



**Figure 14.** Spectres MAS RMN  $^{13}\text{C}$  des résidus solides d'ARN obtenus seul, en présence de quartz et en présence de silice fumée

Les résidus formés en présence de quartz, de silice fumée ou en absence de minéral présentent tous un signal similaire en RMN CP-MAS du  $^{13}\text{C}$  (Fig. 14). Les spectres obtenus se décomposent en 3 régions : (i) un groupe de pics très larges entre 0 et 50 ppm correspondant aux carbones aliphatiques, (ii) un groupe de pics très larges entre 95 et 160 ppm correspondant aux carbones impliqués dans des C=C (alcènes, (hétéro)cycles aromatiques) et (iii) un signal d'intensité faible entre 170 et 200 ppm correspondant à des fonctions carbonylées (cétones, amides, esters et acides carboxyliques). Ceux-ci montrent qu'au cours de ces expériences, la signature moléculaire initiale de l'ARN est perdue et que la matière organique composant les résidus est constituée d'hydrocarbures plutôt insaturés et peu fonctionnalisés, avec toutefois quelques fonctions carbonylées.

Afin d'identifier un éventuel effet des surfaces minérales, les fractions liquides contenant les produits de dégradation solubles ont été analysées en RMN (liquide) du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (Fig. 15). Là



**Figure 15.** Spectres A. RMN  $^{13}\text{C}$  et B. RMN  $^1\text{H}$  des solutions obtenues à partir des résidus d'ARN obtenus seul, en présence de quartz et en présence de silice fumée

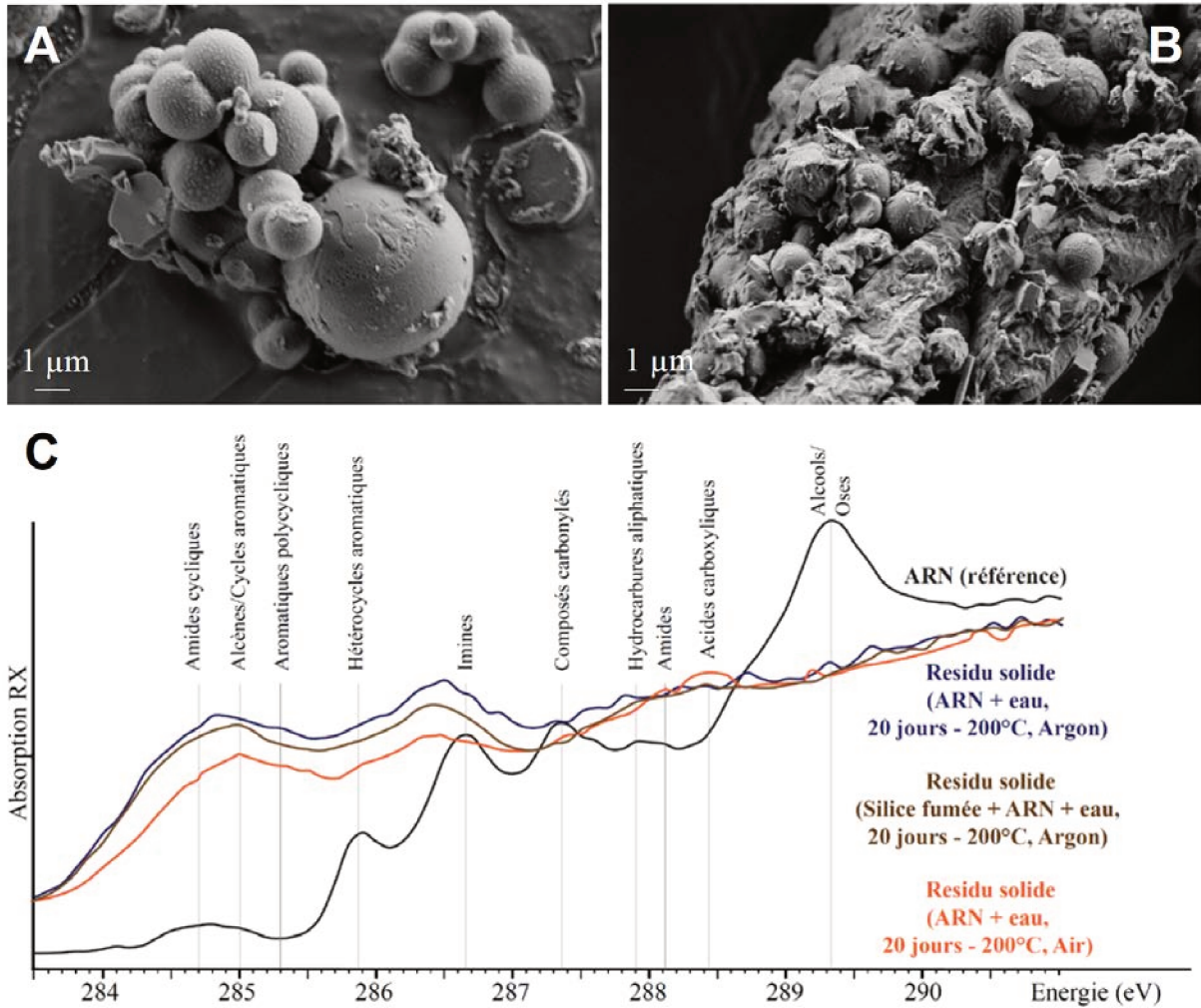
encore, aucune différence notable n'a été observée. En RMN  $^1\text{H}$ , certains pics associés aux mêmes protons sont très légèrement décalés à cause de légères différences de pH (protons échangeables).

L'analyse du spectre RMN du  $^{13}\text{C}$  conduit aux mêmes conclusions que la RMN CP-MAS du  $^{13}\text{C}$  tout en précisant que les composés carbonylés solubles sont essentiellement des amides substitués et des carbonates (pics respectivement à 173 et 160 ppm). La RMN  $^1\text{H}$  montre que certains produits de dégradation solubles présentent des ponts éther-oxydes (pic à 3,44 ppm). Cette série d'expériences montre donc que dans ces conditions (20 jours, 200°C, 15 bars, atmosphère inerte), aucun effet significatif des surfaces minérales (quartz ou silice fumée) n'est observé sur la composition moléculaire finale des résidus.

### 3. Formation de biomorphes organiques

La spectroscopie EDS de l'échantillon préparé avec de la silice fumée montre que la matière organique se présente sous forme de structures sphériques d'environ 1  $\mu\text{m}$  (Fig. 12D, F). Ces





**Figure 16.** A.B. Images MEB des biomorphes organiques obtenus par traitement hydrothermal de l'ARN sous argon. C. Spectres XANES obtenus en STXM

particules, très peu visibles en MEB, sont rares et il est vraisemblable qu'une grande partie d'entre-elles aient été éliminées lors des rinçages du solide.

En présence de quartz, ces mêmes sphères sont visibles mais apparaissent plus abondantes (Fig. 13B). De plus, il est possible d'observer dans cet échantillon des fragments de matière organique sous forme de film (Fig. 13B), ce qui correspond vraisemblablement à l'équivalent du film de surface observé fig. 2.

Les sphères organiques observables dans ces échantillons constituent des structures remarquables, d'une part par leur régularité et d'autre part par leur taille micrométrique proche de la dimension caractéristique d'une cellule vivante (Fig. 16A). Associées à des microparticules de quartz comme dans la fig. 16B, ces sphères forment des assemblages ressemblant à s'y méprendre à des microfossiles emprisonnés dans un chert. Leur signature moléculaire a été



---

déterminée à l'échelle microscopique par micro-spectroscopie XANES (STXM) (Fig. 16C) sur des tranches de sphères préparées par FIB (voir partie 2. XI. 3). Elle est tout à fait comparable à des signatures de kérogènes naturels (**Mao et al. 2010; Bernard and Horsfield 2014**).

Une description plus détaillée de ces structures est présentée dans l'article de Criouet et al. 2020 (annexe 2).

## IV. Conclusions

Cette série d'expériences de fossilisation en conditions hydrothermales montre qu'il est difficile de reconnaître la signature moléculaire initiale de biomolécules comme l'ARN après diagénèse. Contrairement à ce qui a été rapporté dans certaines études expérimentales à la méthodologie similaire (Alleon et al. 2016; Igisu et al. 2018), peu d'effets de préservation des signatures moléculaires de l'ARN par la silice ont été observés ici et ce quelle que soit sa structure (silice micro-amorphe, silice vitreuse ou quartz). L'activité catalytique de la silice semble donc faible dans ces conditions. Globalement très peu d'interactions (physiques ou chimiques) ont lieu entre les produits de dégradations de l'ARN et le quartz ou la silice vitreuse et de nombreux éléments laissent penser que les réactions de dégradation ont lieu en solution. Ce processus conduit à l'auto-organisation de structures sphériques remarquables dont la taille et la morphologie sont particulièrement régulières sous atmosphère inerte. Compte tenu de leur taille similaire à celle de cellules vivantes, ces structures constituent donc des biomorphes organiques très convaincants. En comparaison à d'autres études expérimentales ayant abouti à la synthèse de biomorphes (Noorduyn et al. 2013; Cosmidis and Templeton 2016; Rouillard et al. 2018), les conditions employées ici paraissent extrêmement simples (2 réactifs dans l'eau à T et P constantes). Ceci montre qu'il est possible de former facilement en conditions hydrothermales des structures similaires à des microfossiles à partir de produits de dégradation organiques en solution. L'interprétation de morphologies de ce type dans l'enregistrement fossile doit donc être réalisée avec une extrême prudence.

Dans le cas de la silice micro-amorphe (ici sous forme de gel), des phénomènes d'interaction minéral-matière organique ont lieu et aboutissent à la formation d'assemblages organo-minéraux. Bien que l'activité catalytique de la silice semble faible, ceci montre que si la silice doit exercer une influence sur l'évolution de la matière organique dans les cherts, elle sera certainement plus significative lors des premiers stades de leur formation, en particulier lorsqu'ils contiennent encore des formes micro-amorphes hydratées.

## V. Références

- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2018) Chemical nature of the 3.4 Ga Strelley Pool microfossils. *Geochemical Perspectives Letters* 37–42. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1817>
- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2016) Early entombment within silica minimizes the molecular degradation of microorganisms during advanced diagenesis. *Chemical Geology* 437:98–108. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.05.034>
- Bernard S, Horsfield B (2014) Thermal Maturation of Gas Shale Systems. *Annu Rev Earth Planet Sci* 42:635–651. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-060313-054850>
- Birnbaum SJ, Wireman JW (1985) Sulfate-reducing bacteria and silica solubility: a possible mechanism for evaporite diagenesis and silica precipitation in banded iron formations. *Canadian Journal of Earth Sciences* 22:1904–1909. <https://doi.org/10.1139/e85-206>
- Buick R, Dunlop JSR, Groves DI (1981) Stromatolite recognition in ancient rocks: an appraisal of irregularly laminated structures in an Early Archaean chert-barite unit from North Pole, Western Australia. *Alcheringa: An Australasian Journal of Palaeontology* 5:161–181. <https://doi.org/10.1080/03115518108566999>
- Butterfield NJ (2003) Exceptional Fossil Preservation and the Cambrian Explosion. *Integrative and Comparative Biology* 43:166–177. <https://doi.org/10.1093/icb/43.1.166>
- Cady SL, Farmer JD (2007) Fossilization Processes in Siliceous Thermal Springs: Trends in Preservation Along Thermal Gradients. In: Bock GR, Goode JA (eds) *Novartis Foundation Symposia*. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK, pp 150–173
- Campbell KA, Lynne BY, Handley KM, et al (2015) Tracing Biosignature Preservation of Geothermally Silicified Microbial Textures into the Geological Record. *Astrobiology* 15:858–882. <https://doi.org/10.1089/ast.2015.1307>
- Carr RM, Fyfe WS (1958) Some observations on the crystallization of amorphous silica. *American Mineralogist* 43:908–917
- Cosmidis J, Templeton AS (2016) Self-assembly of biomorphic carbon/sulfur microstructures in sulfidic environments. *Nature Communications* 7:. <https://doi.org/10.1038/ncomms12812>
- De Gregorio BT (2006) The structure and distribution of carbon in 3.5 Ga Apex chert: Implications for the biogenicity of Earth's oldest putative microfossils. *American Mineralogist* 91:784–789. <https://doi.org/10.2138/am.2006.2149>
- Dixit S, Van Cappellen P (2002) Surface chemistry and reactivity of biogenic silica. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66:2559–2568. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(02\)00854-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(02)00854-2)
- Flörke OW, Hollmann R, von Rad U, Rösch H (1976) Intergrowth and twinning in opal-CT lepispheres. *Contributions to Mineralogy and Petrology* 58:235–242. <https://doi.org/10.1007/BF00402354>
- Foucher F, Westall F (2013) Raman Imaging of Metastable Opal in Carbonaceous Microfossils of the 700–800 Ma Old Draken Formation. *Astrobiology* 13:57–67. <https://doi.org/10.1089/ast.2012.0889>

- Haüy RJ (1801) *Traité de minéralogie*. Paris
- Hsu YG, Chiang IL, Lo JF (2000) Properties of hybrid materials derived from hydroxy-containing linear polyester and silica through sol-gel process. I. Effect of thermal treatment. *Journal of Applied Polymer Science* 78:1179–1190. [https://doi.org/10.1002/1097-4628\(20001107\)78:6<1179::AID-APP20>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1097-4628(20001107)78:6<1179::AID-APP20>3.0.CO;2-T)
- Igisu M, Yokoyama T, Ueno Y, et al (2018) Changes of aliphatic C-H bonds in cyanobacteria during experimental thermal maturation in the presence or absence of silica as evaluated by FTIR microspectroscopy. *Geobiology* 16:412–428. <https://doi.org/10.1111/gbi.12294>
- Iler RK (1979) *The chemistry of silica: solubility, polymerization, colloid and surface properties, and biochemistry of silica*. Wiley, New-York
- Kastner M (1977) Diagenesis of siliceous oozes-4 Chemical controls on the rate of opal-A to opal-CT transformation- an experimental study. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 41:18
- Klein C (2001) *Manual of Mineral Science*, 22th edition. Wiley
- Konhauser KO, Ferris FG (1996) Diversity of iron and silica precipitation by microbial mats in hydrothermal waters, Iceland: Implications for Precambrian iron formations. *Geology* 24:323. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1996\)024<0323:DOIASP>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1996)024<0323:DOIASP>2.3.CO;2)
- Lalonde SV, Konhauser KO, Reysenbach A-L, Ferris FG (2005) The experimental silicification of Aquificales and their role in hot spring sinter formation. *Geobiology* 3:41–52. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2005.00042.x>
- Lambert J-F (2008) Adsorption and Polymerization of Amino Acids on Mineral Surfaces: A Review. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 38:211–242. <https://doi.org/10.1007/s11084-008-9128-3>
- Lepot K, Williford KH, Ushikubo T, et al (2013) Texture-specific isotopic compositions in 3.4Gyr old organic matter support selective preservation in cell-like structures. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 112:66–86. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2013.03.004>
- Mackenzie F, Gees R (1971) Quartz: synthesis at earth-surface conditions. *Science* 173:533–535
- Maliva RG, Knoll AH, Siever R (1989) Secular Change in Chert Distribution: A Reflection of Evolving Biological Participation in the Silica Cycle. *PALAIOS* 4:519. <https://doi.org/10.2307/3514743>
- Mao J, Fang X, Lan Y, et al (2010) Chemical and nanometer-scale structure of kerogen and its change during thermal maturation investigated by advanced solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74:2110–2127. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2009.12.029>
- Nisbet EG (1987) *The young earth: an introduction to Archaean geology*. Allen & Unwin, Boston
- Noorduyn WL, Grinthal A, Mahadevan L, Aizenberg J (2013) Rationally Designed Complex, Hierarchical Microarchitectures. *Science* 340:832–837. <https://doi.org/10.1126/science.1234621>
- Oehler JH (1976) Experimental studies in Precambrian paleontology: Structural and chemical changes in blue-green algae during simulated fossilization in synthetic chert. *Geological Society of America Bulletin* 87:117–129

- Oehler JH, Schopf JW (1971) Artificial Microfossils: Experimental Studies of Permineralization of Blue-Green Algae in Silica. *Science* 174:1229–1231
- Orange F, Chabin A, Gorlas A, et al (2011) Experimental fossilisation of viruses from extremophilic Archaea. *Biogeosciences* 8:1465–1475. <https://doi.org/10.5194/bg-8-1465-2011>
- Orange F, Disnar J-R, Gautret P, et al (2012) Preservation and Evolution of Organic Matter During Experimental Fossilisation of the Hyperthermophilic Archaea *Methanocaldococcus jannaschii*. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 42:587–609. <https://doi.org/10.1007/s11084-012-9318-x>
- Orberger B, Rouchon V, Westall F, et al (2006) Microfacies and origin of some Archean cherts (Pilbara, Australia). In: *Processes on the Early Earth*. Geological Society of America
- Papineau D (2010) Mineral Environments on the Earliest Earth. *Elements* 6:25–30. <https://doi.org/10.2113/gselements.6.1.25>
- Papirer E (2000) Adsorption on silica surfaces. Marcel Dekker Inc., New-York
- Perry, Lefticariu (2007) Formation and Geochemistry of Precambrian Cherts. *Treatise on Geochemistry* 7:21
- Rimola A, Costa D, Sodupe M, et al (2013) Silica Surface Features and Their Role in the Adsorption of Biomolecules: Computational Modeling and Experiments. *Chemical Reviews* 113:4216–4313. <https://doi.org/10.1021/cr3003054>
- Rouchon V, Orberger B (2008) Origin and mechanisms of K–Si-metasomatism of ca. 3.4–3.3Ga volcanoclastic deposits and implications for Archean seawater evolution: Examples from cherts of Kittys Gap (Pilbara craton, Australia) and Msauli (Barberton Greenstone Belt, South Africa). *Precambrian Research* 165:169–189. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2008.06.003>
- Rouillard J, García-Ruiz J-M, Gong J, van Zuilen MA (2018) A morphogram for silica-witherite biomorphs and its application to microfossil identification in the early earth rock record. *Geobiology* 16:279–296. <https://doi.org/10.1111/gbi.12278>
- Schopf JW (1993) Microfossils of the Early Archean Apex Chert: New Evidence of the Antiquity of Life. *Science* 260:640–646. <https://doi.org/10.1126/science.260.5108.640>
- Schultze-Lam S, Ferris FG, Konhauser KO, Wiese RG (1995) In situ silicification of an Icelandic hot spring microbial mat: implications for microfossil formation. *Canadian Journal of Earth Sciences* 32:2021–2026. <https://doi.org/10.1139/e95-155>
- Siever R (1992) The silica cycle in the Precambrian. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56:3265–3272. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(92\)90303-Z](https://doi.org/10.1016/0016-7037(92)90303-Z)
- Sugitani K, Yamamoto K, Adachi M, et al (1998) Archean cherts derived from chemical, biogenic and clastic sedimentation in a shallow restricted basin: examples from the Gorge Creek Group in the Pilbara Block. *Sedimentology* 45:1045–1062. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3091.1998.00198.x>
- Swamy V, Saxena SK, Sundman B, Zhang J (1994) A thermodynamic assessment of silica phase diagram. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth* 99:11787–11794. <https://doi.org/10.1029/93JB02968>
- Ueno Y, Isozaki Y, Yurimoto H, Maruyama S (2001) Carbon Isotopic Signatures of Individual Archean Microfossils(?) from Western Australia. *International Geology Review* 43:196–212. <https://doi.org/10.1080/00206810109465008>

- van den Boorn SHJM, van Bergen MJ, Nijman W, Vroon PZ (2007) Dual role of seawater and hydrothermal fluids in Early Archean chert formation: Evidence from silicon isotopes. *Geology* 35:939. <https://doi.org/10.1130/G24096A.1>
- Wacey D, Menon S, Green L, et al (2012) Taphonomy of very ancient microfossils from the ~3400Ma Strelley Pool Formation and ~1900Ma Gunflint Formation: New insights using a focused ion beam. *Precambrian Research* 220–221:234–250. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2012.08.005>
- Walsh MM, Lowe DR (1985) Filamentous microfossils from the 3,500-Myr-old Onverwacht Group, Barberton Mountain Land, South Africa. *Nature* 314:530–532
- Westall F, de Wit MJ, Dann J, et al (2001) Early Archean fossil bacteria and biofilms in hydrothermally-influenced sediments from the Barberton greenstone belt, South Africa. *Precambrian Research* 106:93–116. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(00\)00127-3](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(00)00127-3)
- Westall F, Folk RL (2003) Exogenous carbonaceous microstructures in Early Archaean cherts and BIFs from the Isua Greenstone Belt: implications for the search for life in ancient rocks. *Precambrian Research* 126:313–330. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(03\)00102-5](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(03)00102-5)

# **Partie 5. Fossilisation d'ARN en présence de minéraux argileux**

Les minéraux argileux représentent des phases d'altération dont l'existence est attestée à la surface de la Terre Hadéenne et Archéenne. Leur structure et leur réactivité en font des minéraux très étudiés du point de vue de l'interaction avec la matière organique. En suivant une approche analogue à la partie précédente, nous avons étudié la dégradation de l'ARN au sein de minéraux argileux et en particulier d'un gel précurseur de montmorillonite que nous considérons comme une phase d'altération possible de la Terre primitive. Les interactions entre minéraux argileux et matière organique étant connues pour être dépendantes de la quantité d'eau en présence, des expériences de fossilisation d'ARN ont été réalisées dans cette partie à différentes quantités d'eau.



## I. Les minéraux argileux dans la préservation des premières formes de vie

Les minéraux argileux constituent des phases que l'on retrouve fréquemment associées à des restes d'organismes. En particulier, ces minéraux sont présents dans de nombreux cas de préservation exceptionnelle comme les fossiles de type *Burgess-Shale* (**Butterfield 1990, 2003; Orr 1998**). La formation de ces minéraux argileux s'explique d'ailleurs parfois par la présence de matière organique d'origine biologique et ceux-ci sont susceptibles de remplacer les tissus vivants les plus labiles ce qui permet la préservation ultérieure de structures particulièrement fines (**Konhauser and Urrutia 1999; Zhang and Briggs 2007**). Bien que plus rares dans les fossiles plus anciens, la présence de minéraux argileux peut également être citée comme une possible cause de préservation de microfossiles du Protérozoïque (**Butterfield et al. 1988; Callow and Brasier 2009; Wacey et al. 2015**) ou de l'Archéen (**Kremer and Kazmierczak 2017**). Des minéraux argileux ont également été identifiés dans les microfossiles controversés de l'Apex mais leur origine, probablement liée à des circulations de fluides hydrothermaux, demeure encore incertaine (**Wacey et al. 2016**). L'influence des minéraux argileux sur la préservation de la matière organique au cours de la fossilisation est potentiellement d'autant plus importante que leur interaction avec la matière organique intervient tôt au cours de la diagénèse (**Butterfield et al. 2007; Page et al. 2008**). Les interactions entre matière organique et minéraux argileux dans des conditions de diagénèse ont été largement étudiées et il a notamment été montré que ces derniers sont susceptibles de catalyser le craquage de certaines bio-macromolécules en hydrocarbures de faible poids moléculaire et d'inhiber la formation d'oléfines (**Huizinga et al. 1987; Kennedy 2002; Wu et al. 2012; Rahman et al. 2017**).

Dans cette partie, nous nous intéresserons à l'influence de la présence de minéraux argileux sur la dégradation de l'ARN en contexte de diagénèse. En particulier, nous rechercherons les produits de dégradation caractéristiques de l'ARN en présence d'argiles et nous interrogerons sur le type d'information susceptible d'être préservée dans l'enregistrement fossile. Par ailleurs, les structures organiques d'origine biologique étant souvent impliquées dans la formation de

minéraux argileux (Gehling 1999; Laflamme et al. 2011), nous étudierons l'influence de la présence d'ARN sur leur cristallisation en conditions hydrothermales afin de déterminer si les argiles pourraient garder des traces d'un « monde à ARN ». L'étude conjointe de l'influence du minéral et de la matière organique sur la formation d'assemblages minéral-matière organique est susceptible de nous conduire à formuler de nouvelles hypothèses sur les processus d'interactions minéral-organique qui interviennent durant la diagénèse. Enfin, il a été montré que la présence d'eau était un paramètre important dans la maturation thermique de la matière organique en présence d'argiles lors de la diagénèse et susceptible de catalyser le craquage et la formation d'hydrocarbures courts et saturés (Huizinga et al. 1987; Kennedy 2002; Wu et al. 2012; Rahman et al. 2017). Nous étudierons donc également au cours de cette partie l'influence de la quantité d'eau sur la fossilisation de l'ARN en présence de minéraux argileux.

## 1. Définition et propriétés générales des minéraux argileux

### a. Les minéraux argileux

Les minéraux argileux forment une classe de minéraux correspondant aux phyllosilicates hydratés (Bergaya and Lagaly 2013). Tous ces minéraux sont constitués de l'empilement de feuillets, lesquels sont constitués d'au moins une couche de cations entourés de 4 atomes d'oxygène (environnement (couche) tétraédrique) et d'une couche de cations entourés de 6 atomes d'oxygène (environnement (couche) octaédrique) (Bergaya et al. 2011). La couche tétraédrique, organisée en hexagone est généralement constituée de cations tétracoordinés tels que  $\text{Si}^{4+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  ou  $\text{Fe}^{3+}$  tandis que la couche octaédrique est généralement constituée de cations hexacoordinés  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ou  $\text{Fe}^{2+}$ . Les minéraux argileux peuvent alors présenter des structures de type 1:1 (TO) formées par la superposition d'une couche tétraédrique et d'une couche octaédrique, des structures de type 2:1 (TOT) formées d'une couche octaédrique entre

deux couches tétraédriques ou encore de structures 2:1:1 (TOTO) formées par l'intercalation d'une couche octaédrique entre deux couches TOT (Fig. 1). On appelle espace interfoliaire l'espace compris entre deux feuillets (Fig. 2). Ces minéraux constituent donc des structures lamellaires formant des particules anisotropes. Ces particules se regroupent en agrégats formant ainsi un matériau généralement poreux. Ces minéraux présentent également comme caractéristique de posséder d'importantes surfaces spécifiques dont on peut distinguer 3 types : les surfaces basales, les bords et les espaces interfoliaires (Fig. 2). La substitution d'un élément par un autre dans une des couches génère un déficit de charges compensé par la présence de cations dans l'espace interfoliaire ou les surfaces basales. Dans le cas des minéraux argileux, les surfaces sont généralement chargées négativement. Le caractère chargé de ces surfaces et la possibilité d'échanges cationiques confèrent à ces minéraux une réactivité importante en solution.

Au cours de cette étude, nous rencontrerons uniquement un type particulier de minéraux argileux : les smectites.

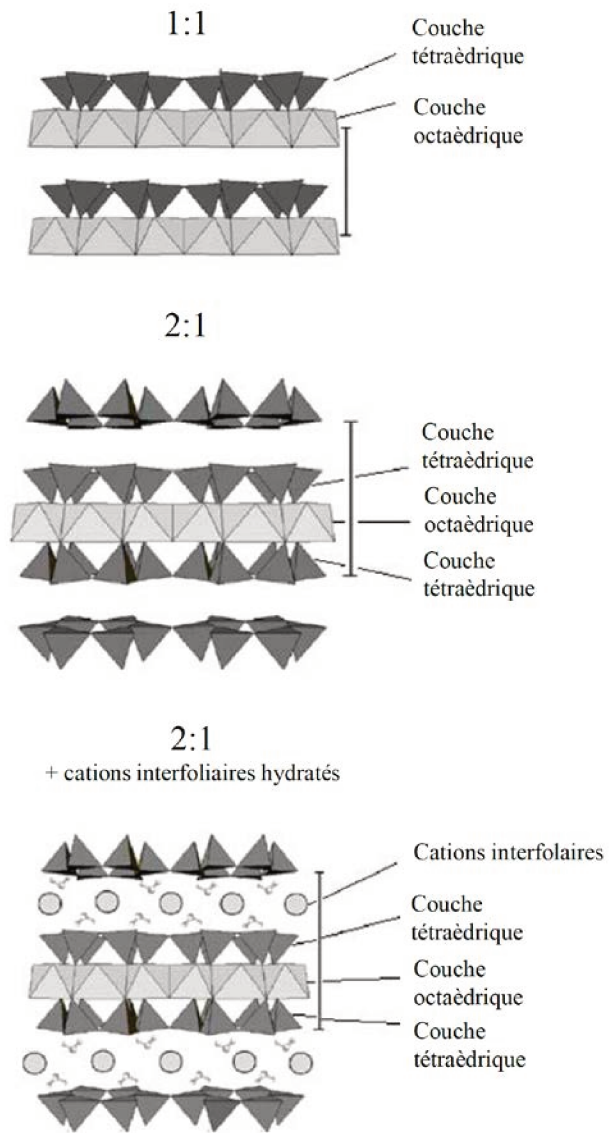


Figure 1. Structure schématique des phyllosilicates 1:1, 2:1 et 2:1 avec des cations interfoliaires (d'après Brigatti, 2013)

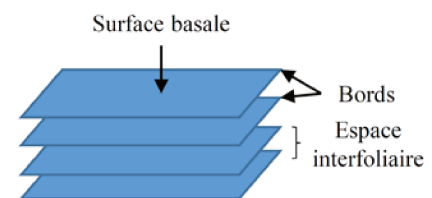


Figure 2. Représentation d'une particule d'argile constituée d'un empilement de feuillets (en bleu)

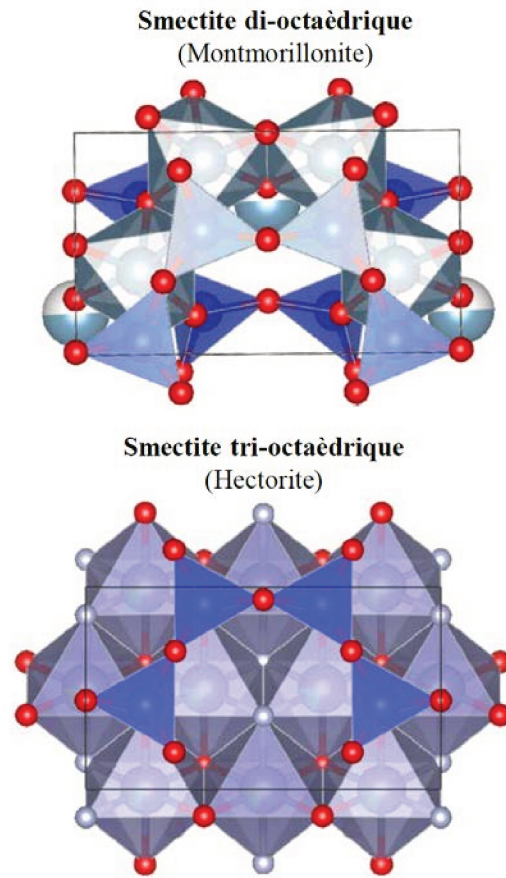
## b. Les smectites

Les smectites sont des phyllosilicates 2:1 c'est-à-dire constitués d'une couche octaédrique entourée de 2 couches tétraédriques (**Bergaya and Lagaly 2013**). Les couches tétraédriques sont formées par des silicates tandis que la couche octaédrique peut être composée de cations divalents tels que  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  (on parle alors de smectite trioctaédrique) ou de cations trivalents  $Al^{3+}$  ou  $Fe^{3+}$  (on parle alors de smectite dioctaédrique). Les structures correspondant aux smectites di- ou trioctaédriques sont présentées Fig. 3. Des substitutions de cations de la couche octaédrique par des cations de charge différente entraînent l'apparition de charges locales et de défauts dans le cristal. Ces charges locales sont compensées par la présence au voisinage de la couche (et notamment dans l'espace

interfoliaire) par des cations compensateurs de charge. Ces cations jouent un rôle important dans la réactivité des smectites et dans la taille de l'espace interfoliaire, notamment s'ils sont hydratés (**Decarreau 1990**). Des charges peuvent également apparaître par substitution dans la couche tétraédrique de cations  $Si^{4+}$  par des cations trivalents. En résumé, les smectites peuvent être représentées par les formules suivantes :

- Smectites di-octaédriques :  $(M^{+}_{x+y} \cdot n H_2O)(R^{3+}_{2-y}R^{2+}_y)(Si_{4-x}Al_x)O_{10}(OH)_2$
- Smectites tri-octaédriques :  $(M^{+}_{x+y} \cdot n H_2O)(R^{2+}_{3-y}R^+_y)(Si_{4-x}Al_x)O_{10}(OH)_2$

avec  $R^{2+}$  ou  $R^{3+}$  des cations di- ou trivalents de la couche octaédrique et  $M^+$  un cation monovalent présent dans l'espace interfoliaire.



**Figure 3.** Mailles de smectites di- et tri-octaédriques observées selon l'axe  $c$ . Les tétraèdres  $[SiO_4]$  sont représentés en bleu et les octaèdres  $[AlO_6]$  en gris. La position des atomes d'oxygène est repérée par les sphères rouges.

L'existence de ces charges locales (dont la charge totale est comprise pour les smectites entre 0,2 et 0,6 par demi-maille) explique la possibilité d'adsorber puis éventuellement de polymériser des composés organiques ou inorganiques chargés à la surface des smectites, notamment dans l'espace interfoliaire (Meunier et al. 2010).

En résumé, les smectites forment des matériaux de grande surface spécifique et de charge de surface modérée, favorisant ainsi les échanges cationiques et l'intercalation de molécules dans un espace interfoliaire de taille variable.

Concernant les gels précurseurs de smectites obtenus comme premières phases d'altération de roches silicatées, il est plus difficile de décrire leur structure car ces matériaux ne présentent qu'un ordre à très courte distance (de l'ordre du nm). Cependant, bien qu'elle soit variable, leur composition est proche de celle des smectites.

## 2. Les minéraux argileux à l'Hadéen

La nature et les propriétés des minéraux argileux sont en règle générale très dépendantes de la manière dont ils ont été formés. Afin de mieux comprendre la nature et l'évolution au cours des temps géologiques des assemblages entre les premières traces de vie et les minéraux argileux, il est donc nécessaire dans le cadre de cette étude de rappeler les différentes hypothèses émises concernant la formation de ces minéraux à l'Hadéen.

Il est difficile de savoir quelle était la nature des minéraux argileux à l'Hadéen car ces minéraux sont souvent métastables et sont tous profondément transformés au cours d'une histoire géologique, notamment au cours de la diagenèse et du métamorphisme

(Papineau 2010; Hazen et al. 2013; Bell et al. 2019). Les hypothèses sur la composition

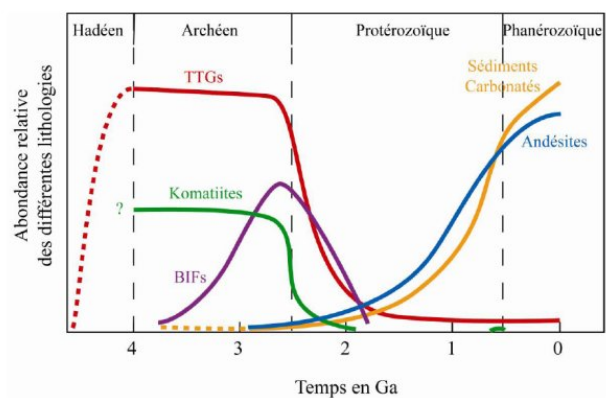


Figure 4. Evolution de la composition de la croûte terrestre au cours de l'histoire de la Terre. D'après Hervé Martin (<http://www.exobiologie.fr>)

et la structure de ces phases sont donc principalement issues de l'observation d'analogues géologiques actuels, d'études expérimentales d'altération dans des conditions Hadéennes ou encore des modélisations thermochimiques (**Meunier et al. 2010; Schoonen and Smirnov 2016**). De façon générale, les minéraux argileux peuvent être formés par des processus d'altération de la croûte (à basse température ou en conditions hydrothermales) (**Meunier 2005; Hazen et al. 2013**) ou par des processus de cristallisation magmatique (**Meunier et al. 2012; Berger et al. 2018; Viennet et al. 2020**). Dans la mesure où ces derniers impliquent des hautes températures incompatibles avec la préservation de la matière organique, nous écarterons ces processus du champ de cette étude. L'existence supposée de formes de vie primitive à l'Hadéen au voisinage des systèmes hydrothermaux nous amène à considérer ici plus particulièrement les processus d'altération de la croûte. Les rares témoins de cette époque telles que certaines inclusions des zircons de Jack Hills (4,4 Ga) attestent la présence de roches de type granitoïde et de TTG (tonalite-trondhjémite-granodiorite) (**Mojzsis et al. 2001; Cavosie et al. 2019; Carlson et al. 2019**) et donc d'une croûte continentale à l'Hadéen (**Hawkesworth et al. 2019**) (Fig. 4). L'altération en surface d'une telle croûte est alors susceptible de former des smectites principalement alumineuses (**Meunier 2005; Hazen et al. 2013**). Ces processus d'altération interviennent donc principalement sur des terrains émergés dont le potentiel à être le siège de réactions prébiotiques a été souligné en raison de la possibilité d'y effectuer des cycles de séchage-humidification (**Lambert 2008; Dass et al. 2018**). Il est donc plausible que le « monde à ARN » ait été en contact de ces phases d'altération alumineuses.

Potentiellement, la croûte Hadéenne est également composée de roches volcaniques de type komatiites ou basaltes. A l'interface entre la croûte océanique et l'eau de mer, l'altération des komatiites est susceptible de former des assemblages de minéraux argileux et de verres (palagonite). Des modélisations thermochimiques ont montré que l'essentiel des phyllosilicates formés sont, selon les conditions, des smectites (nontronite, saponite, montmorillonite) et des micas (céladonite) (**Schoonen et al. 2004**). Au sein des systèmes hydrothermaux très actifs à l'Hadéen (**Isley and Abbott 1999**), il est également possible de considérer la formation de minéraux argileux par altération par analogie avec les systèmes hydrothermaux actuels.

Cependant, l'océan Hadéen étant beaucoup plus pauvre en sulfates qu'aujourd'hui, la formation de cheminées hydrothermales constituées d'anhydrites (fumeurs noirs) y est vraisemblablement impossible ce qui limite ce cas de figure aux systèmes hydrothermaux basiques (fumeurs

blancs) (Russell and Arndt 2005). Dans ces conditions, les phases d'altérations produites sont majoritairement des smectites trioctaédriques riches en magnésium (Martinson et al. 2001). L'importante concentration en fer de l'océan Hadéen laisse par ailleurs supposer que ces smectites étaient également riches en fer (Meunier et al. 2010).

De façon générale, le mécanisme d'altération des minéraux silicatés de la croûte se déroule en 3 étapes principales : (i) dissolution des minéraux silicatés lorsqu'ils sont hors de leur domaine de stabilité, (ii) transfert des espèces solubles par diffusion et/ou convection, (iii) précipitation des phases secondaires et en particulier des minéraux argileux (Meunier 2005). La dissolution des espèces silicatées s'effectue le plus souvent de manière incongruente ce qui implique la formation de cavités dans laquelle se forme un gel amorphe appauvri en cations (Fig. 5). Cette formation de gels amorphes par dissolution de minéraux silicatés est susceptible d'être favorisée par l'activité de microorganismes (Staudigel et al. 1995; Furnes 2004). Lorsque la saturation de la solution est atteinte, certains cations précipitent au sein de ces gels pour former des particules de phyllosilicates susceptibles de croître par la suite.

En résumé, les interactions à l'Hadéen entre la croûte et l'eau liquide forment un ensemble de phases d'altération constitué majoritairement de smectites alumineuses (plutôt à la surface des continents), de smectites ferro-magnésiennes (plutôt en milieu marin) et de gels amorphes.

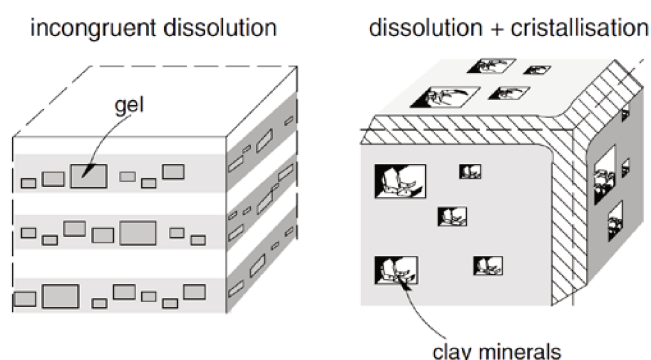


Figure 5. Mécanisme de dissolution incongruente des silicates permettant la genèse de minéraux argileux (d'après Meunier 2005)

### 3. Système expérimental

Les caractéristiques décrites précédemment concernant les phases d'altérations Hadéennes permettent de guider nos choix dans la mise en place d'un système expérimental, dans la continuité des expériences en présence de silice décrites partie 4.

La matrice minérale argileuse dans laquelle l'ARN doit être incorporé doit présenter des caractéristiques compatibles avec les hypothétiques phases d'altération Hadéennes décrites au paragraphe précédent (smectites). Nous avons choisi de nous focaliser sur les phases représentatives des toutes premières étapes d'altération à savoir les gels de composition smectitique. Ce choix vise également à faire un parallèle avec les expériences réalisées en présence de gels de silice amorphe (Partie 4). Le fait que ces phases soient en cours de dissolution et de reprécipitation les rend par ailleurs plus sujet aux phénomènes d'échanges et donc à l'incorporation de molécules organiques voire d'organismes (ou pseudo-organismes) entiers. Dans notre approche expérimentale, l'utilisation d'un gel comme matrice minérale de départ présente également l'avantage de permettre l'étude de l'influence de la présence de matière organique réactive telle que l'ARN sur la formation des minéraux argileux cristallisés et de mettre en évidence, éventuellement, comment ces processus de cristallisation pourraient être perturbés.

Dans cette étude, nous avons choisi d'utiliser un gel synthétique de composition montmorillonite (voir synthèse Partie 2. I) qui est donc un précurseur de smectite dioctaédrique riche en aluminium.

La dégradation de la matière organique en présence de minéraux argileux étant également dépendante de la présence d'eau dans le système, nous avons également étudié l'influence de la quantité d'eau sur l'évolution de l'assemblage gel smectitique/ARN.

Des assemblages gel smectitique/ARN ont donc été placés en conditions hydrothermales (200°C, 20 jours), en système fermé sous air, dans des volumes d'eau différents (détails Partie 2. II).



## II. Cristallisation de la montmorillonite en conditions hydrothermales (expérience témoin)

Le gel précurseur de montmorillonite (dont la préparation est décrite partie 2 I.) présente un diffractogramme de rayons X comportant essentiellement un pic très large entre 15 et 40° (°2 $\theta$ ) (correspondant à l'intervalle 5,9 – 2,2 Å) (Fig. 6) ce qui confirme son caractère amorphe. Quelques pics plus fins et peu intenses peuvent également être observés et correspondent à des hydroxydes d'aluminium (notés \*, Fig. 6). On remarquera en particulier la présence d'une réflexion correspondant aux plans (060) à 1,528 Å (60,5°). En RMN MAS  $^{27}\text{Al}$ , un pic très large est observé entre 10 et 80 ppm correspondant à une grande diversité d'environnements de coordination tétraédriques et pentaédriques autour des ions  $\text{Al}^{3+}$  (Fig. 7), typique d'un matériau amorphe. Le pic plus fin et peu intense centré en 0 ppm correspond à des  $\text{Al}^{3+}$  hexacoordinés pouvant provenir des hydroxydes d'aluminium identifiés en DRX. Le pic large entre -95 et -120 ppm en RMN MAS  $^{29}\text{Si}$  montre quant à lui que les silicates sont majoritairement sous forme tétraédrique et entourés de 4 atomes d'oxygène liés chacun à un atome de silicium (environnement appelé communément Q4) (Fig. 8). Un signal faible demeure toutefois observable entre -80 et -95 ppm et correspond aux atomes Si entourés de 3 (ou 2) oxygènes liés à des Si et d'un (ou 2) groupe(s) hydroxyle OH (environnements Q3 ou Q2).

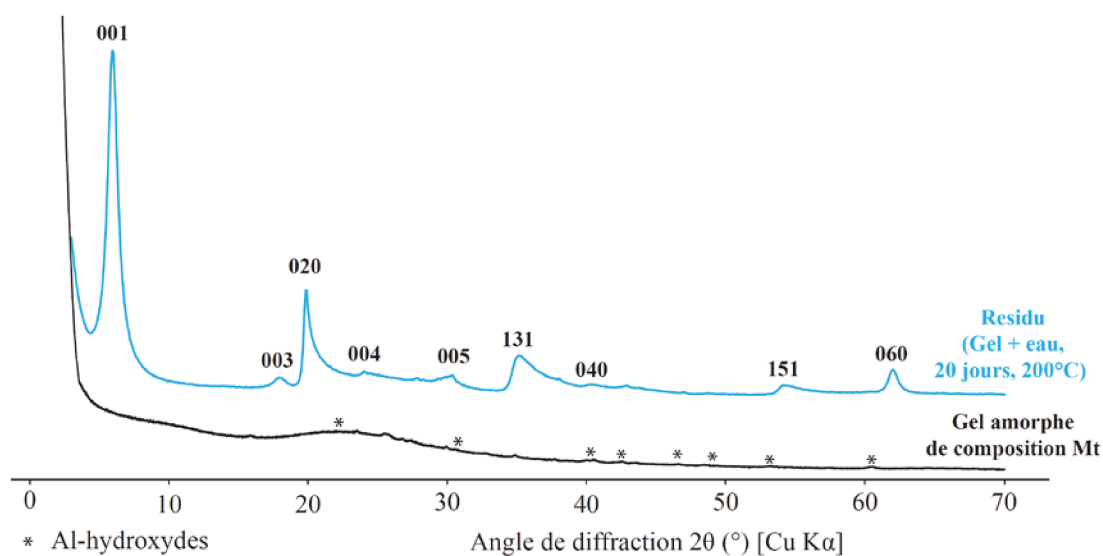


Figure 6. Diffractogramme de rayons X (anode Cu K $\alpha$ ) du gel amorphe de départ (noir) et du résidu expérimental solide (bleu)

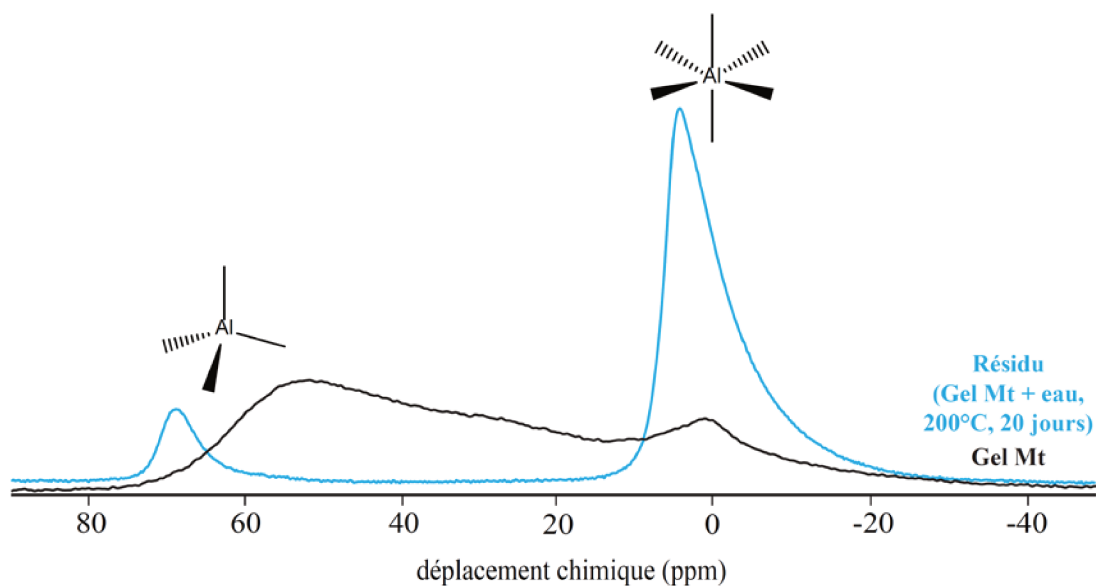


Figure 7. Spectres RMN MAS  $^{27}\text{Al}$  du gel amorphe de départ (noir) et du résidu expérimental solide (bleu)

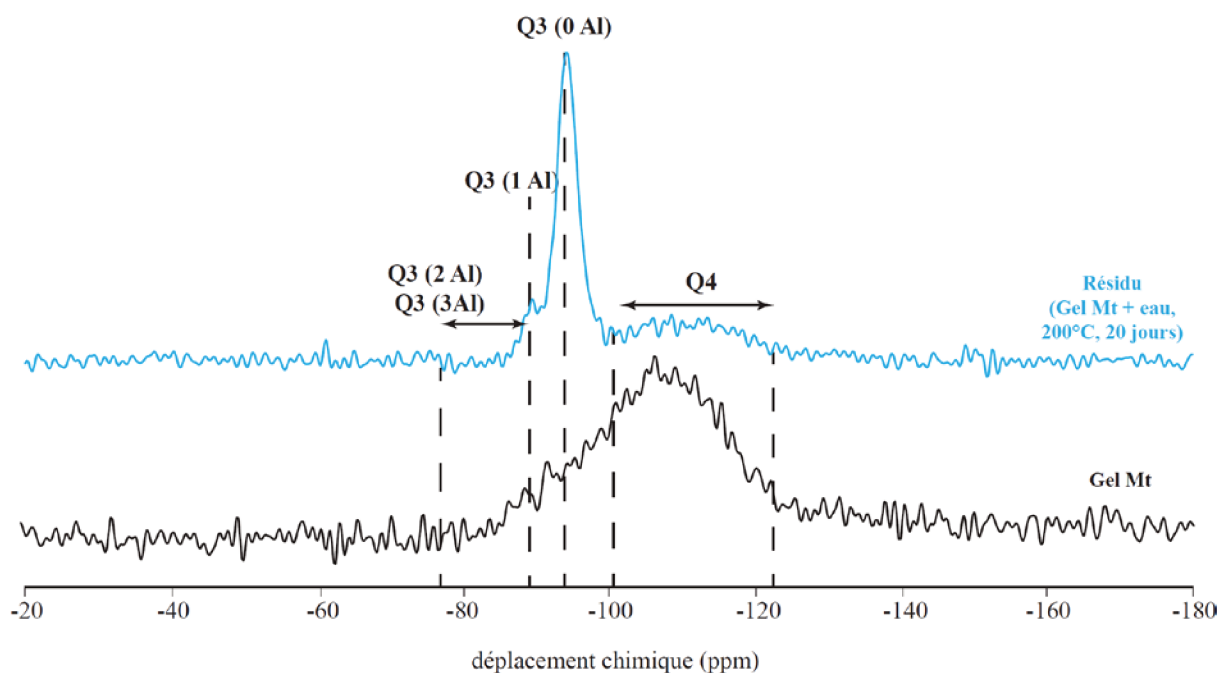


Figure 8. Spectres RMN MAS  $^{29}\text{Si}$  (proton-découplé) du gel amorphe de départ (noir) et du résidu expérimental solide (bleu)

Après traitement hydrothermal (20 jours, 200°C, en présence d'eau, sous air), le résidu présente un diffractogramme typique d'une smectite di-octaédrique (14,8 Å (001), 4,94 Å (003), 4,46 Å (020), 3,70 Å (004), 2,94 Å (005), 2,55 Å (131), 2,23 Å (040), 1,69 Å (151), 1,49 Å (060)) (Reinholdt et al. 2001). Le spectre RMN MAS  $^{27}\text{Al}$  de ce matériau présente principalement deux pics situés à 54 et 0 ppm (Fig. 7) et attribués à de l'aluminium en coordinence 4 et 6

respectivement. Les ions  $\text{Al}^{3+}$  forment donc ici majoritairement des couches octaédriques et quelques-uns sont substitués à des  $\text{Si}^{4+}$  dans les couches tétraédriques. En RMN MAS  $^{29}\text{Si}$  (Fig. 8), le pic faible à -89 ppm (Q3(1Al)) confirme qu'ici seuls quelques  $\text{Si}^{4+}$  sont liés par des pont oxo à des  $\text{Al}^{3+}$  substitués dans les couches tétraédriques. L'analyse de l'échantillon en MEB montre que le matériau formé présente la morphologie caractéristique des argiles cristallisées en « rose des sables » (Fig. 9) et il est possible d'identifier en MET l'empilement des feuillets (Fig. 10).

Un mécanisme de la formation de smectite cristallisée à partir d'un gel précurseur a été décrit en milieu acide (Jaber and Miéhé-Brendlé 2005). Brièvement, il consiste en une première étape de dissolution des oxy-hydroxydes d'aluminium contenus dans le gel conduisant à la formation en solution de nuclei constitués de couches octaédriques d'hydroxydes d'aluminium ou de

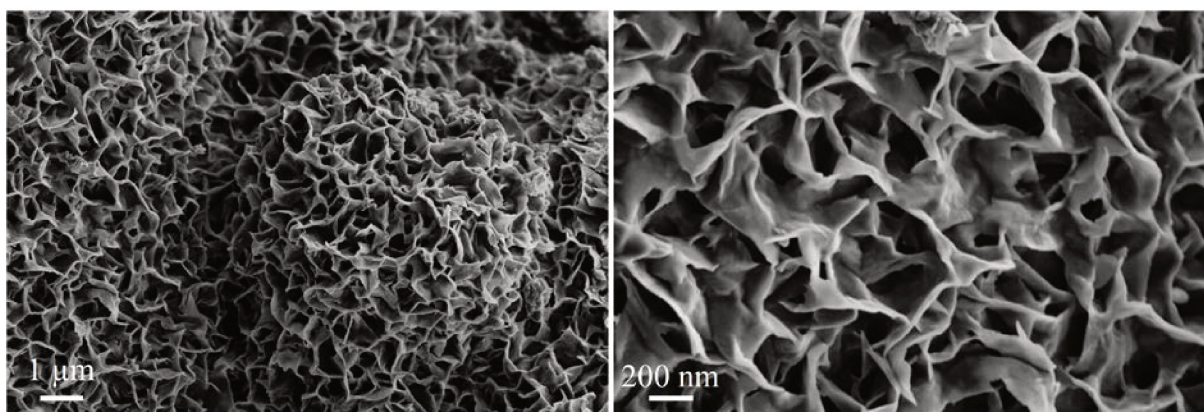


Figure 9. Images MEB du matériau obtenu par traitement hydrothermal du gel précurseur (20 jours, 200°C)

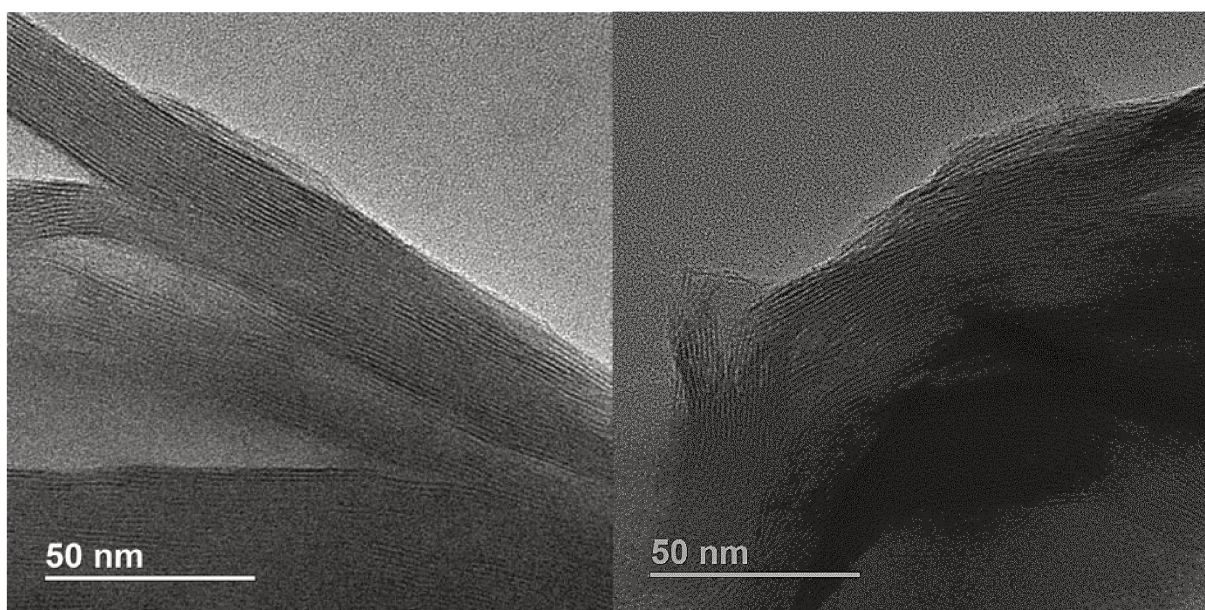
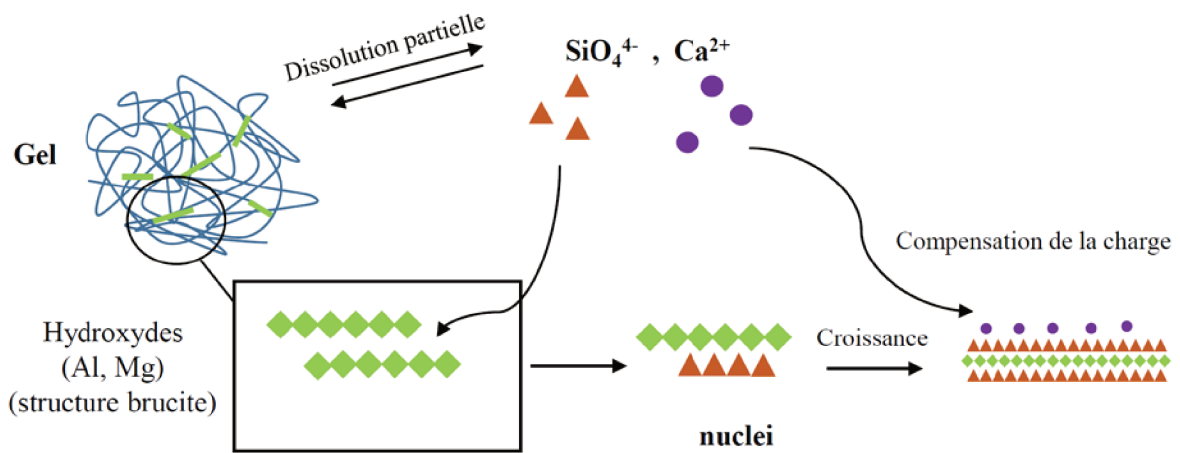


Figure 10. Images MET du matériau obtenu par traitement hydrothermal du gel précurseur (20 jours, 200°C)

magnésium. La croissance du minéral est ensuite assurée par un mécanisme de type dissolution-re cristallisation conduisant à la formation de couches tétraédriques de silicates et *in fine* à la formation de feuillets de structure TOT. Un schéma simplifié de ce mécanisme est proposé Fig. 11.



**Figure 11.** Schéma réactionnel de la formation de montmorillonite en conditions hydrothermales à partir du gel précurseur.



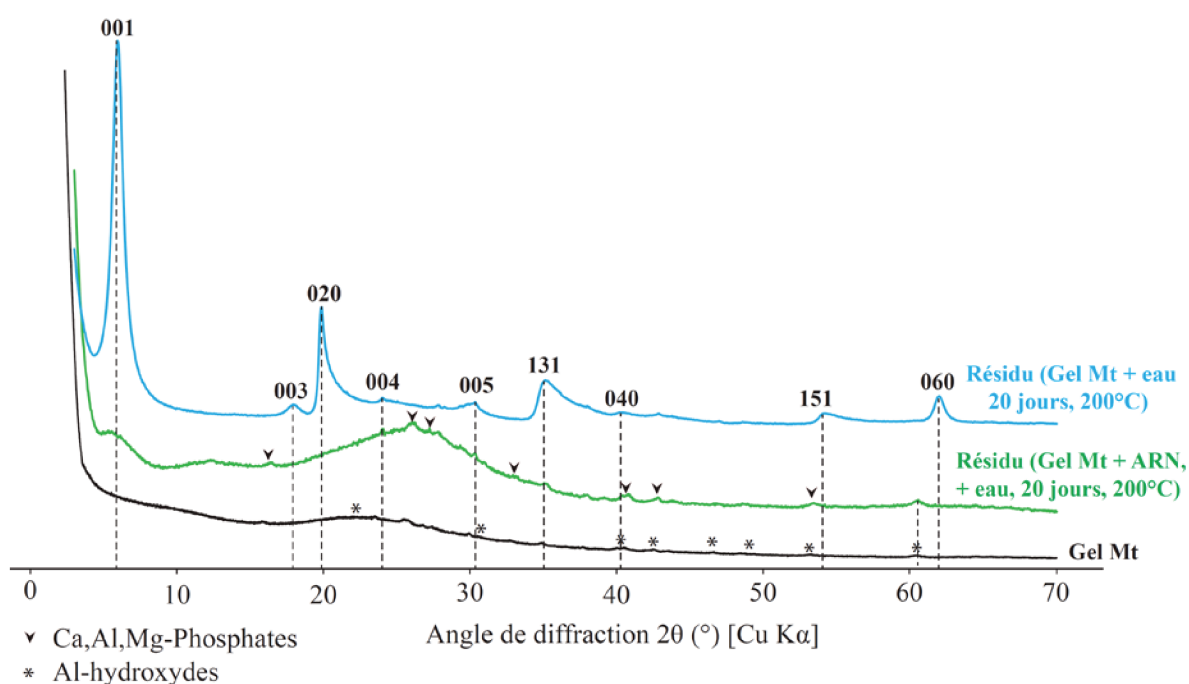
### III. Description du résidu de fossilisation d'ARN en présence de précurseurs d'argiles

La fossilisation d'ARN en présence d'un précurseur amorphe de composition montmorillonite est réalisée par traitement hydrothermal (20 jours, 200°C, 5 mL d'eau) en système fermé sous air (voir partie 2 II.).

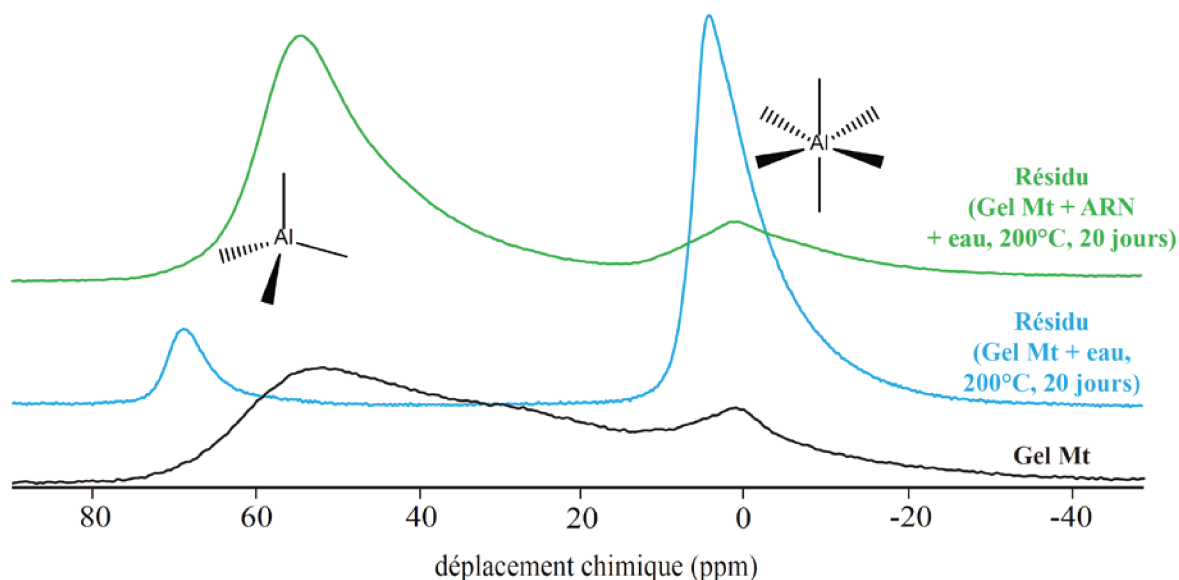
#### 1. Description globale du résidu solide (analyse « bulk »)

##### a. Cristallisation des phases minérales

Nous avons montré au §II. que les conditions hydrothermales employées au cours de l'expérience permettent, en absence d'ARN, au gel précurseur de cristalliser sous forme de montmorillonite. En présence d'ARN, il est frappant de constater que le gel précurseur ne cristallise pas mais présente une réflexion (060) à 1,52 Å typique d'une smectite di-octaédrique (Fig. 12). En effet, le diffractogramme de rayons X du résidu comprend un pic très large centré

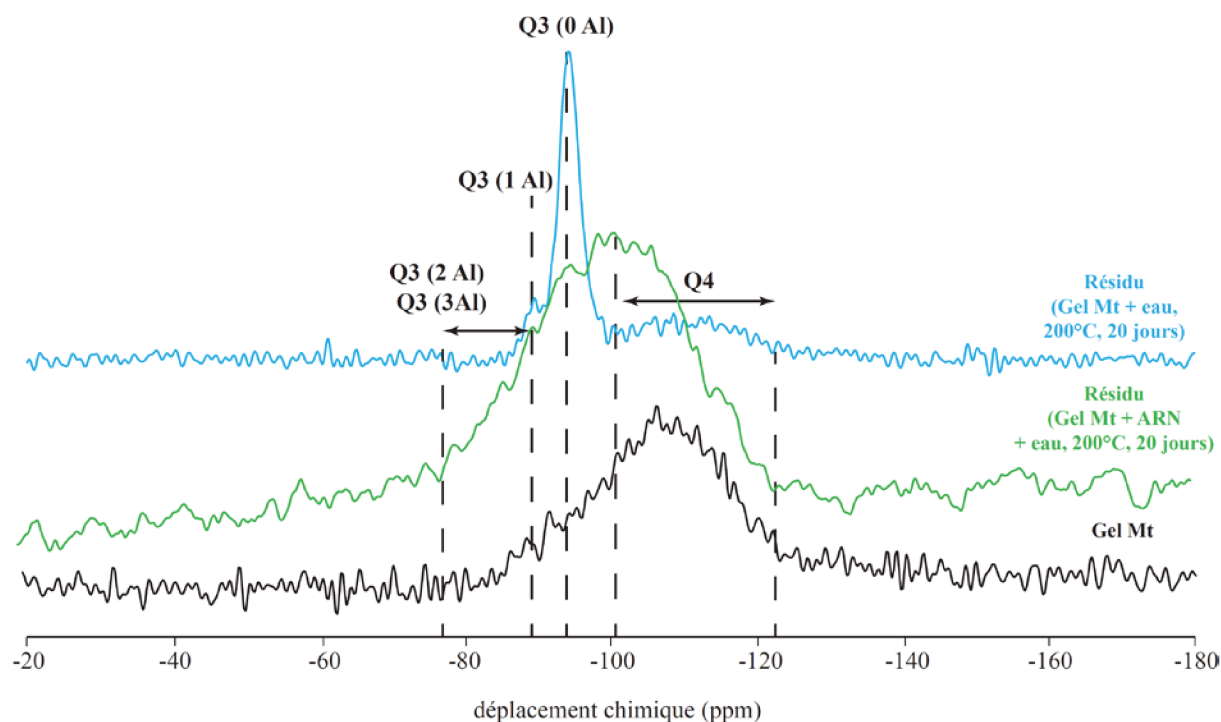


**Figure 12.** Diffractogramme de rayons X (anode Cu K $\alpha$ ) du gel amorphe de départ (noir), du résidu expérimental solide sans ARN (bleu) et avec ARN (vert)



**Figure 13.** Spectres RMN MAS  $^{27}\text{Al}$  du gel amorphe de départ (noir), du résidu expérimental solide sans ARN (bleu) et avec ARN (vert)

autour de  $4 \text{ \AA}$  ( $\sim 25^\circ$  ( $2\theta$ )) soulignant que ce résidu est essentiellement constitué de phases amorphes. Cependant, 5 réflexions caractéristiques de phyllosilicates peuvent être identifiées ( $15.02 \text{ \AA}$  (001),  $4.46 \text{ \AA}$  (020),  $2.55 \text{ \AA}$  (131),  $1.71 \text{ \AA}$  (151) et  $1.52 \text{ \AA}$  (060)) mais elles représentent une très faible proportion du rayonnement total diffracté. Il est intéressant de noter une variation de la réflexion (060) à  $1.52 \text{ \AA}$  (typique des smectites tri-octaédriques) par rapport au résidu obtenu sans ARN ( $1.49 \text{ \AA}$ , typique des smectites di-octaédriques). A cela s'ajoute la présence minoritaire de phosphates mixtes (Al, Mg, Ca) (Fig. 12) et d'hydroxydes d'aluminium dont certaines réflexions peuvent être identifiées. En RMN MAS du  $^{27}\text{Al}$  (Fig. 13), le pic principal est centré en  $54 \text{ ppm}$  ce qui montre que l'aluminium est essentiellement présent en environnement tétraédrique soit vraisemblablement dans des structures d'aluminosilicates amorphes ou dans des phosphates. Un pic faible à  $3 \text{ ppm}$  caractéristique de l'aluminium en environnement octaédrique est observé et est attribué aux hydroxydes d'aluminium ou éventuellement à des phosphates. L'absence de pic centré en  $70 \text{ ppm}$  (visible dans le résidu témoin obtenu sans ARN) confirme la très faible proportion d'aluminium dans des structures de types smectites. Par ailleurs, la RMN MAS du  $^{29}\text{Si}$  (Fig. 14) présente un unique pic très large centré en  $-100 \text{ ppm}$  ce qui montre qu'à l'instar du gel amorphe de départ, le résidu contient principalement du silicium en environnement tétraédrique Q4. Ceci peut s'expliquer par la



**Figure 14.** Spectres RMN MAS  $^{29}\text{Si}$  du gel amorphe de départ (noir), du résidu expérimental solide sans ARN (bleu) et avec ARN (vert)

formation de silice amorphe où tous les atomes de silicium sont liés à d'autres silicium par des ponts oxo. Quelques  $\text{Si}^{4+}$  en environnement Q3(0Al) et Q3(1Al) peuvent être observés ce qui suggère la formation de quelques structures d'aluminosilicates amorphes formées de couches tétraédriques de silicates dans lesquels quelques substitutions avec des ions  $\text{Al}^{3+}$  ont pu avoir lieu.

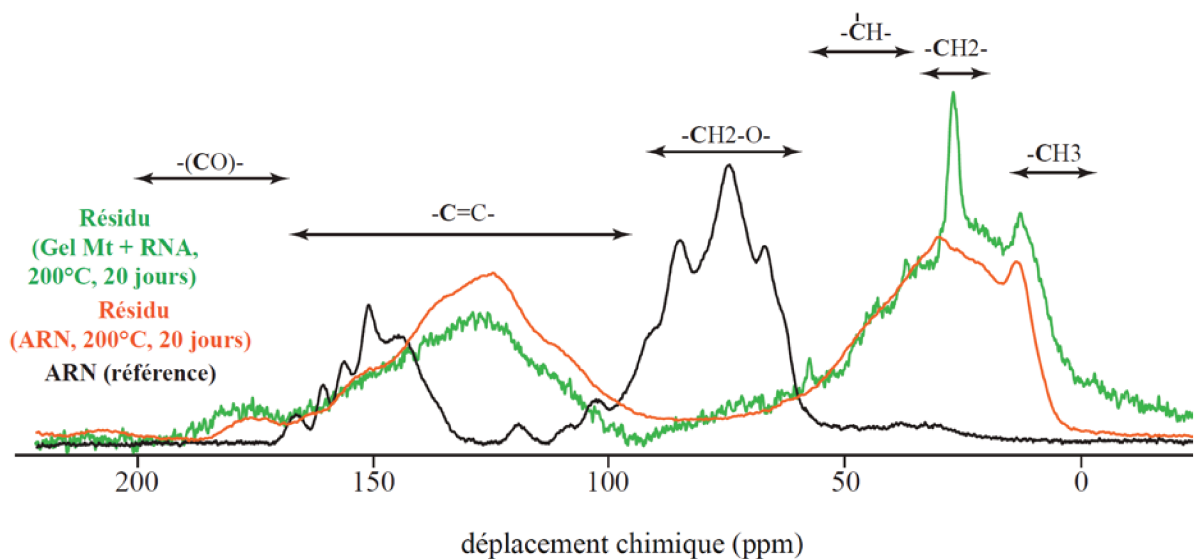
En résumé, il apparaît que le résidu solide des expériences réalisées en présence d'ARN est constitué majoritairement de phases amorphes de type aluminosilicates ou silice amorphe ainsi que des phosphates mixtes (Ca, Mg, Al) et contient par ailleurs de façon minoritaire quelques hydroxydes d'aluminium et une très faible proportion de phyllosilicates.

#### b. Dégradation de la matière organique

La présence de précurseurs d'argiles provoque d'importantes différences concernant l'évolution de la matière organique et la minéralisation des phosphates.

A l'instar de l'expérience témoin réalisée en absence d'aluminosilicates (voir Partie 3 II.), la signature moléculaire du résidu obtenu après fossilisation (Gel Mt + ARN, 20 jours, 200°C sous air) est totalement différente de celle de l'ARN initial. L'absence de pics entre 60 et 100 ppm en RMN CP-MAS du  $^{13}\text{C}$  (Fig. 15) montre que le ribose est totalement dégradé (Rodrigues et al. 2019). Trois contributions principales sont alors observées : (i) un pic très large de 0 à 100 ppm correspondant aux carbones aliphatiques, (ii) un pic très large entre 100 et 160 ppm correspondant aux carbones impliqués dans des liaisons C=C et (iii) un pic large entre 160 et 180 ppm correspondant aux carbones dans des dérivés d'acides. Ceci montre donc que seuls restent dans le résidu final des composés formés de chaînes aliphatiques et d'insaturations telles que des doubles liaisons C=C, des cycles aromatiques et des hétérocycles. Par rapport au résidu témoin obtenu sans précurseur d'argiles (voir Partie 3 II.), la différence notable vient du caractère plus aliphatique de la matière organique formée comme le montre l'apparition d'un pic intense à 27 ppm caractéristique des unités  $-\text{CH}_2-$  dans des chaînes de type alcane. Les composés formés sont donc principalement des hydrocarbures saturés présentant davantage de chaînes aliphatiques.

La disparition du pic des orthophosphates diesters caractérisés par un pic large centré en -2 ppm en RMN MAS du  $^{31}\text{P}$  (Fig. 16) montre que les phosphates présents initialement dans l'ARN minéralisent intégralement sous forme inorganique (Cademenun 2005). En revanche,



**Figure 15.** Spectres RMN MAS  $^{13}\text{C}$  (Cross-Polarization) de l'ARN (noir), du résidu expérimental obtenu sans gel Mt (orange) et avec gel Mt (vert)



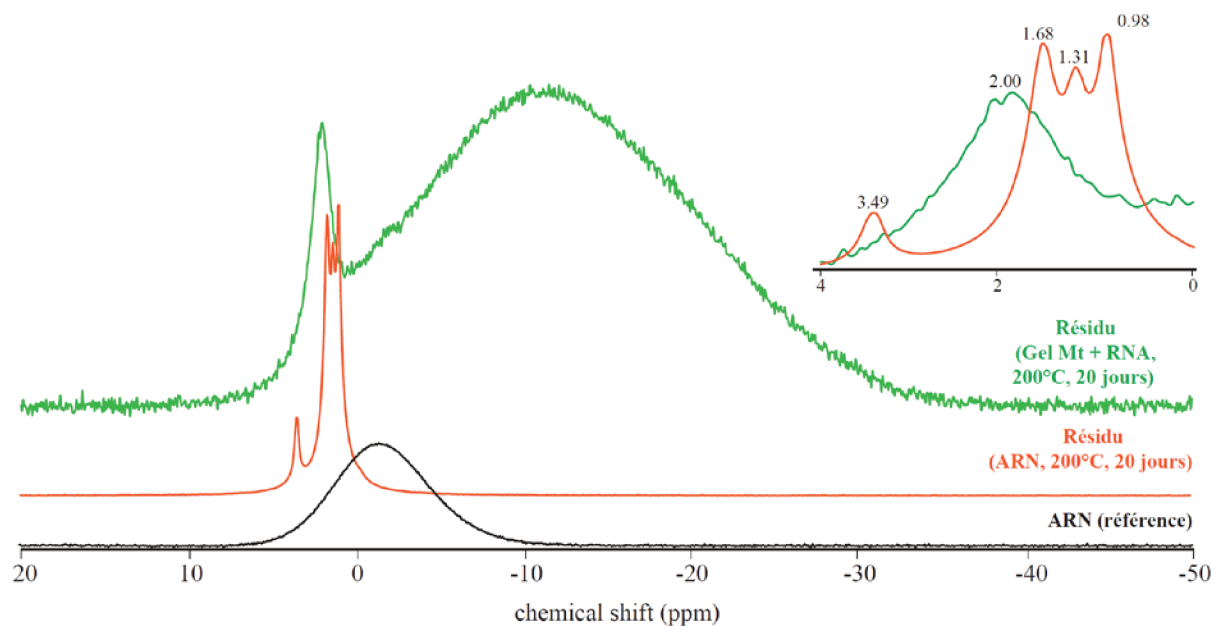


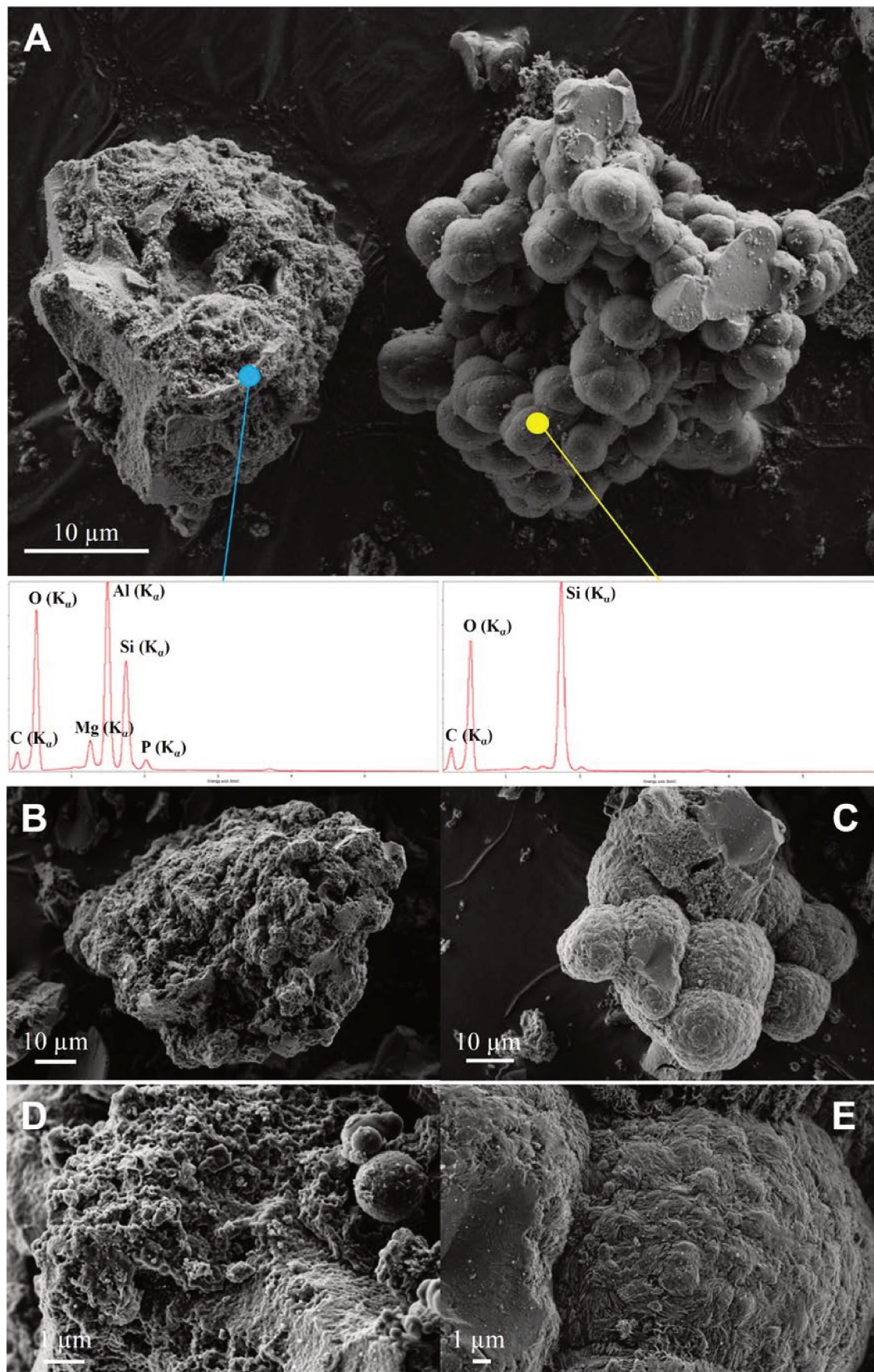
Figure 16. Spectres RMN MAS  $^{31}\text{P}$  de l'ARN (noir), du résidu expérimental obtenu sans gel Mt (orange) et avec gel Mt (vert)

contrairement à la situation où l'ARN est seul en solution, la formation de phosphates d'ammonium cristallins (biphosphammite notamment, identifiés par 4 pics fins, voir Fig. 16)) n'est pas observée. Un seul pic large autour de 2,0 ppm apparaît dans le domaine usuel des orthophosphates et correspond vraisemblablement aux phosphates mixtes (Ca, Mg, Al) observés en DRX. La différence majeure avec la situation sans gel précurseur est l'apparition d'un pic intense et très large de 8 à -34 ppm. Ce signal présente un déplacement chimique trop négatif pour correspondre à un signal d'orthophosphates précipités en solution. La largeur de ce pic suggère davantage la formation de structures rigides sur des surfaces minérales pré-existantes comme des complexes de coordination formés de liaisons Al-O-P ou Mg-O-P, la formation en surface de couches de précipités de phosphates mixtes (Al, Ca, Mg) ou d'espèces phosphatées condensées comme des pyrophosphates.

## 2. Description de l'hétérogénéité du résidu solide (analyse microscopique)

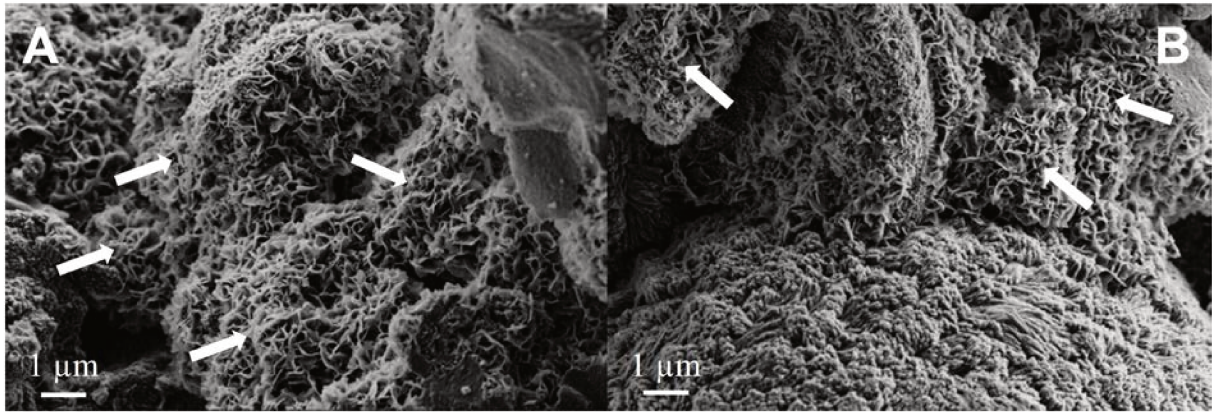
L'analyse microscopique (MEB et MET) du résidu solide (200°C, 20 jours, 5 mL d'eau, sous air) met immédiatement en évidence qu'à la différence du résidu obtenu sans ARN (composé entièrement de montmorillonite), l'échantillon présente une forte hétérogénéité chimique et une diversité de morphologies. A une échelle de l'ordre de la dizaine de  $\mu\text{m}$ , la microscopie MEB permet de distinguer deux types d'agrégats : d'une part des agrégats sphériques d'environ 10  $\mu\text{m}$  et constitués presque exclusivement de silice (Fig. 17A, C, E) et d'autre part des agrégats complexes et poreux sans morphologie particulière à cette échelle d'observation (Fig. 17 A, B, D). L'analyse à plus petite échelle des sphères de silice (amorphe d'après la DRX) montre qu'elles sont constituées de particules allongées de quelques centaines de nm (Fig. 17E). Les agrégats complexes sont quant à eux essentiellement constitués d'un matériau poreux dont la composition est celle d'un aluminosilicate et dont les pores présentent un diamètre de quelques dizaines de nm (Fig. 17D). Des analyses spectroscopiques (EDS) ont montré que le phosphore est essentiellement contenu dans ces agrégats soit sous forme de cristaux de phosphates mixtes (Ca, Al, Mg) soit intégré à la composition des aluminosilicates. On retrouve de plus dans ces agrégats des particules sphériques de matière organique d'environ 1  $\mu\text{m}$  (Fig. 17D).

En microscopie MEB, il est possible d'identifier quelques morphologies caractéristiques de phyllosilicates aussi bien au voisinage de sphères de silice amorphe que dans les agrégats d'aluminosilicates (Fig. 18). Afin de mieux comprendre l'organisation de ces agrégats et les relations entre les différentes phases, il est intéressant de pousser l'analyse à une échelle plus petite en utilisant la microscopie MET. Pour cela, des coupes ultra-cryomicrotomes ont été préparées (voir Partie 2 IX.). Les échantillons étant hétérogènes et les phases en présence ayant des compositions chimiques très variables, l'acquisition de cartographies MET-EDS s'est révélée être une technique de choix pour mieux appréhender la composition chimique de ces échantillons. Celle-ci permet de quantifier les éléments présents en chaque pixel de la carte obtenue, et ce malgré des textures et des épaisseurs variables. L'ensemble de la méthode employée pour acquérir et construire ces données est détaillée partie 2 VII.



**Figure 17.** Images MEB illustrant la diversité du résidu formé. **A.** Exemples des 2 types d'agrégats observables à cette échelle (silice amorphe et aluminosilicates) et leur spectres EDS respectifs **B. D.** Vue rapproché des aluminosilicates **C. E.** Vue rapproché des agrégats de silice amorphe





**Figure 18.** Images MEB rapprochée des phyllosilicates (identifiés par des flèches blanches) **A.** dans les agrégats **B.** au voisinage des sphères de silice

Les images obtenues en MET STEM-HAADF (Fig. 19A, C) ont permis de reconnaître les aluminosilicates poreux identifiés en MEB. Leur composition moyenne obtenue à partir des données EDS est :  $\text{Ca}_{0.05}\text{Si}_4\text{Al}_2\text{Mg}_{0.075}\text{O}_{10}(\text{OH})_2\cdot\text{Mg}_{0.225}(\text{NH}_4)_{0.15}(\text{PO}_4)_{0.2}$  (composante bleu foncé). Des particules d'aspect non-poreux peuvent également présenter cette stœchiométrie. On remarquera que cette stœchiométrie est très proche de la composition du gel précurseur à la différence qu'elle ne comporte presque plus de calcium et qu'elle intègre une faible quantité de phosphates et d'ammonium.

D'autre part, des aluminosilicates présentant une composition différente ont été observés. Leur composition moyenne en EDS est :  $\text{Ca}_{0.1}\text{Si}_4\text{Al}_{1.8}\text{Mg}_{0.3}(\text{NH}_4)_{0.76}(\text{PO}_4)_{0.4}\text{O}_{11}$  (composante bleu clair). Ces minéraux intègrent donc plus d'ions phosphates et ammonium dont la charge semble être compensée uniquement par une augmentation du nombre d'ions calcium (la proportion Si : Al : Mg est quasiment inchangée). Ces aluminosilicates ne présentent pas de morphologie particulière qui permette de les distinguer des précédents.

Certains aluminosilicates présentent en revanche une morphologie caractéristique de phyllosilicates (Fig. 19D).

Quelques particules présentent une teneur en aluminium particulièrement élevée ( $\text{Si}/\text{Al} = 1$ ). Une telle composition n'étant pas usuelle pour des aluminosilicates, nous faisons l'hypothèse qu'il s'agit d'un mélange d'aluminosilicates avec les hydroxydes d'aluminium identifiés en DRX (Fig. 12). Des phosphates mixtes (Ca, Al, Mg) présents sous forme de particules d'environ  $1\mu\text{m}$  ont été observés. Leur composition moyenne calculée en faisant l'hypothèse d'un phosphate

mono-protoné (le système est à pH=9 en sortie d'expérience) et en gardant à l'esprit que leur composition est assez variable d'une particule à l'autre est :  $Mg_{0.66}Ca_{0.22}Al_{0.08}HPO_4$ .

Concernant la matière organique, la décomposition de son signal en EDS par analyse en composantes principales (PCA) a permis d'identifier 3 contributions distinctes : (i) une composée essentiellement de carbone et d'oxygène avec une très faible teneur en azote ( $N/C = 0.062$ ) et présente sous forme de petites particules de quelques centaines de nm (Fig. 19B, 20), (ii) une autre présentant une teneur en azote sensiblement supérieure ( $N/C = 0.43$ ) et présente dans l'échantillon sous une forme plus « diffuse »

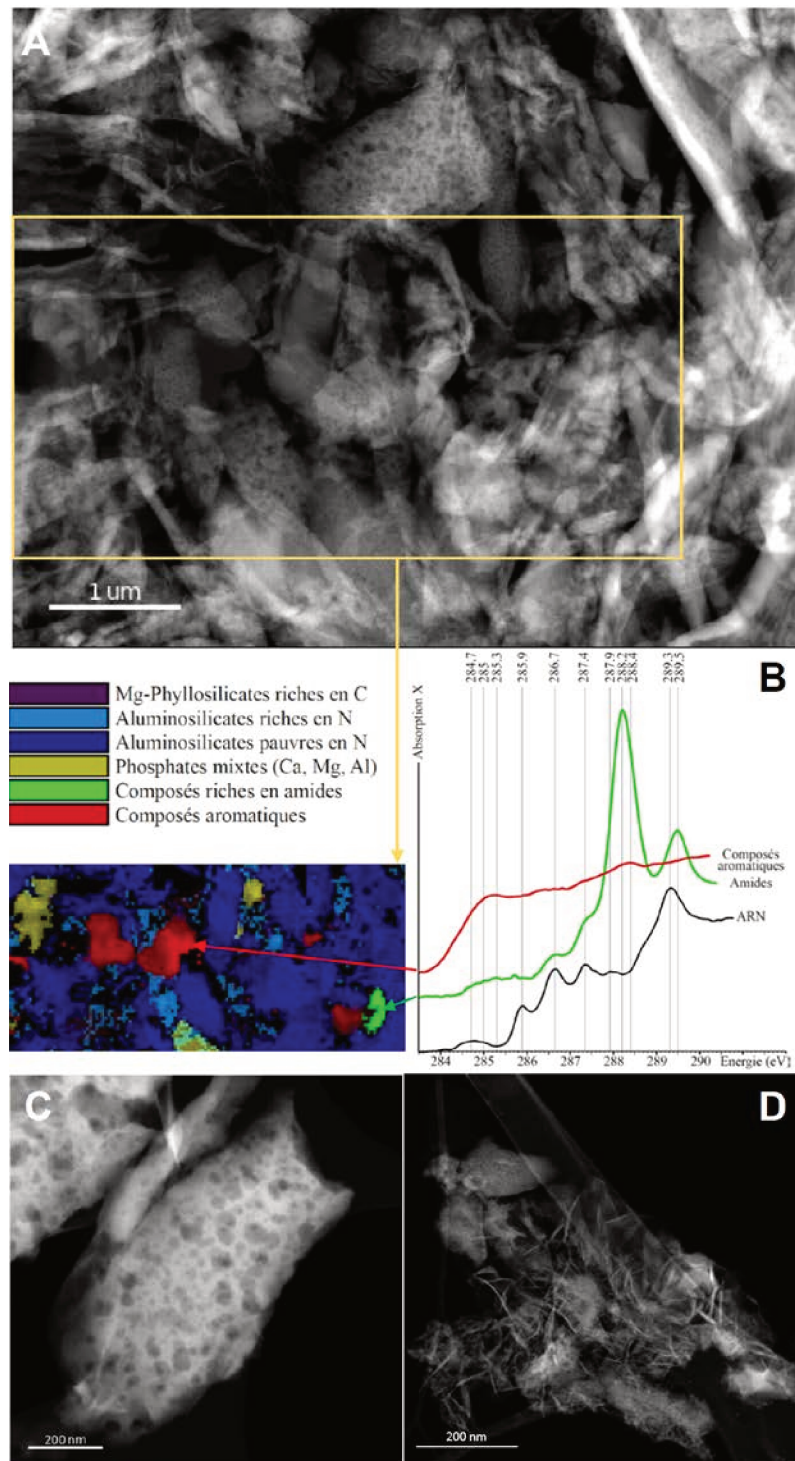
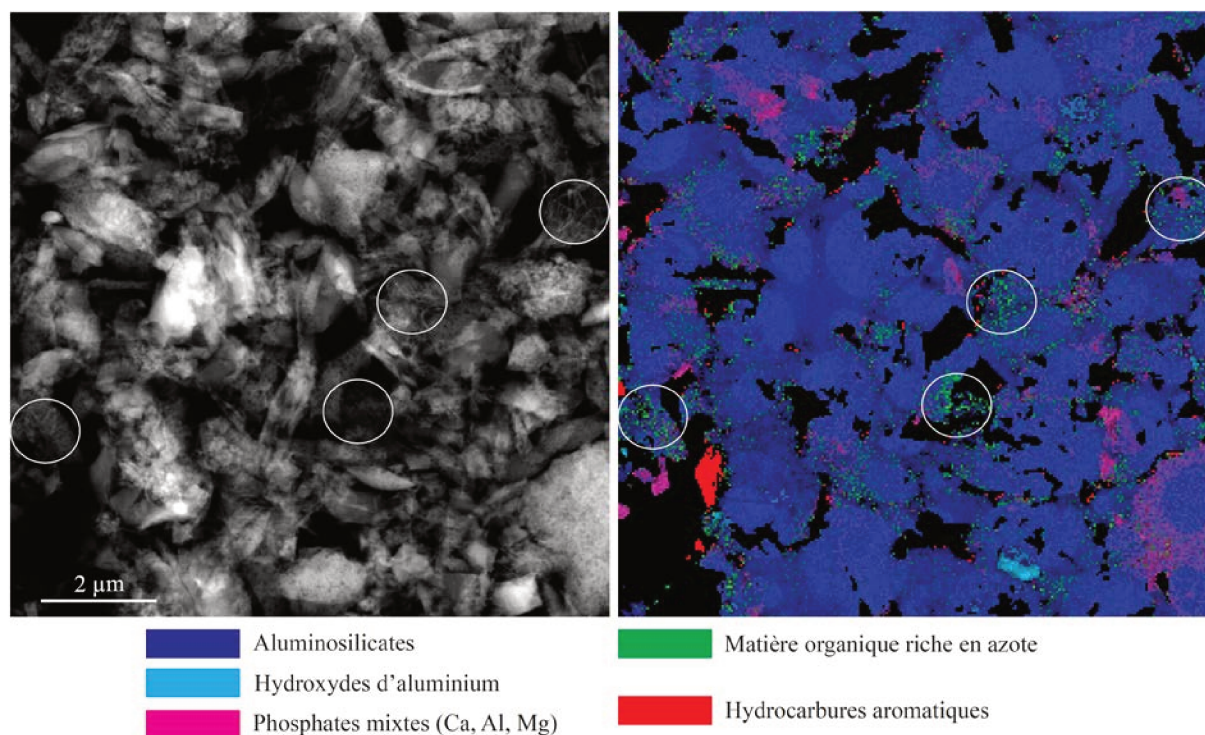


Figure 19. A.C.D. Images STEM-HAADF d'un agrégat de type aluminosilicate B. Cartographie EDS de la zone mise en évidence et spectres XANES associés

et en association avec des phases minérales (Fig. 18), et enfin (iii) des particules isolées riches en azote (rapport  $N/C = 0.9$  (valeur obtenue par EDS et en XANES)) dont le spectre XANES montre qu'elles sont particulièrement riches en amides (Fig. 19). Le spectre XANES obtenu par microscopie STXM des particules riches en carbone montre qu'elles présentent une signature





**Figure 20.** Image STEM-HAADF et cartographie EDS associée. Les cercles blancs correspondent aux phyllosilicates associés à de la matière organique particulièrement riche en azote.

d'hydrocarbures aromatiques très similaire à celle de la matière organique présente dans le résidu formé sans gel précurseur d'argiles. En raison de leur association avec les minéraux, le spectre XANES moyen de la matière organique riche en azote ne peut pas être réalisé. Il apparaît également que ces composés sont plus particulièrement associés aux quelques phyllosilicates identifiés dans le résidu (Fig. 19).

Cette analyse microscopique multi-techniques permet de conclure à une importante hétérogénéité chimique et structurale du résidu expérimental. Pour rappel, lors de l'évolution hydrothermale du gel précurseur seul, un seul produit chimiquement et structurellement homogène est observé (montmorillonite). Lors de la dégradation de l'ARN en absence de minéral, un seul type de particules organiques ayant toutes la même composition est formé ainsi qu'une seule espèce de phosphate inorganique (biphosphammite). Dans le cas d'une co-évolution de l'ARN et du gel précurseur, le résidu solide formé compte cinq phases minérales différentes (aluminosilicates pauvres en ammonium, aluminosilicates riches en ammonium, phyllosilicates, phosphates mixtes et hydroxydes d'aluminium) et au moins trois types de

structures organiques (particules d'hydrocarbures aromatiques et particules riches en azote/amides).

### 3. Produits de dégradation solubles

L'analyse de la fraction liquide par ESI-MS en mode positif montre que les composés organiques formés et solubles dans l'eau ne dépassent pas 222 en  $m/z$  (Fig. 22). Les signaux réguliers observés au-delà à toutes les masses sont des artefacts de mesures. Les molécules observées ont donc une taille relativement faible et nettement inférieure qu'en absence de précurseur d'argiles où les  $m/z$  atteignent 500. La RMN du  $^{13}\text{C}$  (en détection directe) présente des signaux essentiellement avant 60 ppm avec notamment des pics intenses à 43, 24 et 12 ppm associés à des carbones aliphatiques dans des chaînes alcanes en environnement CH,  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$

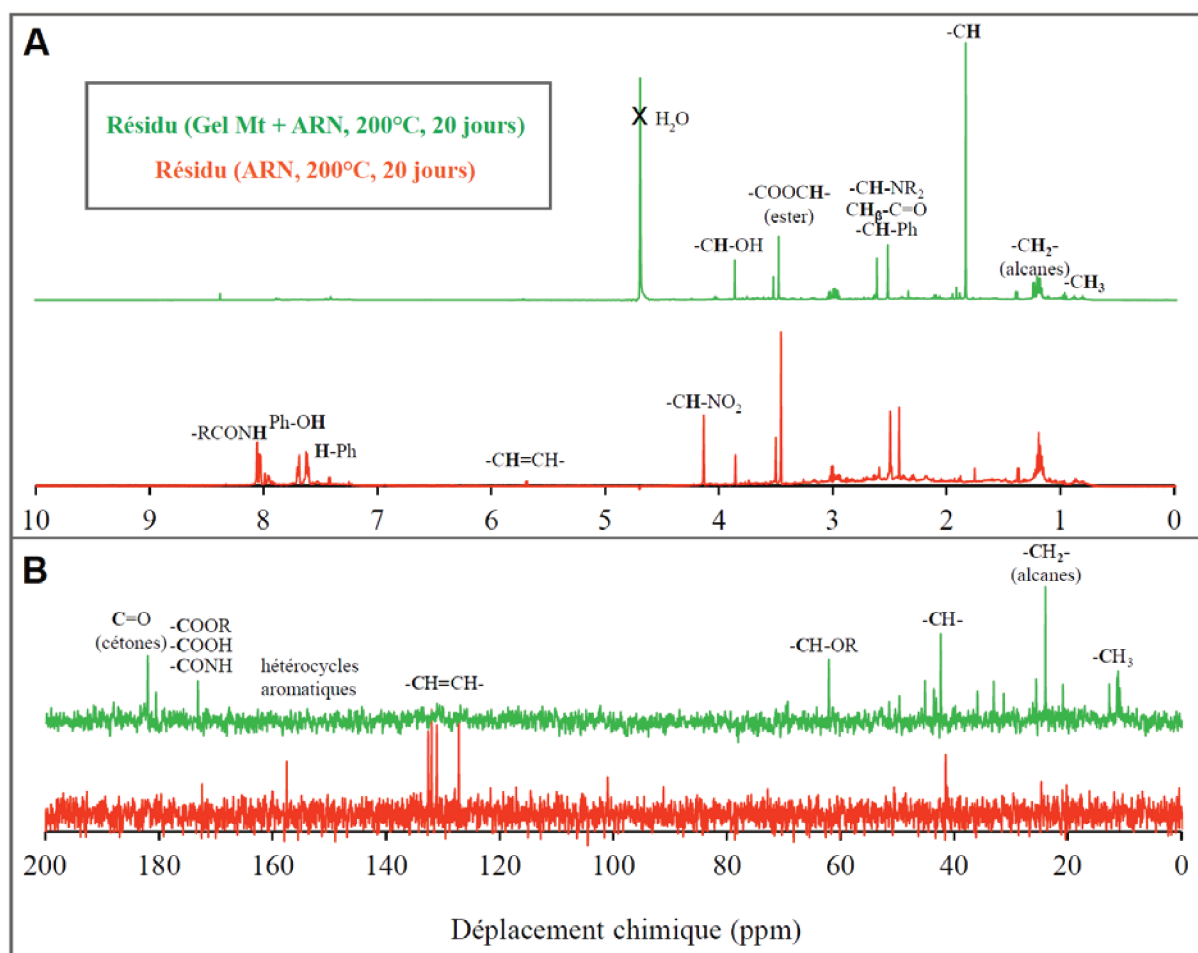
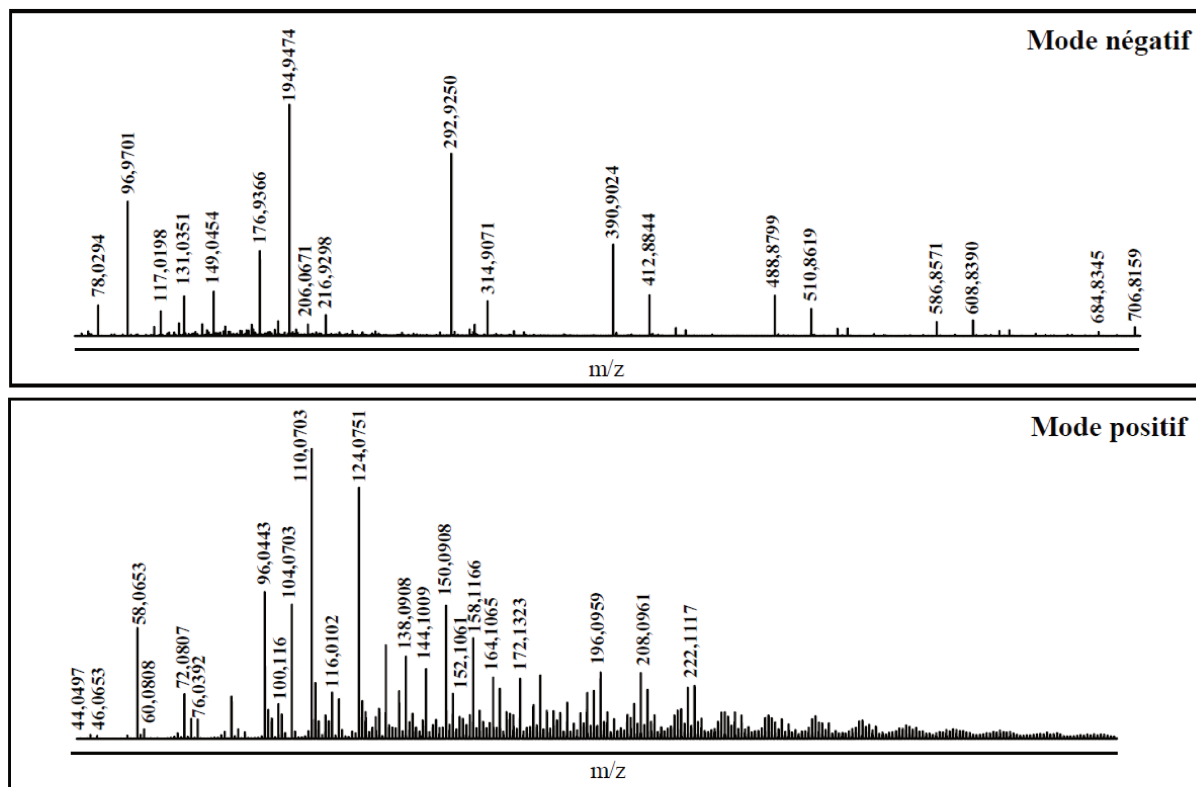


Figure 21. Spectres RMN des résidus solubles obtenus en détection directe A.  $^1\text{H}$  B.  $^{13}\text{C}$



Mode négatif

Mode positif

Masse mesurée	Attribution probable
<b>78,9592</b>	$\text{PO}_3^-$
<b>96,9701</b>	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$
117,0198	?
131,0351	?
149,0454	{ $2 \text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, \text{HOO}^-$ }
<b>176,9366</b>	{ $\text{H}_3\text{PO}_4, \text{PO}_3^-$ }
188,0563	?
<b>194,9474</b>	{ $\text{H}_3\text{PO}_4, \text{H}_2\text{PO}_4^-$ }
206,0671	?
<b>216,9298</b>	{ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, \text{HPO}_3, \text{PO}_3^-$ }
<b>292,9250</b>	{ $2 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{H}_2\text{PO}_4^-$ }
<b>314,9071</b>	{ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, \text{H}_3\text{PO}_4, \text{HPO}_3, \text{PO}_3^-$ }
<b>390,9024</b>	{ $3 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{H}_2\text{PO}_4^-$ }
<b>412,8844</b>	{ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, 2 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{HPO}_3, \text{PO}_3^-$ }
<b>488,8799</b>	{ $4 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{H}_2\text{PO}_4^-$ }
<b>510,8619</b>	{ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, 3 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{HPO}_3, \text{PO}_3^-$ }
<b>586,8571</b>	{ $5 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{H}_2\text{PO}_4^-$ }
<b>608,8390</b>	{ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, 4 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{HPO}_3, \text{PO}_3^-$ }
<b>684,8345</b>	{ $6 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{H}_2\text{PO}_4^-$ }
<b>695,9103</b>	{ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, \text{C}_5\text{H}_9, 5 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{HPO}_3, \text{PO}_3^-$ }
<b>706,8159</b>	{ $5 \text{H}_3\text{PO}_4, \text{HPO}_3, \text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2, \text{PO}_3^-$ }

Masse mesurée	Attribution probable
44,0497	$\text{C}_2\text{H}_3\text{NH}_3^+$
46,0653	$\text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_3^+$
<b>58,0653</b>	$\text{C}_3\text{H}_5\text{NH}_3^+$
60,0808	$\text{C}_3\text{H}_8\text{NH}_3^+$
<b>72,0807</b>	$\text{C}_4\text{H}_7\text{NH}_3^+$
<b>76,0392</b>	$\text{C}_2\text{H}_6\text{NO}_2^+$
<b>96,0443</b>	$\text{C}_5\text{H}_6\text{NO}^+$
100,1116	$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_3^+$
<b>104,0703</b>	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NO}_2^+$
<b>110,0595</b>	$\text{C}_6\text{H}_8\text{NO}^+$
<b>116,0102</b>	{ $(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2)(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2)^+$ }
118,0857	?
<b>124,0751</b>	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{NO}^+$
<b>138,0908</b>	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{NO}^+$
144,1009	?
<b>150,0908</b>	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{NO}^+$
<b>152,1061</b>	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{NO}^+$
158,1166	?
<b>164,1065</b>	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}^+$
172,1323	?
<b>196,0959</b>	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}_3^+$
<b>208,0961</b>	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_3^+$
<b>222,1117</b>	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_3^+$
<b>224,1274</b>	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{NO}_3^+$

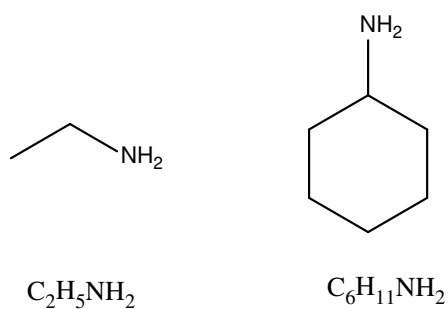
**Figure 22.** Spectres de masses de la fraction liquide obtenus par ESI-MS en mode positif et négatifs et tables d'attribution des pics. Les masses en gras correspondent aux masses également présentes dans l'échantillon témoin sans précurseur d'argiles.



respectivement (Fig. 21). Contrairement à l'échantillon réalisé en absence de minéraux, aucun signal n'est observé autour de 130 ppm et 160 ppm ce qui implique qu'aucune insaturation C=C n'est présente et donc *a fortiori* aucun composé (hétéro)aromatique. Le pic à 173 ppm confirme, comme dans l'échantillon témoin, la présence de dérivés d'acides (acides carboxyliques, amides, esters) mais un pic intense supplémentaire est identifiable à 182 ppm et correspond à des composés carbonylés (ici des cétones). Le caractère aliphatique des composés formés est confirmé par RMN du  $^1\text{H}$  par la quasi absence de signaux entre 6,5 et 8,5 ppm (Fig. 19). Les signaux intenses correspondants aux carbones aliphatiques des chaînes alcanes sont bien identifiables entre 0 et 2 ppm. La présence de cétones est également confirmée par l'existence du pic à 2,52 ppm et la présence d'amides et d'esters par celle des pics à 2,62 et 3,49 ppm respectivement. La spectrométrie de masse (ESI-MS) en mode négatif permet d'identifier l'ion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  à la masse 96,97. Les pics aux masses supérieures correspondent tous à des adduits formés à partir d'orthophosphates et de glyoxal, similaires à ceux observés partie 3 II.2. à l'exception du pic à 149,04 formés uniquement d'un glyoxal et d'un ion hydroperoxyde. En mode positif, le très grand nombre de pics témoigne de la grande diversité des composés organiques formés. Le pic à 96,04 correspondant à un (ou des) composé(s) de formule brute  $\text{C}_5\text{H}_5\text{NO}$  et identifié dans l'échantillon témoin est présent et suivi des pics à 110,06 ; 124,08 ; 138,09 et 152,11 formant ainsi une série de composés auxquels s'ajoute successivement un groupe méthyle (de masse 14,02). Cette série, également présente dans l'échantillon témoin, est associée à des composés essentiellement aromatiques (voir Partie 3 II.2.) et donc peu représentative des composés présents ici, conformément aux conclusions issues de la RMN sur leur caractère nettement aliphatique. Parmi les pics uniquement observés dans l'échantillon réalisé en présence d'aluminosilicates, on notera le pic à 46,07 correspondant à l'éthylamine ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_2$ ) qui est une amine I très soluble dans l'eau et dont la présence est compatible avec les signaux observés en RMN et en particulier le multiplet autour de 3 ppm qui pourrait s'expliquer en partie par les protons  $\text{CH}_2\text{-NH}_2$  de l'éthylamine (Fig. 21). Le pic à la masse 100,11 et correspondant à un composé de formule brute  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_2$  correspond quant à lui à une amine

cyclique telle que celle proposée Fig. 22. Cette structure est également en accord avec les signaux RMN.

Les composés solubles dans l'eau obtenus en présence de précurseurs d'argiles sont donc très différents de ceux observés dans l'échantillon témoin. Ils contiennent majoritairement des carbones aliphatiques et sont constitués de chaînes plus courtes et éventuellement cycliques.



**Figure 23.** Propositions de structures représentatives de la fraction soluble de l'échantillon produit en présence d'argiles

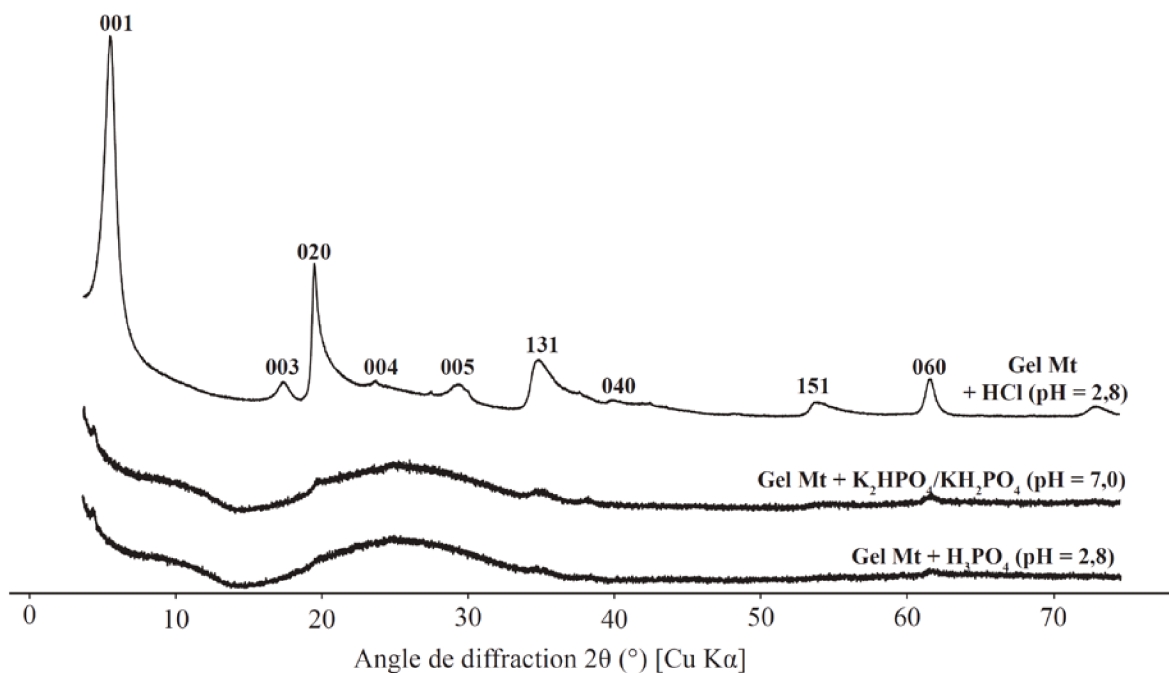
## IV. Hypothèses mécanistiques

Les expériences réalisées ont permis de montrer que la présence d'ARN exerce une forte influence sur la cristallisation du précurseur d'argiles en conditions hydrothermales et, *vice versa*, que la dégradation de l'ARN en présence du précurseur d'argiles est très différente de la dégradation d'une suspension d'ARN seul. Nous proposons dans ce paragraphe un certain nombre d'hypothèses sur les interactions entre les composés organiques et les minéraux afin d'expliquer les effets de leur présence simultanée sur la composition du résidu final.

### 1. Inhibition de la cristallisation des aluminosilicates par les phosphates

L'un des effets les plus frappants de la présence d'ARN est la très forte inhibition de la cristallisation des argiles. Une des hypothèses permettant d'expliquer ce phénomène est le rôle prépondérant des phosphates dans les interactions avec les aluminosilicates (**Hashizume et al. 2010**). Dans ce système, les phosphates sont très disponibles car rapidement libérés en solution par hydrolyse de l'ARN (**Oivanen et al. 1998**). L'affinité des phosphates avec les aluminosilicates ou les hydroxydes est connue et s'explique notamment par la présence de charges positives en surface issues de substitution de cations ( $Mg^{2+} \rightarrow Al^{3+}$  par exemple) (**Andrea et al. 2017**). Il n'est donc pas surprenant de constater que contrairement à la silice amorphe, les aluminosilicates présents dans le résidu solide contiennent tous un certain pourcentage de phosphore. Comme nous l'avons suggéré au §III.2. à l'aide de la RMN MAS du  $^{31}P$ , des complexes impliquant des liaisons Al-O-P ou Mg-O-P ont pu se former en surface ou sur les bords des aluminosilicates. Ceci impliquerait donc qu'une part des phosphates aient été chimisorbés en suivant des réactions d'échange de ligands (**Aisawa et al. 2005**), avec ici un échange d'un ligand aquo ou hydroxo par un ligand phosphate. Un mécanisme alternatif consistant en la formation de ponts cationiques à l'aide de cations divalents ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) peut également être envisagé et a déjà été rapporté dans le cas de l'ARN (**Franchi et al. 2003**).

Toutefois, l'existence des aluminosilicates de composition  $\text{Ca}_{0.1}\text{Si}_4\text{Al}_{1.8}\text{Mg}_{0.3}(\text{NH}_4)_{0.76}(\text{PO}_4)_{0.4}\text{O}_{11}$  dont la teneur en phosphore est significative laisse également supposer la potentielle existence de précipités de surface c'est-à-dire de couches solides de phosphates autour des aluminosilicates, dont la composition est difficile à mesurer. Dans tous les cas, l'occupation partielle des sites de surface des aluminosilicates et des hydroxydes d'aluminium par les phosphates rend plus difficile la condensation des silicates en surface pour former des couches tétraédriques. Les ions orthosilicates présents en solution se condensent donc préférentiellement entre eux pour former les nombreuses sphères de silice amorphe observées dans le résidu. Cette hypothèse est appuyée par les résultats d'une série d'expériences témoins où l'ARN est remplacé par une source de phosphates ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  ou mélange  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) de concentration identique en phosphates. Ces expériences, réalisées aux deux pH limites de l'expérience de fossilisation en présence d'ARN (environ 3 au début et 8 à la fin) confirment l'inhibition de la cristallisation de la montmorillonite en présence de phosphates (Fig. 24). En absence de phosphates, l'expérience réalisée en milieu acide (HCl) montre que les conditions employées permettent de cristalliser normalement la montmorillonite. La précipitation des phosphates mixtes (Ca, Al, Mg) sous forme de particules (identifiées dans les cartographies EDS



**Figure 24.** Diffractogrammes de rayons X de solides synthétisés à partir de gel Mt en présence de phosphates ou d'acide chlorhydrique

(Fig. 20)) implique donc des cations initialement présents dans le gel précurseur. Cela suppose donc que ces cations aient été échangés (probablement à la surface des aluminosilicates où l'activité des phosphates est plus grande que dans le reste de la solution pour les raisons évoquées ci-dessus) ou que ces cations soient issus d'une dissolution partielle des aluminosilicates.

Une hypothèse alternative impliquant des composés organiques et permettant d'expliquer l'inhibition de la cristallisation des argiles en présence d'ARN peut également être envisagée. En effet, certains composés organiques comme les amides ou les acides carboxyliques (présents sous forme de carboxylates au pH du système) sont également des espèces présentant des charges négatives susceptibles d'interagir avec les surfaces chargées des aluminosilicates et des hydroxydes par l'intermédiaire de ponts cationiques (**Mortland 1970; Kee Kwong and Huang 1979**). La taille relativement importante de ces composés pourrait alors induire, en plus d'une occupation des sites de surface, une répulsion stérique entre les nuclei précurseurs de la formation des argiles, expliquant ainsi l'inhibition de la cristallisation.

## 2. Dégradation de la matière organique

L'analyse en spectroscopie XANES des particules carbonées riches en hydrocarbures aromatiques montre que leur signature est très similaire à celle des particules formées par la dégradation de l'ARN seul en solution (voir Fig. 19B et Partie 3 Fig. 3B). Il est donc raisonnable de supposer que ces particules sont formées sans intervention des surfaces minérales.

En revanche, la formation d'une matière organique plus « diffuse » en présence du gel précurseur et plus riche en azote semble liée à la présence des aluminosilicates. De nombreux composés contenant de l'azote peuvent être issus de la dégradation partielle de l'ARN comme des amines, des amides ou des N-hétérocycles. De par leur fonctionnalisation, ces composés sont connus pour se lier facilement à des surfaces (basales ou latérales) de minéraux argileux ou s'incorporer dans les espaces inter-foliaires (**Feuillie et al. 2013; Pedreira-Segade et al. 2018**). Ces processus sont favorisés dans le cas où le pH de la solution permet à ces molécules

organiques d'être chargées (positivement ou négativement) (Schnitzer and Kodama 1966). Le pH en début d'expérience étant compris entre 3 et 4, la plupart des composés azotés (amines, amides et N-hétérocycles) sont donc présents sous leur forme protonée et donc chargés positivement. La faculté des molécules organiques azotées à exister sous forme chargée explique pourquoi, par interaction électrostatique, elles présentent une affinité particulière pour les surfaces argileuses à la différence des hydrocarbures non fonctionnalisés (alcane, alcènes et composés (poly)aromatiques). Il est donc vraisemblable que très tôt dans l'expérience, ces composés azotés s'associent aux aluminosilicates et suivent l'essentiel de leurs processus de dégradation dans un état plus ou moins adsorbé.

Cependant, les aluminosilicates peuvent aussi intervenir dans ces réactions comme catalyseurs acides et favoriser ainsi le craquage et la réhydratation des composés organiques, formant ainsi des produits au caractère beaucoup plus aliphatique. Cet effet des aluminosilicates et des argiles en particulier est d'ailleurs connu comme à l'origine de la formation d'hydrocarbures aliphatique (Wu et al. 2012; Rahman et al. 2017). Un résumé des principales étapes du mécanisme de dégradation de l'ARN en présence d'aluminosilicates est présenté Fig. 25

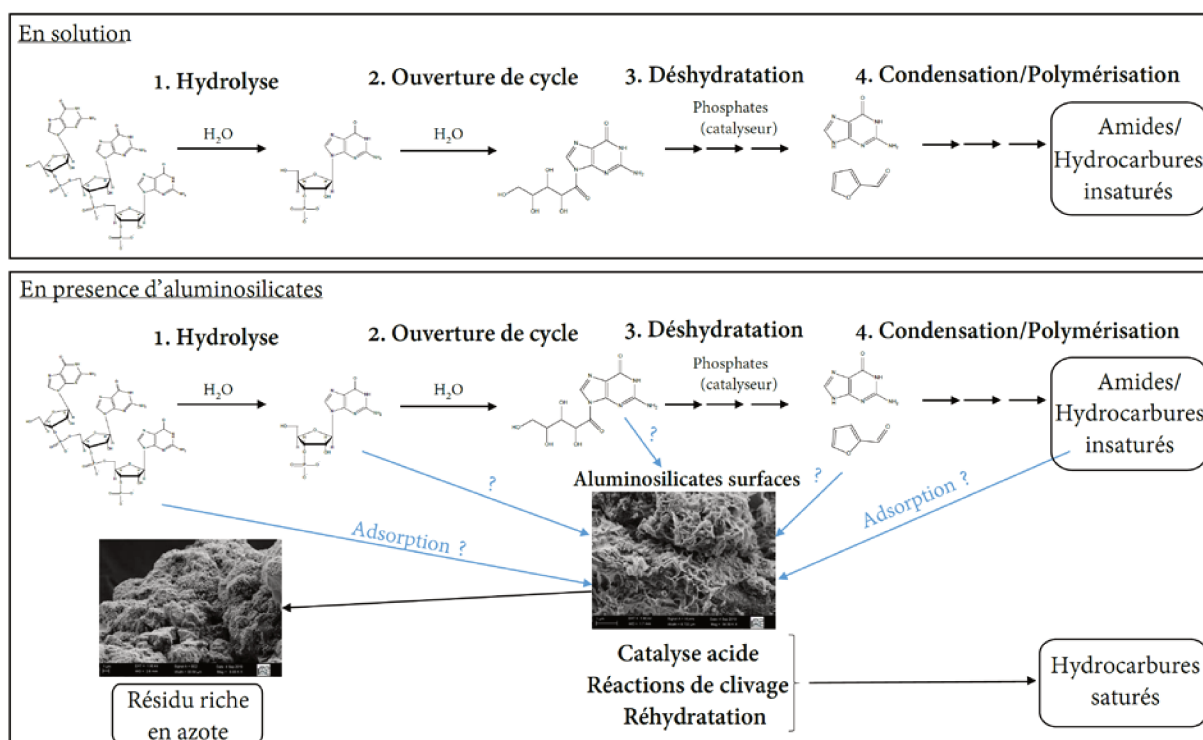


Figure 25. Schéma réactionnel de la dégradation de l'ARN en solution et en présence d'aluminosilicates

## V. Influence de la quantité d'eau sur la fossilisation

Dans les expériences décrites précédemment, nous avons brièvement évoqué le rôle de l'eau comme solvant mais également comme catalyseur. Dans la mesure où de nombreuses interactions ont lieu entre la matière organique et les minéraux, nous nous intéressons dans cette dernière partie à l'influence de l'eau sur les interactions minéral-matière organique en conditions hydrothermales. Dans le contexte de la chimie prébiotique, il a souvent été montré que la concentration des espèces dans un solvant est un paramètre fondamental du bilan des réactions de formation de composés prébiotiques (macromoléculaires notamment) (Lambert 2008; Dass et al. 2018). Qu'en est-il du rôle de l'eau sur le bilan des réactions intervenant au cours de la fossilisation ? Les structures fossiles étant souvent en contact avec de l'eau à un ou plusieurs moments de leur histoire géologique, soit précocement au moment de leur formation, soit plus tardivement par des circulations de fluides, il est difficile de simuler expérimentalement l'effet global de l'eau sur la composition finale d'un fossile. Toutefois, nous avons voulu comparer deux cas limites, l'un modélisant une évolution en milieu très concentré et l'autre en milieu dilué (correspondant aux conditions des expériences présentées précédemment).

### 1. Influence de la quantité d'eau sur la cristallisation de la montmorillonite en absence d'ARN

En milieu dilué, nous avons montré qu'en absence d'ARN le gel précurseur de montmorillonite évolue vers une montmorillonite cristallisée (§ II). Lorsque la quantité d'eau est plus faible, seules certaines réflexions caractéristiques de la montmorillonite demeurent observables en DRX (Fig. 26). En effet, la réflexion (001) à 14,85 Å reste visible bien qu'elle soit moins intense, ce qui traduit un plus faible degré d'organisation selon l'axe *c*. La réflexion (060) à 1,496 Å est moins intense également et présente une contribution secondaire à 1,524 Å, caractéristique de structures tri-octaédriques comme les hydroxydes d'aluminium présents dans le gel précurseur.

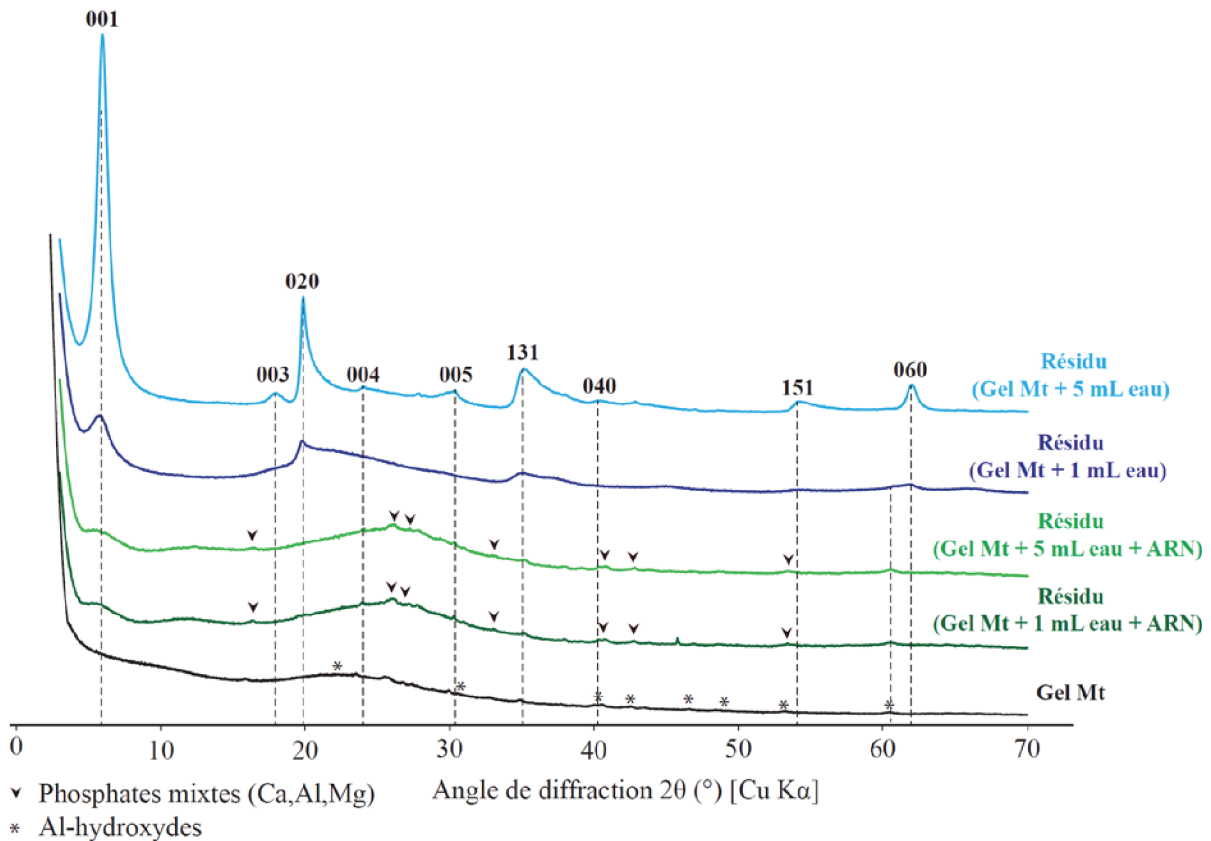


Figure 26. Diffractogrammes de rayons X des résidus obtenus avec et sans ARN à différentes quantités d'eau

Cela implique donc que le système est en cours d'évolution vers une montmorillonite similaire à celle observée en milieu dilué mais que la cristallisation est inhibée en présence d'une quantité d'eau plus faible.

## 2. Influence de la quantité d'eau sur la dégradation thermique de l'ARN en absence de minéraux

L'évolution d'une suspension d'ARN en conditions hydrothermales en milieu dilué a été décrite partie 3 II. et consiste en la formation de particules organiques riches en hydrocarbures présentant une forte signature aromatique et à la formation de cristaux de phosphates d'ammonium. En milieu concentré, peu de signal est observé en RMN MAS du  $^{13}\text{C}$  entre 0 et 100 ppm ce qui traduit une présence plus importante de composés aromatiques par rapport aux composés aliphatiques (Fig. 27). Certains pics pouvant être attribués à des cycles de type furfural



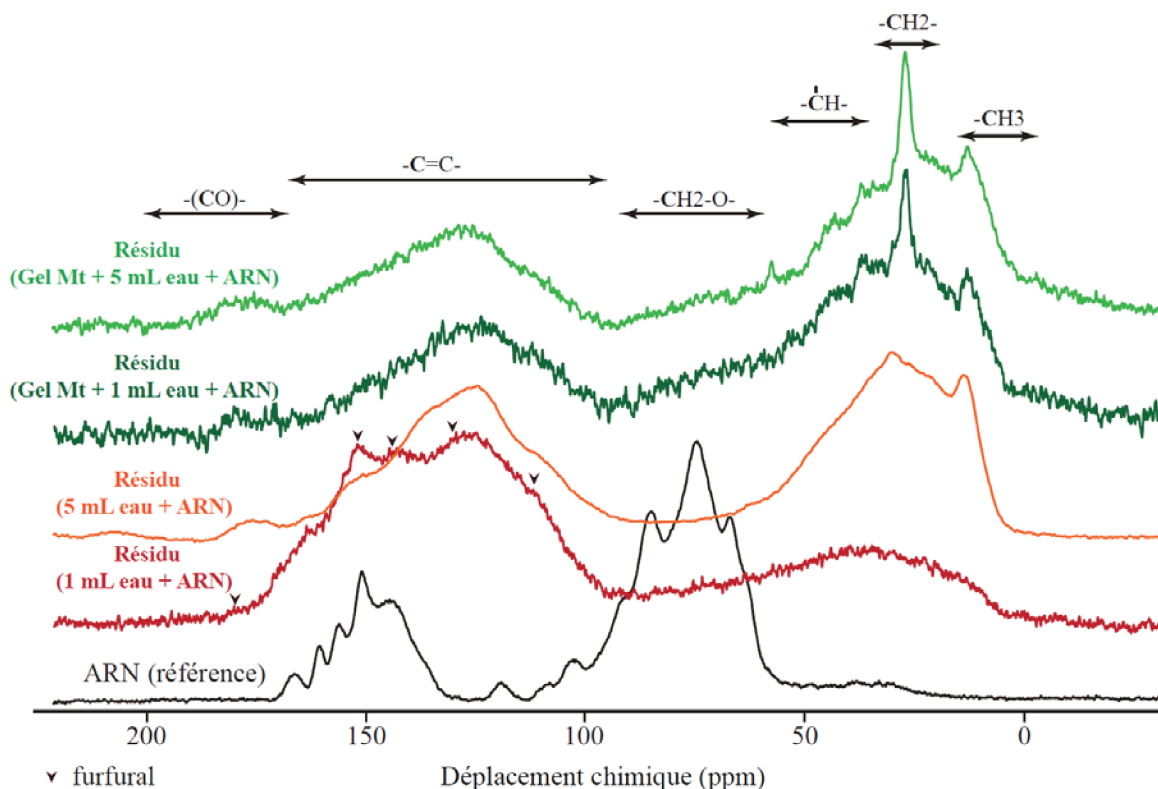


Figure 27. Spectres RMN MAS du <sup>13</sup>C obtenus en polarisation croisée des résidus pour différentes quantités d'eau

(qui sont des produits de déshydratation typiques de sucres) peuvent être également plus facilement observés (Sinag et al. 2003; Sevilla and Fuertes 2009). La production plus importante de ces produits de déshydratation en milieu concentré s'explique par une activité de l'eau plus faible donc, (i) du point de vue thermodynamique par un déplacement d'équilibre dans le sens de la formation d'eau (donc de la déshydratation) et (ii) du point de vue cinétique

par une activité plus importante des phosphates qui agissent comme catalyseurs de la déshydratation des sucres (Salak Asghari and Yoshida 2006). Concernant les phosphates, la DRX montre qu'un phosphate inorganique précipite également en milieu concentré et les réflexions observées confirment qu'il s'agit

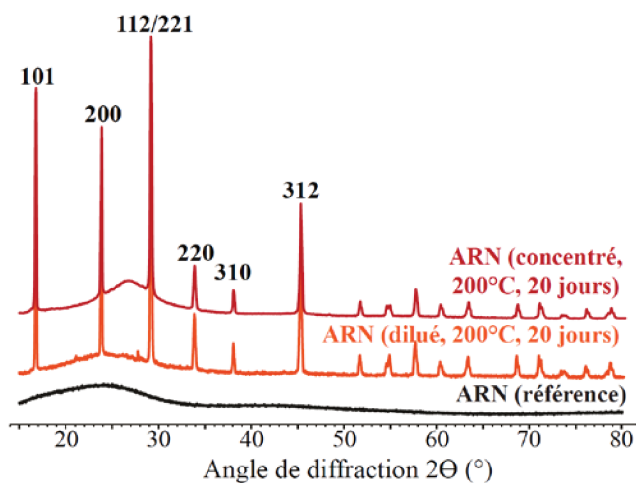
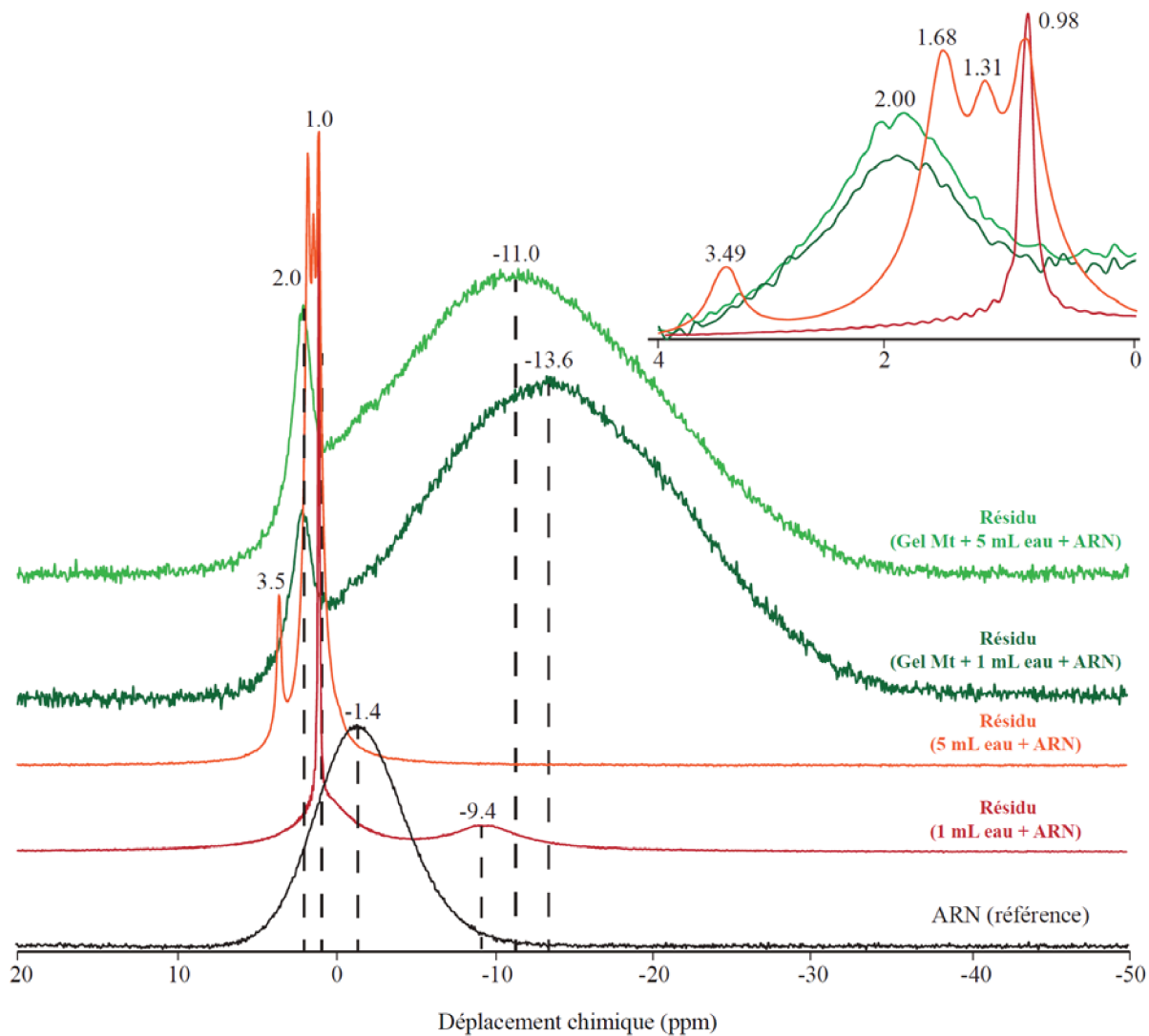


Figure 28. Diffractogrammes de rayons X des résidus d'ARN obtenus à différentes concentrations



**Figure 29.** Spectres RMN MAS du  $^{31}\text{P}$  (proton-découplés) des résidus d'ARN obtenus à différentes concentrations

également de la biphosphamite (Fig. 28). Toutefois, seul le pic à 0,98 ppm est présent en RMN MAS du  $^{31}\text{P}$  (Fig. 27). La RMN du  $^{31}\text{P}$  montre également que des entités phosphatées présentent un signal (faible) autour de -9,4 ppm, caractéristique d'espèces condensées telles que les pyrophosphates. La production de ces espèces, difficile en solution, est rendue possible ici par la très forte concentration en phosphates.

### 3. Interactions entre ARN et aluminosilicates pour différentes quantités d'eau

Les résidus solides obtenus en milieu concentré par traitement hydrothermal d'assemblages gel précurseur + ARN présentent des caractéristiques très semblables à ceux obtenus en milieu dilué. La DRX et la RMN MAS  $^{29}\text{Si}$  et  $^{27}\text{Al}$  (Fig. 28, 30, 31) des deux résidus sont identiques ce qui implique que du point de vue des minéraux formés, aucun de ces deux cas de figure ne permet la cristallisation de montmorillonite. L'inhibition de la cristallisation des argiles sous l'action des phosphates ou des molécules azotées est donc systématique, aussi bien en milieu concentré qu'en milieu dilué.

Les molécules organiques formées présentent également la même signature en RMN MAS du  $^{13}\text{C}$  (Fig. 27). Ceci est un résultat important car il confirme l'hypothèse que les réactions de dégradation de la matière organique impliquent principalement des espèces dans un état

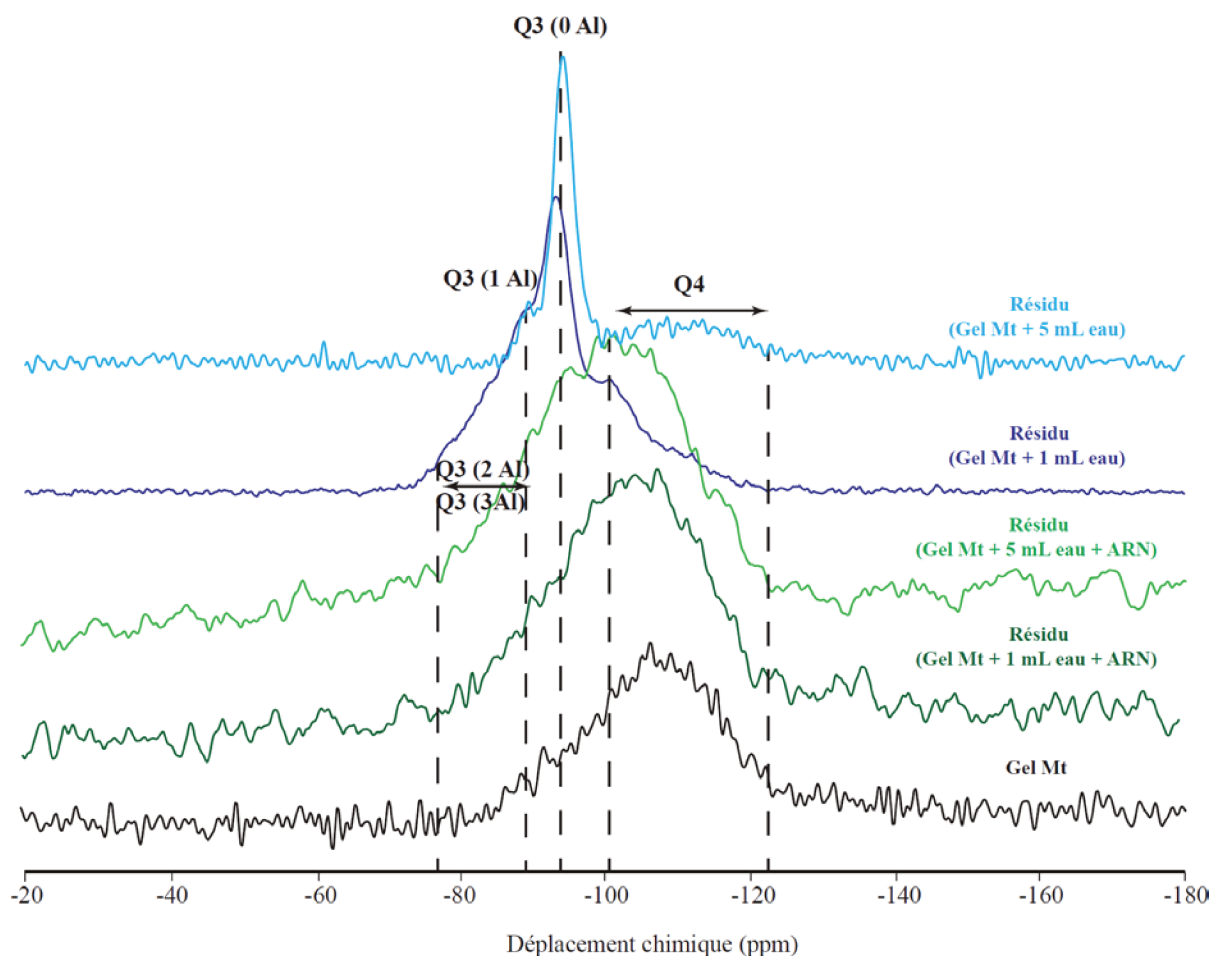


Figure 30. Spectres obtenus en RMN MAS  $^{29}\text{Si}$  (proton-découplé) des résidus d'ARN obtenus à différentes concentrations

adsorbé sur des surfaces et peu en solution, rendant les bilans de matière finaux très peu dépendants des concentrations des espèces. En effet, il a été montré que, dans le cas de l'ADN, les processus d'adsorption en eux-mêmes sur des surfaces d'hydroxydes ou d'aluminosilicates sont très peu dépendants des concentrations en acides nucléiques (Andrea et al. 2017). Les caractéristiques des composés formés sont donc principalement déterminées par la nature des surfaces minérales en présence, qui dans le cas des aluminosilicates catalysent notamment les réactions de réhydratation des alcènes pour former des alcanes. A travers ces expériences, la présence d'aluminosilicates apparaît donc comme un paramètre clé dans la production d'hydrocarbures saturés, ce qui a été déjà mis en évidence sur des échantillons naturels provenant de schistes (Huizinga et al. 1987; Kennedy 2002; Rahman et al. 2017).

Enfin, les phosphates formés en milieu dilué ou concentré présentent des signatures très proches en RMN MAS du  $^{31}\text{P}$  (Fig. 29). Toutefois, les phosphates correspondant aux précipités ou complexes de surfaces (pic très large entre 8 et -32 ppm) formés en milieu concentré ont un pic très légèrement décalé vers les déplacements chimiques négatifs. Il est envisageable que, en accord avec l'observation de pyrophosphates formés lors des expériences en absence de

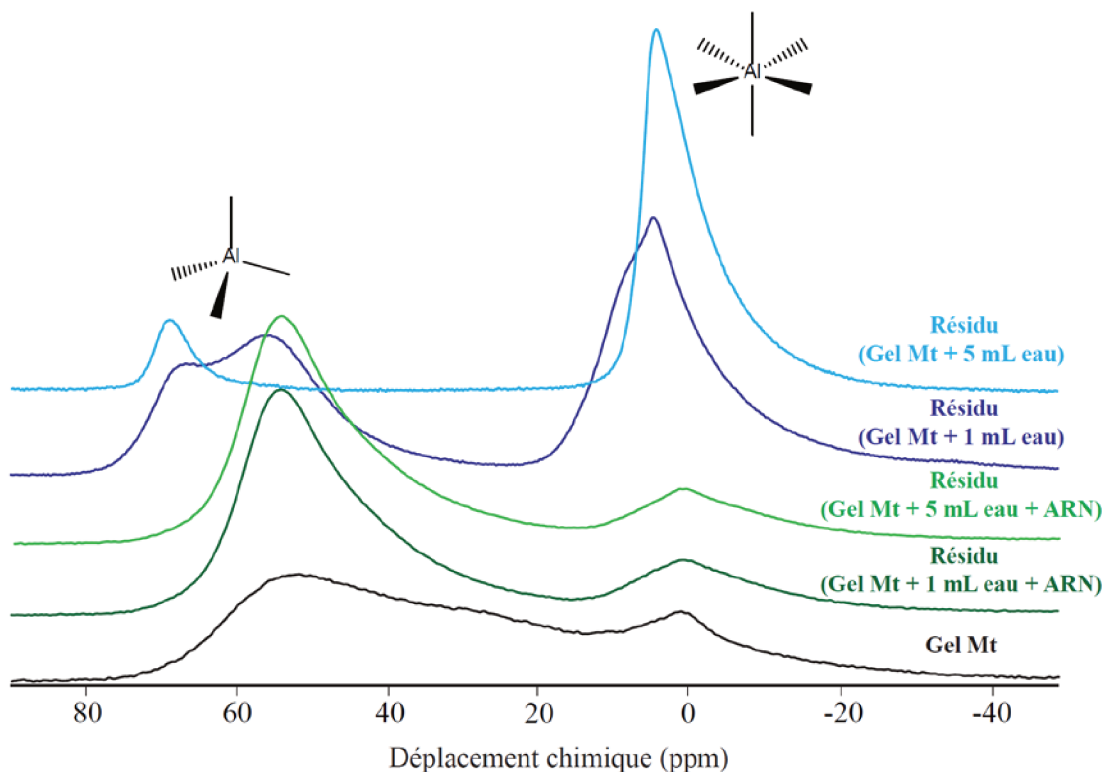


Figure 31. Spectres RMN MAS  $^{27}\text{Al}$  des résidus d'ARN obtenus à différentes concentrations

minéraux, que ces phosphates soient davantage composés d'espèces condensées (pyrophosphates) qu'en milieu dilué.

## VI. Conclusions

Un schéma bilan des expériences et résultats de cette partie est consultable Fig. 32.

Les expériences décrites dans cette partie ont permis de montrer que l'ARN inhibe la cristallisation des minéraux argileux et qu'il favorise la formation de smectites trioctaédriques. Ceci implique que des minéraux associés à la matière biologique peuvent former des phases métastables et différentes de celles attendues dans des conditions données. Les minéraux argileux étant des phases très fréquentes au sein de fossiles exceptionnellement préservés, la corrélation entre leur minéralogie et la matière biologique qu'ils ont pu rencontrer est une piste intéressante de recherche ultérieure afin d'utiliser certains aluminosilicates comme des biosignatures.

Enfin, les expériences à différentes quantités d'eau ont permis de montrer la très faible influence de ce paramètre sur la nature et la composition des résidus. Contrairement à ce qui a été mis en évidence par certains auteurs (**Kennedy 2002; Wu et al. 2012**), nos résultats suggèrent que la quantité d'eau est un élément moins déterminant que la nature de la matrice minérale, en l'occurrence argileuse dans cette étude. L'évolution d'un fossile semble donc moins déterminée par d'éventuelles circulation de fluides que par la composition de la roche qui l'accueille.

Les expériences décrites dans cette partie montrent que la présence de minéraux argileux exerce une influence importante sur la dégradation de l'ARN dans des conditions de diagénèse. La fraction organique du résidu obtenu en présence du précurseur d'argiles est en effet sensiblement différente de celle obtenue en absence d'argiles. Conformément à ce qui est couramment décrit lors de la formation d'hydrocarbures dans des schistes (**Huizinga et al. 1987; Rahman et al. 2017**), il a été possible lors de cette étude de mettre en évidence l'activité catalytique des argiles dans la production de composés de faible poids moléculaire et essentiellement aliphatiques. La présence de cations issus du gel précurseur a également permis de minéraliser différemment les phosphates en formant préférentiellement des phosphates

mixtes (Ca, Al, Mg) plutôt que des phosphates d'ammonium (biphosphammite). Toutefois, à partir de la seule analyse du contenu moléculaire du résidu formé par fossilisation expérimentale, il paraît difficile de reconnaître le réactif biologique initial (l'ARN). En effet, les signatures spécifiques de l'ARN (en RMN ou en XANES) sont entièrement perdues et aucun composé identifié par spectrométrie de masse ne peut être trivialement assimilé à un produit de dégradation de l'ARN. Les hétérocycles aromatiques constituant les produits principaux de l'expérience témoin sans argile et apparaissant comme des composés proches de produits de dégradation classiques du ribose (Sevilla and Fuertes 2009; Akouche et al. 2016), ne représentent – conformément à la spectroscopie RMN – que de très faibles quantités dans le résidu obtenu en présence d'argiles. En cela, il est clair que la présence d'argiles augmente *in fine* la difficulté de lecture de l'information moléculaire. Cependant, la spécificité du résidu obtenu en présence d'argiles réside précisément dans sa complexité et dans sa nature hétérogène. Comme nous l'avons vu, la matière organique se présente en plusieurs pôles de compositions distinctes et séparés spatialement (particules isolées ou matière organique « diffuse » associée aux aluminosilicates). Concernant les minéraux formés, leur diversité et la très grande variabilité de leur composition et de leur cristallinité sont également des aspects spécifiques de la co-évolution ARN-minéraux argileux et s'expliquent en grande partie, comme nous l'avons vu, par la richesse de l'ARN en terme de réactivité et par la présence de nombreux hétéro-éléments. Ces propriétés, qui concernent l'organisation du résidu dans sa globalité, pourraient être envisagées comme des biosignatures à part entière du « monde à ARN ». Des organisations similaires ont pu être observées par certains auteurs lors de l'analyse spectroscopique (résolue spatialement) de certains fossiles (Brasier et al. 2015; Wacey et al. 2015; Alleon et al. 2018). Ceci donne également un nouvel éclairage sur des cas plus controversés comme les 'microfossiles' de l'Apex où des structures très hétérogènes à petite échelle et composées d'aluminosilicates et de matière organique (Wacey et al. 2016) pourraient être interprétées comme des indices d'une origine biologique de ces objets.

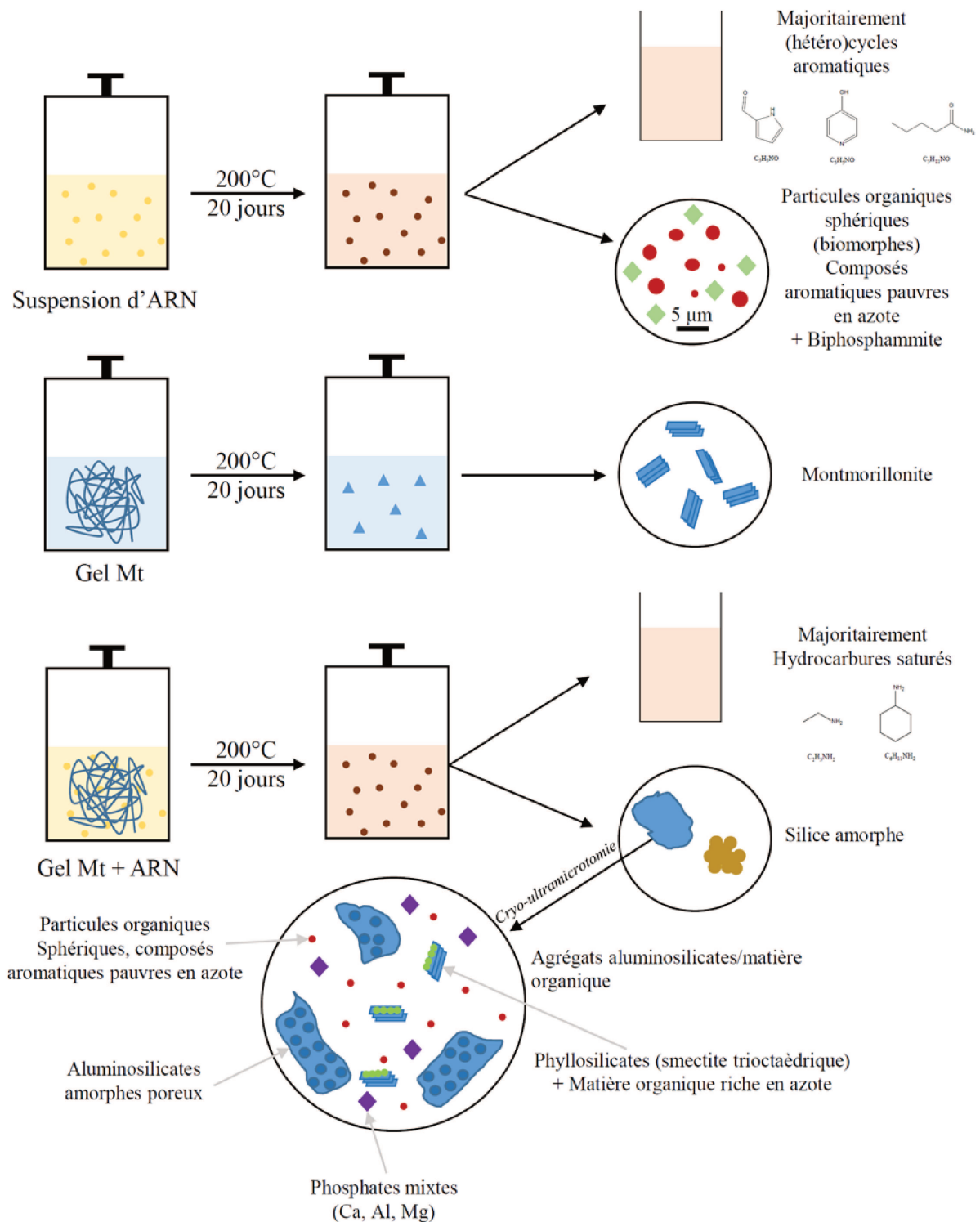


Figure 32. Schéma bilan



## VII. Références

- Aisawa S, Ohnuma Y, Hirose K, et al (2005) Intercalation of nucleotides into layered double hydroxides by ion-exchange reaction. *Applied Clay Science* 28:137–145. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2004.01.008>
- Akouche M, Jaber M, Zins E-L, et al (2016) Thermal Behavior of d-Ribose Adsorbed on Silica: Effect of Inorganic Salt Coadsorption and Significance for Prebiotic Chemistry. *Chemistry – A European Journal* 22:15834–15846. <https://doi.org/10.1002/chem.201601418>
- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2018) Chemical nature of the 3.4 Ga Strelley Pool microfossils. *Geochemical Perspectives Letters* 37–42. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1817>
- Andrea KA, Wang L, Carrier AJ, et al (2017) Adsorption of Oligo-DNA on Magnesium Aluminum-Layered Double-Hydroxide Nanoparticle Surfaces: Mechanistic Implication in Gene Delivery. *Langmuir* 33:3926–3933. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b04172>
- Bell EA, Boehnke P, Barboni M, Harrison TM (2019) Tracking chemical alteration in magmatic zircon using rare earth element abundances. *Chemical Geology* 510:56–71. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2019.02.027>
- Bergaya F, Jaber M, Lambert J-F (2011) Clays and Clay Minerals. In: Galimberti M (ed) *Rubber-Clay Nanocomposites*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, pp 1–44
- Bergaya F, Lagaly G (2013) General Introduction. In: *Developments in Clay Science*. Elsevier, pp 1–19
- Berger G, Beaufort D, Antoine R (2018) Clay minerals related to the late magmatic activity of the Piton des Neiges (Réunion Island): consequence for the primitive crusts. *Clay Minerals* 53:675–690. <https://doi.org/10.1180/clm.2018.51>
- Brasier MD, Antcliffe J, Saunders M, Wacey D (2015) Changing the picture of Earth's earliest fossils (3.5-1.9 Ga) with new approaches and new discoveries. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:4859–4864. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405338111>
- Butterfield NJ (2003) Exceptional Fossil Preservation and the Cambrian Explosion. *Integrative and Comparative Biology* 43:166–177. <https://doi.org/10.1093/icb/43.1.166>
- Butterfield NJ (1990) Organic preservation of non-mineralizing organisms and the taphonomy of the Burgess Shale. *Paleobiology* 16:272–286. <https://doi.org/10.1017/S0094837300009994>
- Butterfield NJ, Balthasar U, Wilson LA (2007) Fossil diagenesis in the burgess shale. *Palaeontology* 50:537–543. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4983.2007.00656.x>
- Butterfield NJ, Knoll AH, Swett K (1988) Exceptional preservation of fossils in an Upper Proterozoic shale. *Nature* 334:424–427. <https://doi.org/10.1038/334424a0>
- Cademenun B (2005) Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Talanta* 66:359–371. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.12.024>

- Callow RHT, Brasier MD (2009) A solution to Darwin's dilemma of 1859: exceptional preservation in Salter's material from the late Ediacaran Longmyndian Supergroup, England. *Journal of the Geological Society* 166:1–4. <https://doi.org/10.1144/0016-76492008-095>
- Carlson RW, Garçon M, O'Neil J, et al (2019) The nature of Earth's first crust. *Chemical Geology* 530:119321. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2019.119321>
- Cavosie AJ, Valley JW, Wilde SA (2019) The Oldest Terrestrial Mineral Record. In: *Earth's Oldest Rocks*. Elsevier, pp 255–278
- Dass A, Jaber M, Brack A, et al (2018) Potential Role of Inorganic Confined Environments in Prebiotic Phosphorylation. *Life* 8:7. <https://doi.org/10.3390/life8010007>
- Decarreau A (1990) *Matériaux argileux: Structure, propriétés et applications*. Société Française de Minéralogie et de Cristallographie, Paris
- Feuillie C, Daniel I, Michot LJ, Pedreira-Segade U (2013) Adsorption of nucleotides onto Fe–Mg–Al rich swelling clays. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 120:97–108. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2013.06.021>
- Franchi M, Ferris JP, Gallori E (2003) Cations as Mediators of the Adsorption of Nucleic Acids on Clay Surfaces in Prebiotic Environments. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 33:16
- Furnes H (2004) Early Life Recorded in Archean Pillow Lavas. *Science* 304:578–581. <https://doi.org/10.1126/science.1095858>
- Gehling JG (1999) Microbial Mats in Terminal Proterozoic Siliciclastics: Ediacaran Death Masks. *PALAIOS* 14:40. <https://doi.org/10.2307/3515360>
- Hashizume H, van der Gaast S, Theng BKG (2010) Adsorption of adenine, cytosine, uracil, ribose, and phosphate by Mg-exchanged montmorillonite. *Clay Minerals* 45:469–475. <https://doi.org/10.1180/claymin.2010.045.4.469>
- Hawkesworth C, Cawood PA, Dhuime B (2019) Rates of generation and growth of the continental crust. *Geoscience Frontiers* 10:165–173. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2018.02.004>
- Hazen RM, Sverjensky DA, Azzolini D, et al (2013) Clay mineral evolution. *American Mineralogist* 98:2007–2029. <https://doi.org/10.2138/am.2013.4425>
- Huizinga BJ, Tannenbaum E, Kaplan IR (1987) The role of minerals in the thermal alteration of organic matter—IV. Generation of n-alkanes, acyclic isoprenoids, and alkenes in laboratory experiments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51:1083–1097. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(87\)90202-X](https://doi.org/10.1016/0016-7037(87)90202-X)
- Isley AE, Abbott DH (1999) Plume-related mafic volcanism and the deposition of banded iron formation. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth* 104:15461–15477. <https://doi.org/10.1029/1999JB900066>
- Jaber M, Miéché-Brendlé J (2005) Influence du milieu de synthèse sur la cristallisation de saponite : proposition de mécanisme réactionnel en milieux acide et basique. *Comptes Rendus Chimie* 8:229–234. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2004.10.025>
- Kee Kwong KFN, Huang PM (1979) Surface Reactivity of Aluminum Hydroxides Precipitated in the Presence of Low Molecular Weight Organic Acids. *Soil Science Society of America Journal* 43:1107. <https://doi.org/10.2136/sssaj1979.03615995004300060009x>

- Kennedy MJ (2002) Mineral Surface Control of Organic Carbon in Black Shale. *Science* 295:657–660. <https://doi.org/10.1126/science.1066611>
- Konhauser KO, Urrutia MM (1999) Bacterial clay authigenesis: a common biogeochemical process. *Chemical Geology* 161:399–413. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(99\)00118-7](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(99)00118-7)
- Kremer B, Kaźmierczak J (2017) Cellularly preserved microbial fossils from ~3.4 Ga deposits of South Africa: A testimony of early appearance of oxygenic life? *Precambrian Research* 295:117–129. <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2017.04.023>
- Laflamme M, Schiffbauer JD, Narbonne GM, Briggs DEG (2011) Microbial biofilms and the preservation of the Ediacara biota: Ediacaran preservation. *Lethaia* 44:203–213. <https://doi.org/10.1111/j.1502-3931.2010.00235.x>
- Lambert J-F (2008) Adsorption and Polymerization of Amino Acids on Mineral Surfaces: A Review. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 38:211–242. <https://doi.org/10.1007/s11084-008-9128-3>
- Marteinsson VT, Kristjansson JK, Kristmannsdottir H, et al (2001) Discovery and Description of Giant Submarine Smectite Cones on the Seafloor in Eyjafjordur, Northern Iceland, and a Novel Thermal Microbial Habitat. *Applied and Environmental Microbiology* 67:827–833. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.827-833.2001>
- Meunier A (2005) *Clays*. Springer, Berlin ; New York
- Meunier A, Petit S, Cockell CS, et al (2010) The Fe-Rich Clay Microsystems in Basalt-Komatiite Lavas: Importance of Fe-Smectites for Pre-Biotic Molecule Catalysis During the Hadean Eon. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 40:253–272. <https://doi.org/10.1007/s11084-010-9205-2>
- Meunier A, Petit S, Ehlmann BL, et al (2012) Magmatic precipitation as a possible origin of Noachian clays on Mars. *Nature Geoscience* 5:739–743. <https://doi.org/10.1038/ngeo1572>
- Mojzsis SJ, Harrison TM, Pidgeon RT (2001) Oxygen-isotope evidence from ancient zircons for liquid water at the Earth's surface 4,300 Myr ago. *Nature* 409:178–181. <https://doi.org/10.1038/35051557>
- Mortland MM (1970) Clay-Organic Complexes and Interactions. In: *Advances in Agronomy*. Elsevier, pp 75–117
- Oivanen M, Kuusela S, Lönnberg H (1998) Kinetics and Mechanisms for the Cleavage and Isomerization of the Phosphodiester Bonds of RNA by Brønsted Acids and Bases. *Chem Rev* 98:961–990. <https://doi.org/10.1021/cr960425x>
- Orr PJ (1998) Cambrian Burgess Shale Animals Replicated in Clay Minerals. *Science* 281:1173–1175. <https://doi.org/10.1126/science.281.5380.1173>
- Page A, Gabbott SE, Wilby PR, Zalasiewicz JA (2008) Ubiquitous Burgess Shale-style “clay templates” in low-grade metamorphic mudrocks. *Geology* 36:855. <https://doi.org/10.1130/G24991A.1>
- Papineau D (2010) Mineral Environments on the Earliest Earth. *Elements* 6:25–30. <https://doi.org/10.2113/gselements.6.1.25>
- Pedreira-Segade U, Hao J, Razafitianamaharavo A, et al (2018) How do Nucleotides Adsorb Onto Clays? *Life* 8:59. <https://doi.org/10.3390/life8040059>

- Rahman HM, Kennedy M, Löhr S, Dewhurst DN (2017) Clay-organic association as a control on hydrocarbon generation in shale. *Organic Geochemistry* 105:42–55. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2017.01.011>
- Reinholdt M, Miehé-Brendlé J, Delmotte L, et al (2001) Fluorine Route Synthesis of Montmorillonites Containing Mg or Zn and Characterization by XRD, Thermal Analysis, MAS NMR, and EXAFS Spectroscopy. *European Journal of Inorganic Chemistry* 2001:2831–2841. [https://doi.org/10.1002/1099-0682\(200111\)2001:11<2831::AID-EJIC2831>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1099-0682(200111)2001:11<2831::AID-EJIC2831>3.0.CO;2-6)
- Rodrigues F, Georgelin T, Gabant G, et al (2019) Confinement and Time Immemorial: Prebiotic Synthesis of Nucleotides on a Porous Mineral Nanoreactor. *The Journal of Physical Chemistry Letters* 10:4192–4196. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.9b01448>
- Russell MJ, Arndt NT (2005) Geodynamic and metabolic cycles in the Hadean. 15
- Salak Asghari F, Yoshida H (2006) Acid-Catalyzed Production of 5-Hydroxymethyl Furfural from D -Fructose in Subcritical Water. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 45:2163–2173. <https://doi.org/10.1021/ie051088y>
- Schnitzer M, Kodama H (1966) Montmorillonite: Effect of pH on Its Adsorption of a Soil Humic Compound. *Science* 153:70–71. <https://doi.org/10.1126/science.153.3731.70>
- Schoonen M, Smirnov A (2016) Staging Life in an Early Warm ‘Seltzer’ Ocean. *Elements* 12:395–400. <https://doi.org/10.2113/gselements.12.6.395>
- Schoonen M, Smirnov A, Cohn C (2004) A Perspective on the Role of Minerals in Prebiotic Synthesis. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 33:539–551. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-33.8.539>
- Sevilla M, Fuertes AB (2009) Chemical and Structural Properties of Carbonaceous Products Obtained by Hydrothermal Carbonization of Saccharides. *Chemistry – A European Journal* 15:4195–4203. <https://doi.org/10.1002/chem.200802097>
- Sinag A, Kruse A, Schwarzkopf V (2003) Formation and Degradation Pathways of Intermediate Products Formed during the Hydrolysis of Glucose as a Model Substance for Wet Biomass in a Tubular Reactor. *Engineering in Life Sciences* 3:469–473. <https://doi.org/10.1002/elsc.200300054>
- Staudigel H, Chastain RA, Yayanos A, Bourcier W (1995) Biologically mediated dissolution of glass. *Chemical Geology* 126:147–154. [https://doi.org/10.1016/0009-2541\(95\)00115-X](https://doi.org/10.1016/0009-2541(95)00115-X)
- Viennet J-C, Bernard S, Le Guillou C, et al (2020) Tardi-magmatic precipitation of Martian Fe/Mg-rich clay minerals via igneous differentiation. *Geochemical Perspectives Letters* 47–52. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.2023>
- Wacey D, Saunders M, Kong C, et al (2016) 3.46 Ga Apex chert ‘microfossils’ reinterpreted as mineral artefacts produced during phyllosilicate exfoliation. *Gondwana Research* 36:296–313. <https://doi.org/10.1016/j.gr.2015.07.010>
- Wacey D, Saunders M, Roberts M, et al (2015) Enhanced cellular preservation by clay minerals in 1 billion-year-old lakes. *Scientific Reports* 4. <https://doi.org/10.1038/srep05841>
- Wu LM, Zhou CH, Keeling J, et al (2012) Towards an understanding of the role of clay minerals in crude oil formation, migration and accumulation. *Earth-Science Reviews* 115:373–386. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2012.10.001>

---

Zhang X, Briggs DEG (2007) The nature and significance of the appendages of Opabinia from the Middle Cambrian Burgess Shale: Appendages of Opabinia from the Burgess Shale. *Lethaia* 40:161–173.  
<https://doi.org/10.1111/j.1502-3931.2007.00013.x>



## **Partie 6.**

# **Conclusions et perspectives**





## I. Conclusion générale de l'étude

Les expériences réalisées au cours de cette étude mettent en évidence qu'une approche expérimentale s'avère très utile dans l'identification des premières traces de vie dans l'enregistrement fossile et dans la détermination des paramètres influençant leur transformation au cours des temps géologiques.

Ces expériences, focalisées sur l'évolution de l'ARN choisi ici comme molécule modèle du « monde à ARN » ont confirmé sa très forte dégradation en conditions hydrothermales et la perte des signatures moléculaires permettant de l'identifier facilement *a posteriori*. Il est bel et bien impossible d'espérer retrouver de l'ARN dans une roche Archéenne ou Hadéenne. Ce sont donc bien ses éventuels produits de dégradation qu'il faut apprendre à reconnaître. En l'occurrence, ces produits sont nombreux et forment des particules organiques contenant des composés présentant de nombreux hétérocycles aromatiques et des chaînes aliphatiques auxquelles s'ajoute la formation de phosphates inorganiques issus de la minéralisation des phosphodiesters. La matière organique formée est difficile à caractériser précisément et apparaît comme proche des humines des sols et donc assez peu caractéristique de l'ARN. La minéralisation des phosphates en revanche apparaît comme un élément beaucoup plus spécifique à l'ARN (ou à des molécules phosphatées proches comme l'ATP).

Nos expériences ont principalement mis en évidence le rôle déterminant des phases minérales dans l'évolution de l'ARN en contexte de diagenèse. Dans les conditions de nos expériences, la présence de silice sous différentes formes (gel, quartz ou silice vitreuse) a montré très peu d'effets sur l'évolution de la matière organique ce qui laisse penser que, contrairement à ce qui a pu être proposé dans la littérature, la silice ne favorise pas plus qu'elle n'inhibe la dégradation de l'ARN lors des toutes premières étapes de la diagenèse. En revanche, la présence de minéraux argileux exerce une influence significative sur la fossilisation de l'ARN en conduisant à la formation de résidus présentant une forte hétérogénéité organique et minérale. Cette hétérogénéité apparaît comme un marqueur important de l'interaction ARN-minéraux argileux

en conditions hydrothermales. En effet, les hypothèses mécanistiques que nous avons formulées sur la base ces expériences suggèrent que cette hétérogénéité provient des réactivités multiples de l'ARN et de sa forte teneur en hétéro-éléments favorisant une mobilité importante des cations. La présence de minéraux argileux a également eu un impact sur la signature organique des résidus notamment en augmentant nettement leur caractère aliphatique. Dans l'enregistrement fossile, un tel caractère ne peut en aucun cas constituer un indice suffisant pour remonter à une présence initiale d'ARN car il n'est pas assez spécifique. En revanche, la présence d'hydrocarbures aliphatiques dans des roches contenant des aluminosilicates peut s'expliquer par l'activité catalytique de ces derniers.

Nos expériences ont montré que la composition finale de ces résidus obtenus après diagénèse simulée pouvait être dépendante de paramètres comme la concentration initiale en ARN ou le caractère plus ou moins oxydant de l'atmosphère. Toutefois, en présence de minéraux argileux, la quantité d'eau utilisée dans le cadre de ce travail ne semble exercer qu'une faible influence. L'importance relative de certains paramètres sur la fossilisation de la matière organique peut donc être fortement modulée par la présence de certains minéraux. Cette étude aura donc permis de commencer à documenter la nature des différents produits de dégradation de l'ARN en fonction de différents paramètres et en présence de quelques phases minérales pertinentes pour l'Archéen et l'Hadéen.

Une autre des observations importantes issue de ces expériences est l'influence notable de l'ARN sur la cristallisation des phases minérales. En l'occurrence, la cinétique de cristallisation des gels de silice ou d'aluminosilicates utilisés est fortement ralentie par la présence d'ARN. L'exploration d'hypothèses mécanistiques lors de cette étude laisse supposer un rôle important des phosphates de l'ARN dans ces processus. Les conséquences de cette inhibition sur la nature finale des roches contenant les fossiles sont difficiles à prévoir sur la base d'expériences de 20 jours mais elles permettent d'envisager les assemblages minéral-matière organique comme des témoins de la présence de biomolécules, voire comme d'éventuelles biosignatures en tant que telles. En effet, nos expériences ont démontré que c'est bien la présence d'ARN qui est responsable de la formation de ces assemblages particuliers. En pratique, une roche Archéenne

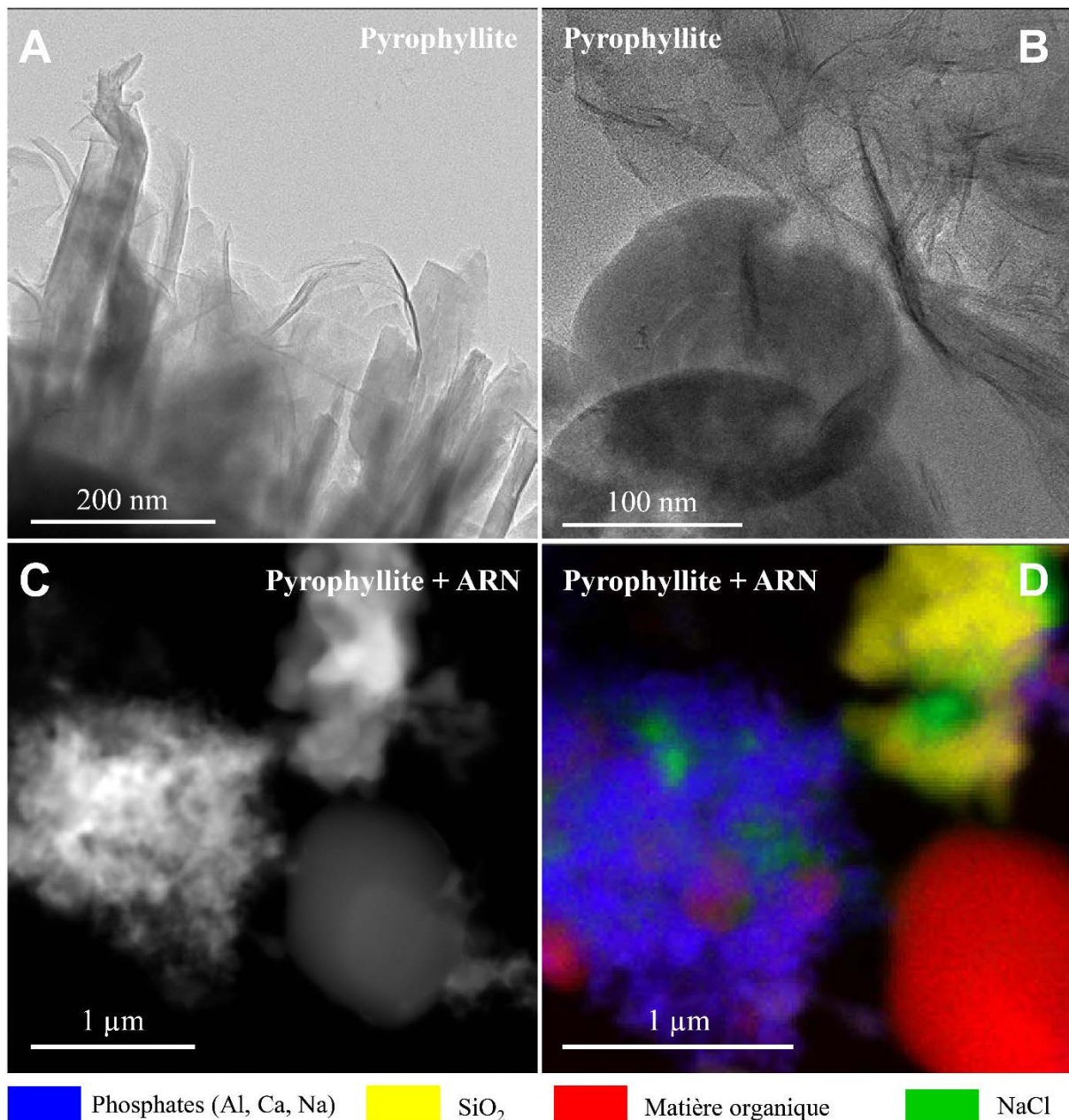
---

ou Hadéenne contenant diverses phases minérales métastables au contact de structures organiques et/ou de phosphates inorganiques semble donc, à la lumière de cette étude, susceptibles de contenir des traces de biomolécules anciennes. La détermination de la biogénicité des structures organiques dans l'enregistrement fossile ne doit donc pas consister en une analyse des seules compositions ou morphologies mais également des relations entre les phases observées, et ce à toutes les échelles. En particulier, cette étude a permis de montrer qu'une part importante des informations permettant de comprendre la nature des roches abritant d'éventuelles traces de vie primitive se situe à des échelles inférieures au micromètre. L'utilisation de techniques d'analyse spectroscopique à très haute résolution spatiale semble donc impératif dans ce contexte.

## II. Perspectives de travail

### 1. Explorer l'influence d'autres phases minérales

Les expériences réalisées au cours de cette étude ont mis en évidence le rôle déterminant des phases minérales lors des processus de fossilisation. Parmi les différents minéraux utilisés, le gel précurseur de montmorillonite a affiché la plus forte réactivité en conduisant à la formation au sein d'assemblages très hétérogènes de structures organiques au caractère très aliphatique. Les propriétés de surface du précurseur et notamment sa charge ont été invoquées pour expliquer ce résultat. Compte tenu de la diversité de propriétés de surface existant parmi les minéraux argileux, il est intéressant d'un point de vue mécanistique d'étendre notre système expérimental à d'autres minéraux argileux qui, à composition proche, présentent des propriétés de charge différentes. Pour cela, nous avons reproduit notre expérience en conditions hydrothermales (200°C, 20 jours) en remplaçant un gel précurseur de composition montmorillonite ( $\text{Ca}_{0,2}\text{Si}_4\text{Al}_{1,6}\text{Mg}_{0,4}\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ ) par un gel de composition pyrophyllite ( $\text{Al}_2(\text{Si}_4\text{O}_{10})(\text{OH})_2$ ). A l'instar du gel précurseur de montmorillonite, le gel de pyrophyllite ne cristallise pas en présence d'ARN. Il se forme également un résidu présentant une importante hétérogénéité minérale avec la formation de phosphates mixtes (Ca, Al, Mg), de la silice amorphe et du chlorure de sodium (Fig. 1). Des structures organiques sphériques d'une taille caractéristique d'environ 1  $\mu\text{m}$  ont été observées. Ces quelques données préliminaires montrent que la fossilisation de l'ARN en présence de cet autre minéral argileux produit des assemblages assez similaires à ceux observés au cours de notre étude en présence de gel de composition montmorillonite. Des données supplémentaires sur la signature moléculaire des structures organiques observées sont maintenant nécessaires pour documenter plus précisément l'effet d'une composition de type pyrophyllite et éventuellement suggérer des mécanismes d'interactions minéral-matière organique différents de ceux proposés lors de notre étude.



**Figure 1.** A. B. Images MET (champ clair) C. Image MET-STEM HAADF D. Cartographie TEM-EDS correspondant à l'image C.

Par ailleurs, il existe des minéraux argileux ferro-magnésiens dont la composition pourrait également très bien correspondre à des phases d'altération Hadéennes (Meunier et al. 2010). Une expérience similaire utilisant des gels précurseurs de nontronite peut donc également s'avérer être un complément utile.

Jusqu'à présent, nous avons considéré des minéraux argileux précurseurs de smectites c'est-à-dire des matériaux amorphes hydratés servant de modèles des premières phases d'altération et susceptibles de cristalliser en conditions hydrothermales. Cependant, des smectites déjà

cristallisées peuvent également adsorber de la matière organique et contribuer de façon importante à sa préservation (Orr 1998; Kennedy 2002; Butterfield et al. 2007; Naimark et al. 2016). Pour une stoechiométrie donnée, la comparaison entre l'effet d'un minéral argileux et celui de son gel précurseur n'a jamais été effectuée ce qui, à partir des expériences de cette étude, pourrait être réalisé en prenant de la montmorillonite cristallisée. Des expériences de fossilisation d'ARN réalisées avec une autre smectite cristallisée, la saponite, sont évoquées dans l'annexe 3.

Enfin, afin de compléter cette étude autour de l'ARN, l'utilisation d'autres minéraux courants dans les sédiments présentant un intérêt dans le contexte des traces de vie Hadéennes peut être envisagée comme par exemple des sulfates, des sulfures, des carbonates ou des oxydes. Ces minéraux possèdent en outre des propriétés redox très différentes qui pourraient conduire à des évolutions différentes de la matière organique et présentent également des porosités et des surfaces spécifiques très variables ce qui influencerait leurs propriétés catalytiques.

## **2. Simulation de diagénèse tardive et métamorphisme**

Le traitement hydrothermal employé lors de cette étude (200°C, 20 jours, pression autogène) correspond à des temps courts et à une pression basse du point de vue de la diagénèse. Il est donc surtout représentatif des premiers stades de la diagénèse. Afin de formuler des hypothèses sur la cinétique de cristallisation de ces phases en présence d'ARN, des expériences sur des temps plus longs sont nécessaires. L'obtention d'un modèle cinétique basé sur une série d'expériences de durées variées permettrait alors d'extrapoler la durée de disparition des phases amorphes et ainsi estimer la durée de vie de ces signatures particulières que constituent les assemblages matière organique-minéraux amorphes.

Certaines différences observées par rapport à des études réalisées à des pressions plus importantes (par exemple 250°C, 250 bars) et qui montrent un rôle important de la silice (Alleon et al. 2016), justifient le fait de reproduire nos expériences dans des conditions de

température et pression correspondant à des stades de diagénèse plus avancés. Une autre approche pourrait également consister à prendre comme réactifs les résidus obtenus lors de nos expériences et les exposer à des conditions de plus haute température et surtout de pression, en absence d'eau, afin de simuler plus particulièrement des conditions de diagénèse tardive ou de métamorphisme.

### 3. Cas des autres biomolécules

L'ARN a constitué notre matière organique modèle car nous nous sommes placés dans l'hypothèse du monde à ARN dans lequel les organismes les plus primitifs sont constitués d'ARN. En réalité, il est difficile de savoir à quel stade d'évolution étaient les organismes pouvant être retrouvés dans les premières roches Archéennes. En particulier, on ne sait pas si des organismes cellulaires datés d'environ 4 Ga pouvaient contenir des molécules caractéristiques du vivant actuel comme de l'ADN, des sucres ou des phospholipides. Dans tous les cas, il est nécessaire de savoir reconnaître les produits de dégradation de telles molécules. Concernant l'ADN dont la réactivité est proche de l'ARN, il est vraisemblable que les résidus formés par traitement hydrothermal de l'ADN soient très similaires aux résidus produits au cours de cette étude avec l'ARN. Toutefois, une telle expérience mérite réellement d'être menée car les éventuelles différences ouvriraient à une potentielle identification de l'émergence de l'ADN. A l'inverse, une totale similarité entre des résidus produits à partir d'ARN et d'ADN conduirait à penser qu'il serait impossible de les distinguer dans l'enregistrement fossile.

Parmi les différentes molécules qui composent le vivant, les acides nucléiques (ARN et ADN) sont les moins susceptibles d'être préservés tel quel et constituent donc des objets d'étude intéressants du point de vue de la fossilisation expérimentale dans la mesure où la diversité de produits (organiques ou inorganiques) issus de leur dégradation est importante. A l'inverse, les lipides sont les molécules les plus stables à l'échelle des temps géologiques (**Eglinton and Logan 1991; Schweitzer 2004**). Toutefois, l'effet de leur présence sur l'évolution des phases minérales

mérite d'être étudié en détail et notamment dans le cas de phospholipides car notre étude a fortement suggéré le rôle important des phosphates sur la formation des assemblages minéral-organique finaux. D'un point de vue mécanistique, le rôle précis des phosphates pourrait être éclairci en comparant les résidus obtenus avec des composés de références non-phosphatés comme des lipides simples (dans le cas des phospholipides) ou des nucléosides (dans le cas des acides nucléiques).

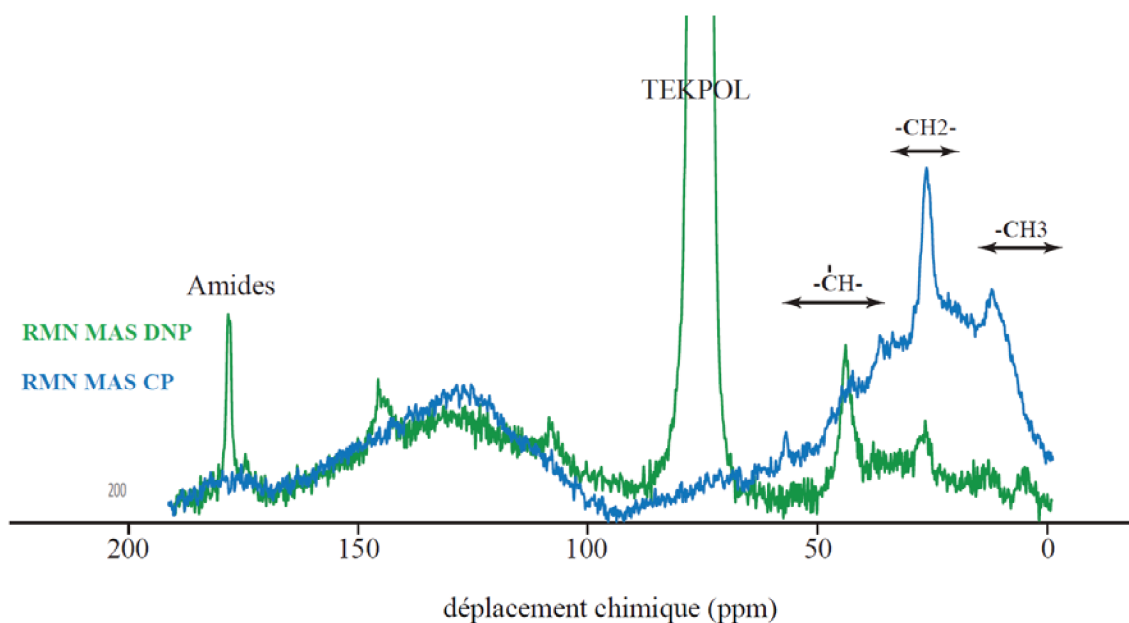
#### 4. Stratégie analytique

Parvenir à distinguer les produits de dégradation issus de différentes biomolécules suppose d'être en mesure d'analyser des mélanges organiques complexes, inconnus et souvent disponibles en assez faible quantité. L'utilisation du XANES résolu spatialement (STXM) au seuil du carbone a permis au cours de cette étude de documenter l'hétérogénéité organique des résidus avec un bon compromis entre résolution spectrale/spatiale et irradiation modérée de l'échantillon qu'il est pour l'instant impossible d'atteindre en spectroscopie EELS du carbone.

Concernant l'analyse « bulk » de l'échantillon, l'information la plus complète (squelette carboné + fonctions chimiques) atteignable en une seule technique est obtenue en RMN MAS en combinant RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (CP-MAS). Toutefois, les analyses réalisées au cours de cette étude ont montré les limites de la RMN  $^{13}\text{C}$  en polarisation croisée tant du point de vue de la largeur des pics que du rapport signal/bruit. Cette difficulté rend très difficile l'application de cette technique à des échantillons naturels présentant des quantités de carbone extrêmement faibles. Des expériences de RMN MAS en polarisation dynamique nucléaire (DNP) ont été tentées au cours de notre étude afin de trouver une solution à ce problème. Le principe de cette technique d'hyperpolarisation consiste à transférer la polarisation des électrons célibataires d'un composé radicalaire introduit au contact de l'échantillon aux atomes de  $^1\text{H}$  puis aux atomes de  $^{13}\text{C}$ . Dans le cas d'un résidu Gel Mt + ARN, l'imprégnation de l'échantillon par du TEKPOL dans le tétrachloroéthane a permis d'augmenter significativement la visibilité du pic des amides à 178 ppm (Fig. 2). En revanche, aucune amélioration n'est visible sur les autres pics et l'utilisation d'un radical organique dilué dans un solvant organique a rajouté au spectre des nouveaux pics



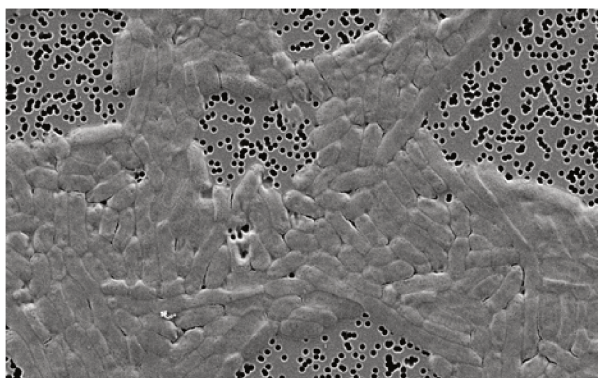
et des contributions à des pics existants. L'utilisation de cette technique suppose donc d'être capable de soustraire de façon rigoureuse le signal du radical. Enfin, l'interaction entre le radical et l'échantillon et en particulier les mécanismes de transfert de polarisation sont totalement inconnus ce qui rend difficile des interprétations quantitatives basées sur cette technique.



**Figure 2.** Comparaison des spectres RMN MAS  $^{13}\text{C}$  des résidus Gel Mt + ARN (200°C, 20 jours) obtenus en polarisation croisée (CP) ou en polarisation dynamique nucléaire (DNP).

## 5. Comparaison avec les organismes entiers

La fossilisation expérimentale de différentes biomolécules permet de mieux connaître la composition et la structure des résidus formés lors de leur fossilisation. Cependant, les organismes réels sont constitués de nombreuses molécules évoluant simultanément et interagissant entre elles au cours de la diagénèse. La situation



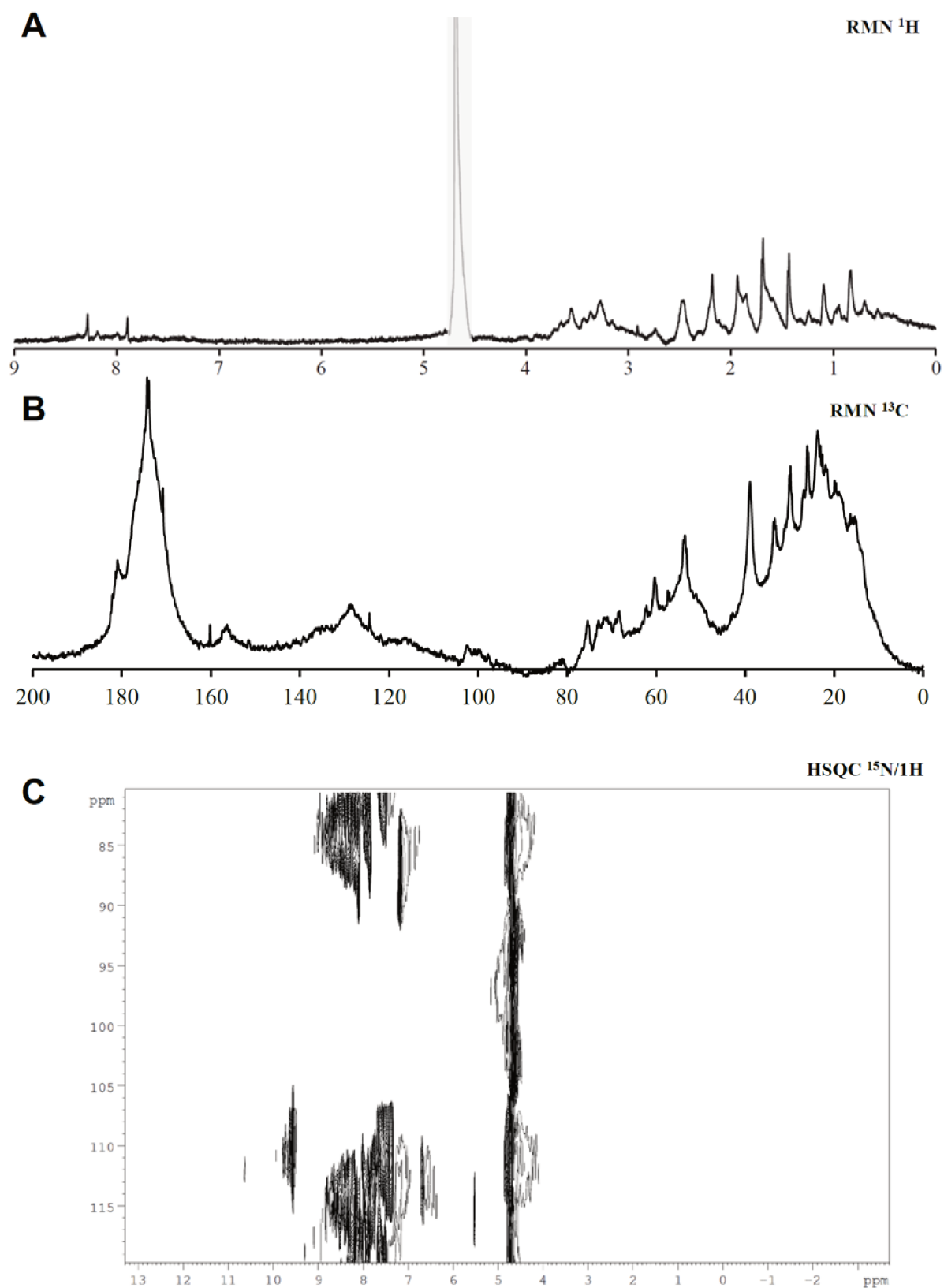
**Figure 3.** Culture de bactéries *E.Coli* 100% marquées  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  observée au MEB

s'approchant le plus de la réalité est donc la fossilisation expérimentale d'organismes entiers

présentant une composition organique réaliste pour l'Archéen. La fossilisation d'organismes entiers apparaît comme complémentaire de celle des biomolécules prises individuellement car elle permet de documenter le cas de figure où les différentes biomolécules sont en interaction entre elles dans des proportions réalistes. De cette façon, la fossilisation expérimentale de cyanobactéries ou d'euglènes par exemple a permis de mettre en évidence la cinétique très rapide des premières étapes de dégradation et la formation de résidus comportant des hétérogénéités organiques (Alleon et al. 2017). Afin de réaliser un suivi plus précis des processus de dégradation et de proposer des hypothèses mécanistiques permettant d'expliquer ces résultats, des expériences préliminaires à un nouveau protocole de fossilisation expérimentale de bactéries ont été menées. L'organisme modèle utilisé est *Escherichia Coli*, une bactérie facile à cultiver que nous considérerons comme un bon analogue des procaryotes de l'Archéen. Comme dans le reste des expériences réalisées au cours de cette étude, la fossilisation est réalisée par traitement hydrothermal. Afin de suivre l'évolution de la composition organique du résidu, un protocole consistant à réaliser des fossilisations en système fermé à haute-température/haute-pression à l'intérieur d'une sonde RMN liquide est en cours de développement à l'IMPC. L'utilisation d'organismes enrichis en  $^{13}\text{C}$  et  $^{15}\text{N}$  permet une nette augmentation de la sensibilité en RMN et autorise donc la réalisation de spectres plus rapprochés dans le temps (= meilleure résolution temporelle) ou l'acquisition de spectres bi-dimensionnels permettant une caractérisation plus fine (= meilleure résolution spectrale).

La culture des micro-organismes s'effectue dans un milieu M9 minimum dans lequel le glucose introduit est 100% marqué  $^{13}\text{C}$  et la source d'azote  $\text{NH}_4\text{Cl}$  100% marquée  $^{15}\text{N}$ . En quelques jours, une quantité importante de cellules marquées  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  peut être obtenue (Fig. 3).

Des tests préliminaires réalisés sur les bactéries vivantes marquées ont montré une augmentation spectaculaire du signal RMN  $^{13}\text{C}$ . En effet, il est possible de réaliser en quelques dizaines de minutes en détection directe (en non plus en CP) le spectre Fig. 4B dont la résolution et le rapport signal/bruit permet l'identification de la plupart des acides aminés, bases azotées et ribose présents. Dans le cas de cellules non-marquées, aucun signal n'est observé en si peu de temps en détection directe. De plus, le marquage  $^{15}\text{N}$  permet l'obtention d'un spectre  $^{15}\text{N}$  (1D



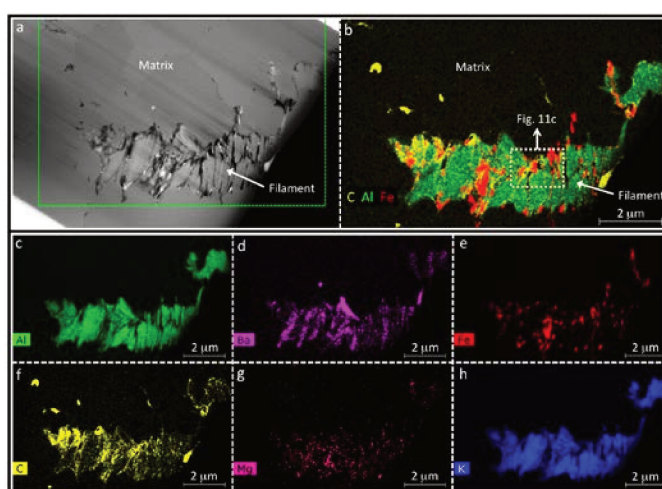
**Figure 4.** Spectres RMN (liquide) d'une culture de bactéries *E.Coli* marquées  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ . **A.** Spectre  $^1\text{H}$ . **B.** Spectre  $^{13}\text{C}$  (détection directe). **C.** Spectre 2D HSQC  $^{15}\text{N}/^1\text{H}$

ou 2D) par une détection indirecte de type HSQC (Fig. 4C). Les spectres 2D obtenus en moins d'une heure permettent la distinction facile des amides et des amines en deux régions distinctes et par la suite l'attribution des pics aux différentes biomolécules. Cette rapidité d'analyse fait de ce protocole une méthode de choix pour étudier les cinétiques de dégradation des composés organiques et tester l'influence d'un grand nombre de paramètres (température, pression, présence de phases minérales). Il peut également être envisagé pour suivre la fossilisation d'autres types d'organismes qui auraient été préalablement marqués comme des cyanobactéries, des archées ou encore des bactéries magnétotactiques.

## 6. Revenir aux échantillons naturels

Au cours de cette étude, l'analyse détaillée des résidus à toutes les échelles a permis d'identifier différentes caractéristiques d'assemblages ARN-minéraux ayant subi des processus de diagenèse. Ces résultats permettraient d'apporter un nouvel éclairage sur des échantillons naturels de l'Archéen. Ceci constitue le prolongement logique de cette étude et justifie d'ailleurs son intérêt car la fossilisation expérimentale a pour but d'aider à la compréhension et à l'interprétation de l'enregistrement fossile.

Notre étude est par exemple susceptible d'amener à la réévaluation de certains arguments utilisés dans certaines grandes controverses de l'Archéen comme celle sur les 'microfossiles' de l'Apex. En effet, comme nous l'avons détaillé partie 1 II.2, ces structures ont été retrouvées dans des cherts et sont essentiellement composées de



**Figure 5.** Cartographies MET-EDS de structures retrouvées dans les 'microfossiles' de l'Apex. D'après Wacey 2016

de phyllosilicates (une phase d'altération des cherts) contenant de faibles quantités de carbone particulaire et des particules inorganiques de taille variable et submicrométrique (Brasier et al. 2015; Wacey et al. 2016). Les auteurs de ces études ont conclu à une origine hydrothermale de ces assemblages pourtant, les expériences présentées dans cette étude (partie 5) montrent qu'il est possible de former à partir d'ARN et d'un gel précurseur de montmorillonite un assemblage comprenant des aluminosilicates, des particules organiques, des phosphates et de sphères de silice amorphe organisées selon un schéma évoquant ceux des 'microfossiles' de l'Apex (Fig. 5). La structure et la composition de ces objets ne semblent donc pas, en première analyse, incompatible avec une origine biologique. La comparaison avec les résidus expérimentaux mérite donc dans ce cas d'être poussée et en particulier en ce qui concerne les signatures moléculaires de la matière organique, où une recherche de fonctions carbonylées et une

détermination de rapports N/C pourraient être effectuées. L'utilisation d'une même technique pour l'analyse des résidus expérimentaux et des échantillons naturels est alors à privilégier et le XANES (STXM) paraît pour cela indiqué. Une méthodologie d'analyse résolue spatialement similaire à celle employée au cours de cette étude est donc particulièrement riche en enseignement pour tout 'fossile' dont la structure et la composition permettent des comparaisons avec des résidus expérimentaux.

### III. Ouverture

La connaissance des premières étapes de l'histoire du vivant demeure un immense chantier susceptible de solliciter dans les prochaines années de nombreuses études à la frontière de plusieurs champs disciplinaires et aux approches multiples. L'approche expérimentale conduite durant cette thèse a permis de fournir de précieuses informations sur les caractéristiques d'un résidu organo-minéral issu de la dégradation de l'ARN et donc de documenter les potentielles traces laissées par des formes de vie très primitive du « monde à ARN ». En parallèle, elle a aussi permis de rationaliser la méthodologie d'analyse d'échantillons naturels en mettant en évidence quel type d'information il est possible d'obtenir avec différents types d'instruments.

La compréhension des traces laissées par la dégradation de l'ARN ou plus généralement de n'importe quelle biomolécule dans une matrice minérale pourrait également être effectuée à l'aide d'une approche différente reposant sur des modélisations thermocinétiques. Ceci permettrait d'identifier les compositions minérales à l'équilibre mais également d'estimer des temps de cristallisation en introduisant des constantes cinétiques. Une telle approche permettrait en outre de quantifier les échelles de temps liés aux phénomènes d'inhibition de la cristallisation de certains silicates (mis en évidence dans cette étude). La mise en œuvre de ces calculs reposerait, dans le cas de l'étude de la fossilisation de matière biologique, sur une base de données thermocinétiques intégrant des biomolécules (ARN, protéines...) qui n'existe pas à l'heure actuelle (**Johnson et al. 1992; Richard and Helgeson 1998; Blanc et al. 2012**) et qui nécessite donc d'être créée à cette occasion. Des études ont montré que la modélisation thermocinétique couplée à des modèles de transport permet déjà d'expliquer certaines observations issues de fossiles exceptionnellement préservés (**Jauvion et al. 2020**) ou d'expliquer l'influence du vivant sur la précipitation de certains minéraux (**Gorlas et al. 2018**).

A l'issue de cette étude, l'une des principales questions qui semble avoir émergé concerne le rôle exact des phosphates dans la cristallisation des silicates. Un effet d'inhibition a en outre été

identifié et un mécanisme permettant de l'expliquer a été proposé. Toutefois, les observations uniquement qualitatives de cette étude ne permettent pas pour l'instant de quantifier l'impact que pourrait avoir la présence de phosphates sur la nature des assemblages minéraux formés au cours des processus de fossilisation et également leur impact sur la dégradation de la matière organique (**Salak Asghari and Yoshida 2006; Miot et al. 2017**). Il apparaît également que les phosphates figurent parmi les minéraux les plus caractéristiques de la dégradation de l'ARN et donc comme de bons témoins potentiels de la présence du vivant. Pourtant, bien que la phosphatisation soit un processus commun de fossilisation des organismes, peu de phosphates supposés d'origine biologique ont été rapportés dans l'enregistrement fossile Archéen (**Brasier et al. 2006**). Ce constat n'exclut pas pour autant de les utiliser comme des biosignatures et de rechercher pour cela, en s'appuyant sur des études expérimentales à la méthodologie similaire à celle-ci, les caractéristiques chimiques et structurales particulières qu'ils seraient susceptibles d'adopter s'ils sont formés par dégradation d'ARN (ou d'ADN, ATP...) au cours de la fossilisation. Cette étude a permis par exemple de mettre en évidence quelques éléments préliminaires comme des signatures particulières en RMN MAS  $^{31}\text{P}$  attribuées à des complexes de coordination en surface des aluminosilicates ou à des pyrophosphates.

D'un point de vue plus général, l'ensemble des expériences et interprétations proposées dans cette étude reposent sur des hypothèses fortes concernant la Terre à l'Hadéen et les débuts du vivant. Ces hypothèses sont incontournables dans la mesure où les débuts de l'histoire de la Terre et de la vie sont très mal connus. En particulier, d'autres théories que l'hypothèse du « monde à ARN » peuvent servir de base à des études expérimentales comme celles-ci et donneraient sans aucun doute des résultats intéressants et complémentaires. N'ayant presque aucune idée de la forme qu'a pu prendre la vie avant LUCA, il est indispensable de ne pas se restreindre à un seul modèle d'émergence du vivant mais d'étudier par exemple les traces qu'auraient pu laisser des « mondes à protéines » (**Kauffman 1986**), des « mondes Fer-Soufre » (**Wächtershäuser 1988**) voire des hypothèses plus exotiques comme les « mondes à argiles » (**Cairns-Smith 1982**).



Enfin, il existe un parallèle fort entre la recherche de traces de vie primitive sur Terre et sur Mars. En effet, si la vie a existé sur Mars, on suppose qu'elle est apparue à une période proche de l'apparition de la vie sur Terre ce qui correspond sur Mars à la période du Noachien (de -4,1 à -3,7 Ga). Ceci s'appuie sur des preuves d'existence d'eau liquide à cette période à la surface de Mars (**Grotzinger et al. 2014**). A la différence de la Terre, l'absence de tectonique des plaques sur Mars laisse entrevoir une possible préservation de structures organiques datées du Noachien dans des roches sédimentaires. Cette matière organique martienne n'est donc pas concernée par le métamorphisme mais par d'éventuelles interactions avec des fluides hydrothermaux (**Osinski et al. 2013**). L'interaction entre la matière organique et des phases d'altération comme des smectites est donc envisageable dans ce contexte (**Schwenzer and Kring 2009**) et la présence des phases minérales joue alors dans ce cas, comme nous l'avons montré dans notre étude, un rôle déterminant. Des données orbitales ont montré une large présence de ces minéraux à la surface actuelle de Mars (**Bishop et al. 2008**) ce qui constitue un élément déterminant dans le choix de sites d'atterrissage pour de futures missions martiennes dont le but est de chercher des biosignatures (**Ehlmann et al. 2008**). L'apparition de la vie sur Terre étant située aux alentours de 4 Ga, la recherche des traces des premières formes de vie sur Terre où il n'existe presque plus aucune roche datée de cette période est un défi particulièrement complexe qui pourrait à l'avenir être relevé par le retour de nombreux échantillons martiens datés du Noachien. Ces objets pourraient ainsi être étudiés en suivant la même méthodologie que les échantillons terrestres (notamment à l'aide de techniques de caractérisation à très haute-résolution comme le MET ou le synchrotron) et en s'appuyant bien-sûr sur des résultats d'expériences de fossilisation expérimentale (**Viennet et al. 2019, 2020**).

## IV. Références

- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2016) Early entombment within silica minimizes the molecular degradation of microorganisms during advanced diagenesis. *Chemical Geology* 437:98–108. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.05.034>
- Alleon J, Bernard S, Le Guillou C, et al (2017) Organic molecular heterogeneities can withstand diagenesis. *Scientific Reports* 7:. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01612-8>
- Bishop JL, Dobreá EZN, McKeown NK, et al (2008) Phyllosilicate Diversity and Past Aqueous Activity Revealed at Mawrth Vallis, Mars. *Science, New Series* 321:830–833
- Blanc Ph, Lassin A, Piantone P, et al (2012) Thermoddem: A geochemical database focused on low temperature water/rock interactions and waste materials. *Applied Geochemistry* 27:2107–2116. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2012.06.002>
- Brasier M, McLoughlin N, Green O, Wacey D (2006) A fresh look at the fossil evidence for early Archaean cellular life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361:887–902. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1835>
- Brasier MD, Antcliffe J, Saunders M, Wacey D (2015) Changing the picture of Earth's earliest fossils (3.5–1.9 Ga) with new approaches and new discoveries. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:4859–4864. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405338111>
- Butterfield NJ, Balthasar U, Wilson LA (2007) Fossil diagenesis in the burgess shale. *Palaeontology* 50:537–543. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4983.2007.00656.x>
- Cairns-Smith AG (1982) *Genetic takeover and the mineral origins of life*. Cambridge University Press, New York
- Eglinton G, Logan GA (1991) Molecular preservation. *Phil Trans R Soc Lond B* 333:315–328. <https://doi.org/10.1098/rstb.1991.0081>
- Ehlmann BL, Mustard JF, Fassett CI, et al (2008) Clay minerals in delta deposits and organic preservation potential on Mars. *Nature Geoscience* 1:355–358. <https://doi.org/10.1038/ngeo207>
- Gorlas A, Jacquemot P, Guigner J-M, et al (2018) Greigite nanocrystals produced by hyperthermophilic archaea of Thermococcales order. *PLOS ONE* 13:e0201549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201549>
- Grotzinger JP, Sumner DY, Kah LC, et al (2014) A Habitable Fluvio-Lacustrine Environment at Yellowknife Bay, Gale Crater, Mars. *Science* 343:1242777–1242777. <https://doi.org/10.1126/science.1242777>
- Jauvion C, Bernard S, Gueriau P, et al (2020) Exceptional preservation requires fast biodegradation: thylacocephalan specimens from La Voulte-sur-Rhône (Callovian, Jurassic, France). *Palaeontology* 63:395–413. <https://doi.org/10.1111/pala.12456>
- Johnson JW, Oelkers EH, Helgeson HC (1992) SUPCRT92: A software package for calculating the standard molal thermodynamic properties of minerals, gases, aqueous species, and reactions from 1 to 5000 bar and 0 to 1000°C. *Computers & Geosciences* 18:899–947. [https://doi.org/10.1016/0098-3004\(92\)90029-Q](https://doi.org/10.1016/0098-3004(92)90029-Q)
- Kauffman SA (1986) Autocatalytic sets of proteins. *Journal of Theoretical Biology* 119:1–24

- Kennedy MJ (2002) Mineral Surface Control of Organic Carbon in Black Shale. *Science* 295:657–660. <https://doi.org/10.1126/science.1066611>
- Meunier A, Petit S, Cockell CS, et al (2010) The Fe-Rich Clay Microsystems in Basalt-Komatiite Lavas: Importance of Fe-Smectites for Pre-Biotic Molecule Catalysis During the Hadean Eon. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* 40:253–272. <https://doi.org/10.1007/s11084-010-9205-2>
- Miot J, Bernard S, Bourreau M, et al (2017) Experimental maturation of Archaea encrusted by Fe-phosphates. *Scientific Reports* 7:16984. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17111-9>
- Naimark E, Kalinina M, Shokurov A, et al (2016) Decaying in different clays: implications for soft-tissue preservation. *Palaeontology* 59:583–595. <https://doi.org/10.1111/pala.12246>
- Orr PJ (1998) Cambrian Burgess Shale Animals Replicated in Clay Minerals. *Science* 281:1173–1175. <https://doi.org/10.1126/science.281.5380.1173>
- Osinski GR, Tornabene LL, Banerjee NR, et al (2013) Impact-generated hydrothermal systems on Earth and Mars. *Icarus* 224:347–363. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.08.030>
- Richard L, Helgeson HC (1998) Calculation of the thermodynamic properties at elevated temperatures and pressures of saturated and aromatic high molecular weight solid and liquid hydrocarbons in kerogen, bitumen, petroleum, and other organic matter of biogeochemical interest. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 62:3591–3636. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(97\)00345-1](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(97)00345-1)
- Salak Asghari F, Yoshida H (2006) Acid-Catalyzed Production of 5-Hydroxymethyl Furfural from D -Fructose in Subcritical Water. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 45:2163–2173. <https://doi.org/10.1021/ie051088y>
- Schweitzer M (2004) Molecular paleontology: Some current advances and problems. *Annales De Paleontologie - ANN PALEONTOL* 90:81–102. <https://doi.org/10.1016/j.annpal.2004.02.001>
- Schwenzer SP, Kring DA (2009) Impact-generated hydrothermal systems capable of forming phyllosilicates on Noachian Mars. *Geology* 37:1091–1094. <https://doi.org/10.1130/G30340A.1>
- Viennet J-C, Bernard S, Le Guillou C, et al (2019) Experimental clues for detecting biosignatures on Mars. *Geochemical Perspectives Letters* 28–33. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1931>
- Viennet J-C, Bernard S, Le Guillou C, et al (2020) Influence of the nature of the gas phase on the degradation of RNA during fossilization processes. *Applied Clay Science* 191:105616. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2020.105616>
- Wacey D, Saunders M, Kong C, et al (2016) 3.46 Ga Apex chert ‘microfossils’ reinterpreted as mineral artefacts produced during phyllosilicate exfoliation. *Gondwana Research* 36:296–313. <https://doi.org/10.1016/j.gr.2015.07.010>
- Wächtershäuser G (1988) Pyrite Formation, the First Energy Source for Life: a Hypothesis. *Systematic and Applied Microbiology* 10:207–210. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(88\)80001-8](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(88)80001-8)



## **ANNEXE 1. Communication Scientific Reports**

OPEN

# The degradation of organic compounds impacts the crystallization of clay minerals and *vice versa*

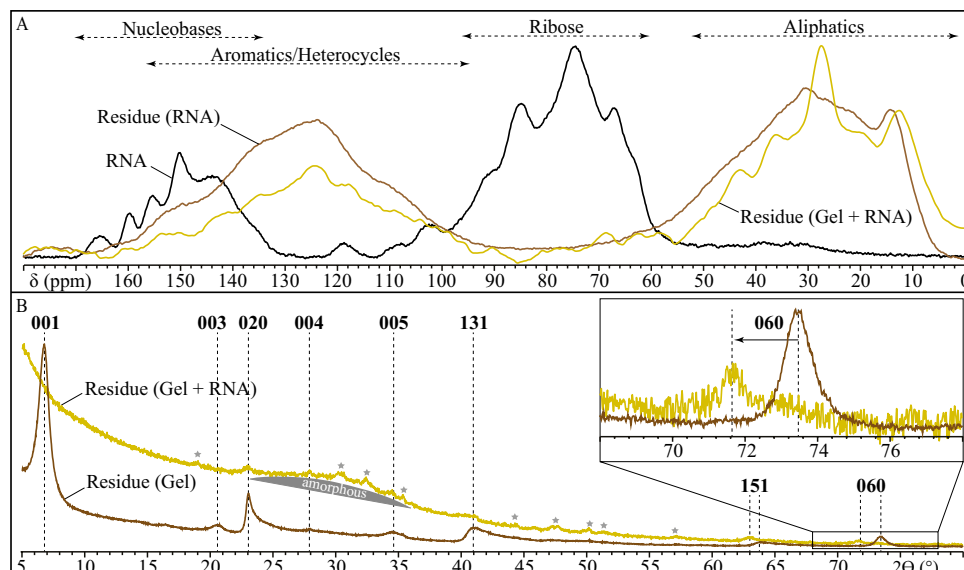
Pierre Jacquemot<sup>1,2</sup>, Jean-Christophe Viennet<sup>1,2</sup>, Sylvain Bernard<sup>1\*</sup>, Corentin Le Guillou<sup>3</sup>, Baptiste Rigaud<sup>4</sup>, Ludovic Delbes<sup>1</sup>, Thomas Georgelin<sup>5</sup> & Maguy Jaber<sup>2</sup>

Expanding our capabilities to unambiguously identify ancient traces of life in ancient rocks requires laboratory experiments to better constrain the evolution of biomolecules during advanced fossilization processes. Here, we submitted RNA to hydrothermal conditions in the presence of a gel of Al-smectite stoichiometry at 200 °C for 20 days. NMR and STXM-XANES investigations revealed that the organic fraction of the residues is no longer RNA, nor the quite homogeneous aromatic-rich residue obtained in the absence of clays, but rather consists of particles of various chemical composition including amide-rich compounds. Rather than the pure clays obtained in the absence of RNA, electron microscopy (SEM and TEM) and diffraction (XRD) data showed that the mineralogy of the experimental residues includes amorphous silica and aluminosilicates mixed together with nanoscales phosphates and clay minerals. In addition to the influence of clay minerals on the degradation of organic compounds, these results evidence the influence of the presence of organic compounds on the nature of the mineral assemblage, highlighting the importance of fine-scale mineralogical investigations when discussing the nature/origin of organo-mineral microstructures found in ancient rocks.

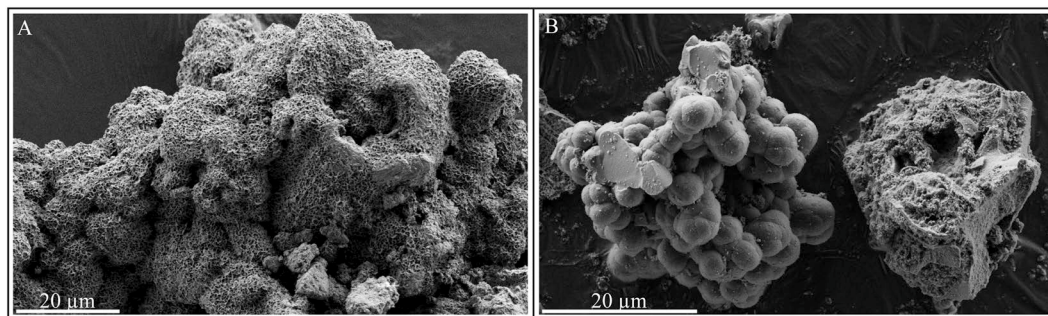
The ancient fossil record carries key information on the first steps of the history of life on Earth<sup>1–3</sup>. Yet, although ancient microfossils may still comprise (partially preserved) biogenic organic material<sup>4–10</sup>, the identification of traces of life in ancient rocks has always been fraught with difficulties pertaining to fossilization and burial-induced degradation processes<sup>11–14</sup>. As a result, the interpretation of the Archean palaeobiological record is full of controversies, among which the most famous one is centered on filamentous microstructures found in black chert veins within the 3.46 Ga Apex Basalt (Pilbara Craton, Western Australia)<sup>15,16</sup>. For more than 30 years now, these microstructures have been considered by some authors as the most ancient remains of life on Earth, based on their morphologies and isotopic signatures<sup>17,18</sup>. Yet, besides contamination issues<sup>19,20</sup>, it has recently been argued, based on nanoscale chemical imaging, that these filamentous microstructures are not microfossils (i.e. true body fossils of microorganisms), but rather abiotic stacks of clay minerals fortuitously arranged in roughly filamentous patterns and interleaved with nanoscale mineral phases and organic particles<sup>21–23</sup>.

Laboratory experiments may provide clues regarding the potential impact that hydrothermal/diagenetic processes have had on these microstructures, thereby potentially shedding new light on their origin<sup>14,24</sup>. Although pioneered experimental studies investigated the interactions between biogenic organic compounds and pure silica<sup>25–28</sup>, phosphates<sup>29–31</sup> or oxides<sup>32,33</sup>, the chemical evolution and mineralogical evolution that may undergo a mixture of reactive biomolecules (i.e. prone to degradation) and clay minerals during advanced fossilization processes remain poorly constrained. In the present study, we experimentally submitted a mixture of RNA (i.e. the most emblematic organic macromolecule of the living world and the central molecule of the ‘RNA world’ hypothesis<sup>34,35</sup>) and a gel of Al-smectite stoichiometry (i.e. a clay mineral ubiquitously distributed in the continental

<sup>1</sup>National Museum of Natural History (MNHN), Sorbonne University, CNRS, Institute of Mineralogy, Material Physics and Cosmochemistry (IMPMC – UMR 7590), F-75005, Paris, France. <sup>2</sup>Sorbonne University, CNRS, Laboratory of Molecular and Structural Archeology (LAMS – UMR 8220), F-75005, Paris, France. <sup>3</sup>Lille University, CNRS UMR 8207, UMET, F-59655, Villeneuve-d’Ascq, France. <sup>4</sup>Sorbonne University, IMPC, F-75005, Paris, France. <sup>5</sup>CNRS, Center of Molecular Biophysics, F-45071, Orléans, France. \*email: [sbernard@mnhn.fr](mailto:sbernard@mnhn.fr)



**Figure 1.** NMR and XRD characterization of the experimental residues. (A) CP MAS- $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of the residues of experiments conducted in the presence or absence of a gel of Al-smectite stoichiometry. The CP MAS- $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of RNA is also shown for comparison. (B) Powder XRD patterns of the residues of experiments conducted in the presence or absence of RNA. Values correspond to hkl reflections of clay minerals. Stars correspond to peaks attributed to phosphates.



**Figure 2.** SEM characterization of the experimental residues. (A) SEM image of the montmorillonite produced during the experiments conducted in the absence of RNA. (B) SEM image of a fraction of the residues of experiments conducted in the presence of RNA, showing a cluster/pile of carbon-free micrometric spheres of pure amorphous silica (left) and a pluri-decimimetric heterogeneous aggregate (right).

crust<sup>36</sup>) to experimental hydrothermal conditions at 200 °C for 20 days within initially pure water. Additional experiments were conducted in the absence of the gel or in the absence of RNA to serve as controls.

## Results and Discussion

Results evidence that RNA underwent significant transformations during the experiments (Fig. 1A). While the CP MAS-NMR signature of RNA is dominated by the signals of ribose (signal between 60 and 105 ppm) and nucleobases (signal between 140 and 170 ppm), the CP MAS-NMR signatures of the residues of experiments conducted either in the presence or absence of a gel of Al-smectite stoichiometry are dominated by aromatic/heterocyclic and aliphatic carbons (signals between 100 and 150 ppm and between 55 and 70 ppm, respectively). In absence of RNA, the gel of Al-smectite stoichiometry evolved into a crystallized montmorillonite<sup>36</sup> (Figs. 1B and 2A). In contrast, only a small amount of crystalline phyllosilicates is detected together with mainly amorphous phases in residues of experiments conducted in the presence of RNA (Fig. 1B). Surprisingly, the phyllosilicate that crystallizes is not montmorillonite: instead of exhibiting the 060 reflection of dioctahedral montmorillonite at 1.498 Å, this phase exhibits a 060 reflection at 1.532 Å, i.e. a value more typical of 2:1 trioctahedral Mg-rich smectites<sup>36</sup> (Fig. 1B).

SEM investigations reveal that, rather than pure clay minerals (Fig. 2A), the presence of RNA leads to complex organo-mineral residues composed of (i) clusters of carbon-free micrometric spheres of pure amorphous silica, and (ii) heterogeneous aluminosilicate-rich aggregates containing Al, Mg, P, C and N in addition to Si (Fig. 2B). The heterogeneous nature of these aggregates is highlighted at the sub-micrometer scale by TEM imaging and

EDX mapping of cryo-ultramicrotome sections (Fig. 3A–D): these aggregates are composed of submicrometric particles of more or less N-rich amorphous aluminosilicates and (Ca,Mg)-phosphates associated with relatively rare Mg-smectites that appear to be in close association with organic carbon (Fig. 3C). This organic material might be either adsorbed onto or bonded to surfaces (lateral or basal) of these Mg-smectites or trapped within their interlayer spaces<sup>37</sup>.

Organic carbon also occurs within these residues as submicrometric particles of various chemical compositions as indicated by STXM-based XANES spectroscopy (Fig. 3E): (i) aromatic-rich organic particles (N/C ~ 0.15) containing a significant proportion of conjugated cycles and heterocycles (peaks at 285, 285.4 & 285.9 eV, respectively) and traces of carboxylics (peak at 288.4 eV), and (ii) N-rich organic particles (N/C ~ 1) dominated by amide and hydroxyl groups (absorption peaks at 288.2 & 289.5 eV, respectively). These N-rich organic particles are absent from the residues of experiments conducted in the absence of the gel of Al-smectite stoichiometry. In fact, these very homogeneous residues (N/C ~ 0.15) exhibit a XANES spectrum very similar to that of the heterocyclic, (poly)aromatic organic particles.

Although the information related to the original chemical structure of RNA was lost during the experiments, amide-rich organic compounds were produced in experiments conducted in the presence of a gel of Al-smectite stoichiometry. Similar compounds have been reported within ancient microfossils and interpreted as products of the degradation of peptidic compounds<sup>6,8</sup>. This is not the case here as RNA does not contain peptidic moieties but rather conjugated cyclic amides. Such preservation of amide moieties occurred only in the presence of the gel of Al-smectite stoichiometry, suggesting that the presence of this initially amorphous inorganic phase limited the molecular degradation of RNA, consistently with results of experiments conducted with silica<sup>27</sup>.

In addition to the influence of a mineral phase on the degradation of organic compounds, the present results evidence the influence of the presence of organic compounds on the final mineral assemblage. Instead of pure clay minerals as in the absence of RNA, the residues of experiments conducted in the presence of RNA comprise amorphous silica, aluminosilicates and nanophosphates associated with rare nanoscale clay minerals. As illustrated here, although in some cases the presence and the nature of organic materials composing ancient putative microfossils may not be informative enough to discuss their possible biogenicity, the nature of the organo-mineral assemblage may be quite rich in information. Although additional experiments would be required to properly constrain the origin of the Apex microstructures, the present study highlights the importance fine-scale mineralogical investigations, as suggested earlier<sup>21–23</sup>, when discussing the nature/origin of organo-mineral microstructures found in ancient rocks.

## Materials and Methods

**Starting materials.** Pure powders of yeast RNA (SIGMA-ALDRICH) and a hydrogel of Al-smectite stoichiometry synthesized in the lab were used for the present experiments. The hydrogel was obtained by adding 25.1 mL of a solution of aluminium nitrate (81.2 g/L) and 4.01 mL of a solution of magnesium nitrate (100.45 g/L) into a 15 mL solution of ethanol containing 0.1 mol of TEOS (tetraethylorthosilicate) and 0.005 mol of CaCO<sub>3</sub>. An ammoniacal solution (33%) was then added until gelification. The gel was stored 1 night at room temperature and heated 1 day at 200 °C and 1 day at 650 °C.

**Fossilization experiments.** Experiments were conducted in 25 mL PARR Reactors under hydrothermal conditions using 50 mg of RNA, 100 mg of the gel of Al-smectite stoichiometry and 5 mL of water. The Ti reactor were placed at 200 °C for 20 days before being cooled at room temperature. Residues were dried overnight at 60 °C. Additional experiments were also conducted with either no mineral or no RNA to serve as controls. For TEM and STXM measurements, residues were washed 3 times with water and dichloromethane/methanol (1:1) to remove the soluble organic fraction. All experiments were triplicated to ensure reproducibility.

**X-Ray diffraction.** X-Ray diffraction patterns were acquired using a PANALYTICAL X'PERT PRO diffractometer (IMPMC, Paris) operating at 40 kV and 40 mA with a Co anode (K $\alpha$  at 1.79 Å). Analyses were performed on finely ground powders deposited on a silicium sample holder. The angular range in 2 $\theta$  was 5–80° with a step size of 0.017° for a total counting time per sample of 2 hours.

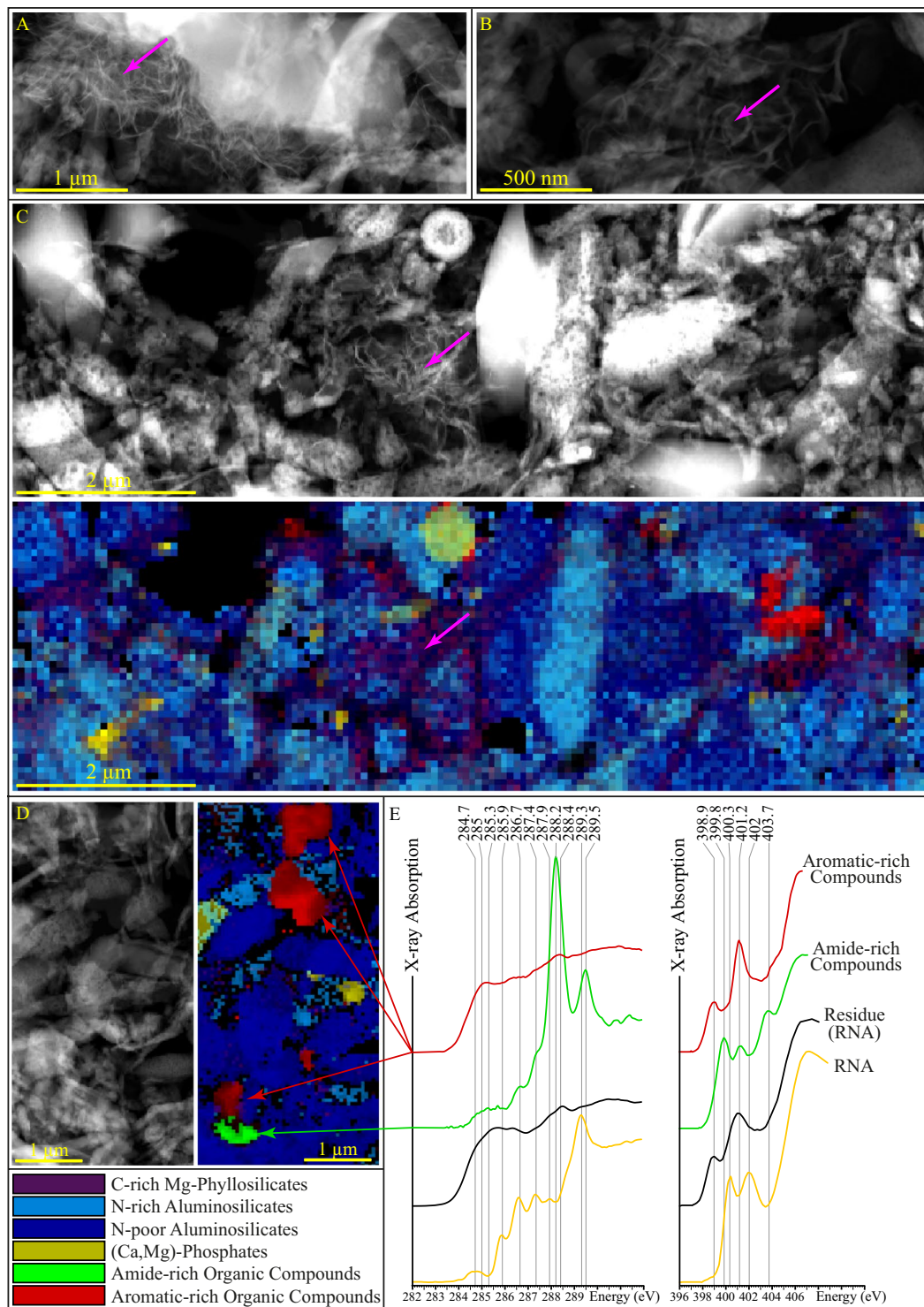
**Scanning electron microscopy.** SEM investigations were performed on powders deposited on carbon tape using SEM-FEG ZEISS ULTRA 55 (IMPMC, Paris).

**CP MAS-<sup>13</sup>C-NMR.** Cross polarization (CP) <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance (<sup>13</sup>C-NMR) experiments were performed with a magic-angle spinning (MAS) probe 1 H/X at 14000 kHz in a BRUCKER AVANCE 3 500 MHz (IMPC, Paris) operating at 125.77 MHz. Samples were sealed in a 4.0 mm zircon rotor. Chemical shifts were calibrated using the carboxyl signal of adamantane (38.52 ppm). The <sup>13</sup>C Cross-Polarization spectra were acquired with a ramp-CP contact time of 1 ms and a 1.5 s of recycle delay.

**Sample preparation for TEM and STXM.** Cryo-ultramicrotome sections were prepared for STXM and TEM characterization using the LEICA ultramicrotome available at UMET (Lille, France). Experimental residues were mixed with 0.1 ml of water-ethanol (50/50%<sub>vol</sub>) before being frozen in liquid nitrogen at –160 °C. After cutting, the ultrathin slices of residues were deposited on holey carbon film TEM grids before being exposed to ambient temperature.

**Transmission electron microscopy.** Scanning transmission electron microscopy (STEM) and EDS mapping were performed using a THERMOFISHER TITAN THEMIS 300 microscope operated at 300 kV (CCM – Lille). Hyperspectral EDS data were obtained using the super-X detector system equipped with four windowless silicon





**Figure 3.** STEM and STXM characterization of the experimental residues. (A–D) STEM-HAADF images of fractions of the residues of experiments conducted in the presence of RNA and corresponding maps (C,D). Clay minerals more or less associated with organic carbon are clearly visible (pink arrows). (E) XANES spectra at the C and N K-edges of organic compounds encountered in the residues. At the C K-edge, energy values (in eV) correspond to typical absorptions of quinones or conjugated cyclic amides (284.7), alkenes and aromatics (285.0), conjugated cycles (285.3), heterocycles (285.9), imines and nitriles (286.7), phenols and ketones (286.7/287.4), aliphatics (287.9), amides (288.2), carboxylics (288.4) and hydroxyls (289.3/289.5)<sup>42,44</sup>. Due to overlapping energies of several resonances, absorption peaks at the N K-edge cannot be univocally assigned to given functional groups, but absorption features below 400 eV generally indicate the presence of imine, nitrile and pyridinic N while absorption features above 400 eV generally indicate the presence of amide, nitro and pyrrolic N<sup>44,45</sup>. The spectra of RNA and of the residue of the experiments conducted in the absence of the gel of Al-smectite stoichiometry are shown for comparison.

drift detectors. These detectors have a high sensitivity for light elements and allow a high counting rate of the carbon, nitrogen and oxygen X-rays. The probe current was set at 600 pA with a dwell time at 10  $\mu$ s per pixel. A key aspect of this work is the post-processing of the hyperspectral data, performed using the HYPERSPY python-based package<sup>38</sup>. The signal was first denoised using principal component analysis. Then, the EDS spectra at each pixel were fitted by a series of Gaussian functions and a physical model for background/bremsstrahlung. The integrated intensities of the Gaussian functions were used to quantify the compositions thanks to the Cliff-Lorimer method, using experimentally determined k-factors. Absorption correction was taken into account using an experimental thickness map obtained by integration of plasmon absorption bands in EELS. This step was mandatory to correct for the re-absorption within the sample of the carbon, nitrogen and oxygen X-rays. Finally, end-member phases (smectites, phosphates, amorphous silica, organic compounds) were identified and their spectra used as inputs for linear combination fitting (multiple linear least square fits). Pixels of similar composition were given the same colors scaled as a function of the proportion of each phase.

**Scanning transmission X-ray microscopy.** STXM/XANES investigations were conducted using the HERMES STXM beamline<sup>39,40</sup> at the synchrotron SOLEIL (Gif-sur-Yvette, France). Carbon contamination on beamline optics is constantly removed thanks to a continuous flow of pure O<sub>2</sub>. The well-resolved 3p Rydberg peak of gaseous CO<sub>2</sub> at 294.96 eV and the 1s  $\rightarrow$   $\pi^*$  photoabsorption resonance of gaseous N<sub>2</sub> at 400.89 eV were used for energy calibration. Collecting image stacks at energy increments of 0.1 eV with a dwell time of  $\leq$  1 ms per pixel prevented irradiation damage<sup>41</sup>. The C- and N-XANES spectra shown here were normalized to the carbon and nitrogen quantities using QUANTORXS<sup>42</sup>. N/C values were estimated at  $\pm$  0.02<sup>43</sup> using QUANTORXS<sup>42</sup>.

Received: 19 September 2019; Accepted: 28 November 2019;

Published online: 27 December 2019

## References

- Summons, R. E. & Hallmann, C. Organic Geochemical Signatures of Early Life on Earth. In *Treatise on Geochemistry* 33–46, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095975-7.01005-6> (Elsevier, 2014).
- Briggs, D. E. G. & Summons, R. E. Ancient biomolecules: Their origins, fossilization, and role in revealing the history of life: Prospects & Overviews. *BioEssays* **36**, 482–490 (2014).
- Knoll, A. H., Bergmann, K. D. & Strauss, J. V. Life: the first two billion years. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **371**, 20150493 (2016).
- Bernard, S. *et al.* Exceptional preservation of fossil plant spores in high-pressure metamorphic rocks. *Earth and Planetary Science Letters* **262**, 257–272 (2007).
- Galvez, M. E. *et al.* Morphological preservation of carbonaceous plant fossils in blueschist metamorphic rocks from New Zealand: Fossil preservation in metamorphic rocks. *Geobiology* **10**, 118–129 (2012).
- Alleon, J. *et al.* Molecular preservation of 1.88 Ga Gunflint organic microfossils as a function of temperature and mineralogy. *Nature Communications* **7**, 11977 (2016).
- Delarue, F. *et al.* Investigation of the Geochemical Preservation of *ca.* 3.0 Ga Permineralized and Encapsulated Microfossils by Nanoscale Secondary Ion Mass Spectrometry. *Astrobiology* **17**, 1192–1202 (2017).
- Alleon, J. *et al.* Chemical nature of the 3.4 Ga Strelley Pool microfossils. *Geochemical Perspectives Letters* 37–42, <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1817> (2018).
- Delarue, F. *et al.* Nitrogen isotope signatures of microfossils suggest aerobic metabolism 3.0 Gyr ago. *Geochemical Perspectives Letters* 32–36, <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1816> (2018).
- Delarue, F. *et al.* Out of rock: A new look at the morphological and geochemical preservation of microfossils from the 3.46 Gyr-old Strelley Pool Formation. *Precambrian Research* **336**, 105472 (2020).
- Schopf, J. W. Precambrian Paleobiology: Problems and Perspectives. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* **3**, 213–249 (1975).
- Schiffbauer, J. D. *et al.* Ultrastructural and Geochemical Characterization of Archean–Paleoproterozoic Graphite Particles: Implications for Recognizing Traces of Life in Highly Metamorphosed Rocks. *Astrobiology* **7**, 684–704 (2007).
- Bernard, S. & Papineau, D. Graphitic Carbons and Biosignatures. *Elements* **10**, 435–440 (2014).
- Javaux, E. J. Challenges in evidencing the earliest traces of life. *Nature* **572**, 451–460 (2019).
- Awramik, S. M., Schopf, J. W. & Walter, M. R. Filamentous fossil bacteria from the Archean of Western Australia. *Precambrian Research* **20**, 357–374 (1983).
- Schopf, J. & Packer, B. Early Archean (3.3-billion to 3.5-billion-year-old) microfossils from Warrawoona Group, Australia. *Science* **237**, 70–73 (1987).
- Schopf, J. W. & Kudryavtsev, A. B. Biogenicity of Earth's earliest fossils: A resolution of the controversy. *Gondwana Research* **22**, 761–771 (2012).
- Schopf, J. W., Kitajima, K., Spicuzza, M. J., Kudryavtsev, A. B. & Valley, J. W. SIMS analyses of the oldest known assemblage of microfossils document their taxon-correlated carbon isotope compositions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, 53–58 (2018).
- Westall, F. Stephen Jay Gould, les procaryotes et leur évolution dans le contexte géologique. *Comptes Rendus Palevol* **2**, 485–501 (2003).
- Westall, F. Early Life on Earth: The Ancient Fossil Record. In *Astrobiology: Future Perspectives* (eds Ehrenfreund, P. *et al.*) 287–316, [https://doi.org/10.1007/1-4020-2305-7\\_12](https://doi.org/10.1007/1-4020-2305-7_12), (Springer Netherlands, 2005).
- Brasier, M. D., Antcliffe, J., Saunders, M. & Wacey, D. Changing the picture of Earth's earliest fossils (3.5–1.9 Ga) with new approaches and new discoveries. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**, 4859–4864 (2015).
- Wacey, D., Saunders, M., Kong, C., Brasier, A. & Brasier, M. 3.46 Ga Apex chert 'microfossils' reinterpreted as mineral artefacts produced during phyllosilicate exfoliation. *Gondwana Research* **36**, 296–313 (2016).
- Wacey, D., Eiloart, K. & Saunders, M. Comparative multi-scale analysis of filamentous microfossils from the c. 850 Ma Bitter Springs Group and filaments from the c. 3460 Ma Apex chert. *Journal of the Geological Society* jgs2019–053, <https://doi.org/10.1144/jgs2019-053> (2019).
- Alleon, J. & Summons, R. E. Organic geochemical approaches to understanding early life. *Free Radical Biology and Medicine* **140**, 103–112 (2019).
- Oehler, J. H. & Schopf, J. W. Artificial Microfossils: Experimental Studies of Permineralization of Blue-Green Algae in Silica. *Science* **174**, 1229–1231 (1971).
- Orange, F. *et al.* Preservation and Evolution of Organic Matter During Experimental Fossilisation of the Hyperthermophilic Archaea *Methanocaldococcus jannaschii*. *Origins of Life and Evolution of Biospheres* **42**, 587–609 (2012).

27. Alleon, J. *et al.* Early entombment within silica minimizes the molecular degradation of microorganisms during advanced diagenesis. *Chemical Geology* **437**, 98–108 (2016).
28. Iqisu, M. *et al.* Changes of aliphatic C-H bonds in cyanobacteria during experimental thermal maturation in the presence or absence of silica as evaluated by FTIR microspectroscopy. *Geobiology* **16**, 412–428 (2018).
29. Li, J., Benzerara, K., Bernard, S. & Beyssac, O. The link between biomineralization and fossilization of bacteria: Insights from field and experimental studies. *Chemical Geology* **359**, 49–69 (2013).
30. Li, J. *et al.* Impact of biomineralization on the preservation of microorganisms during fossilization: An experimental perspective. *Earth and Planetary Science Letters* **400**, 113–122 (2014).
31. Miot, J., Bernard, S., Bourreau, M., Guyot, F. & Kish, A. Experimental maturation of Archaea encrusted by Fe-phosphates. *Scientific Reports* **7** (2017).
32. Picard, A., Kappler, A., Schmid, G., Quaroni, L. & Obst, M. Experimental diagenesis of organo-mineral structures formed by microaerophilic Fe(II)-oxidizing bacteria. *Nature Communications* **6**, 6277 (2015).
33. Picard, A., Obst, M., Schmid, G., Zeitvogel, F. & Kappler, A. Limited influence of Si on the preservation of Fe mineral-encrusted microbial cells during experimental diagenesis. *Geobiology* **14**, 276–292 (2016).
34. Orgel, L. E. The origin of life—a review of facts and speculations. *Trends Biochem. Sci.* **23**, 491–495 (1998).
35. Higgs, P. G. & Lehman, N. The RNA World: molecular cooperation at the origins of life. *Nature Reviews Genetics* **16**, 7–17 (2015).
36. Meunier, A. *Clays*. (Springer Science & Business Media, 2005).
37. Lagaly, G., Ogawa, M. & Dékány, I. Clay Mineral–Organic Interactions. In *Developments in Clay Science* vol. 5 435–505 (Elsevier, 2013).
38. de la Pena, F. *et al.* Electron Microscopy (Big and Small) Data Analysis With the Open Source Software Package HyperSpy. *Microscopy and Microanalysis* **23**, 214–215 (2017).
39. Belkhou, R. *et al.* HERMES: a soft X-ray beamline dedicated to X-ray microscopy. *Journal of Synchrotron Radiation* **22**, 968–979 (2015).
40. Swaraj, S. *et al.* Performance of the HERMES beamline at the carbon K-edge. *Journal of Physics: Conference Series* **849**, 012046 (2017).
41. Wang, J. *et al.* Radiation damage in soft X-ray microscopy. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* **170**, 25–36 (2009).
42. Le Guillou, C., Bernard, S., De la Pena, F. & Le Brech, Y. XANES-Based Quantification of Carbon Functional Group Concentrations. *Analytical Chemistry* **90**, 8379–8386 (2018).
43. Alleon, J., Bernard, S., Remusat, L. & Robert, F. Estimation of nitrogen-to-carbon ratios of organics and carbon materials at the submicrometer scale. *Carbon* **84**, 290–298 (2015).
44. Alleon, J. *et al.* Organic molecular heterogeneities can withstand diagenesis. *Scientific Reports* **7**: 1508, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01612-8> (2017).
45. Leinweber, P. *et al.* Nitrogen K-edge XANES – an overview of reference compounds used to identify ‘unknown’ organic nitrogen in environmental samples. *Journal of Synchrotron Radiation* **14**, 500–511 (2007).

## Acknowledgements

We gratefully acknowledge financial support from OPUS, from the DIM-MAP (project FossilEx [PI: M. Jaber] and BombEx [PI: J.C. Viennet]) and Sorbonne Université (Project MarsAtLab [PI: S. Bernard]). The TEM facility in Lille (France) is supported by the Conseil Régional du Nord-Pas de Calais, and the European Regional Development Fund (ERDF). Special thanks go to Stefan Stanescu and Sufal Swaraj for their expert support with the HERMES STXM beamline at SOLEIL, and to Anne-Marie Blanchenet for her help during the Cryo-ultramicrotome sections preparations. The HERMES beamline (SOLEIL) is supported by the CNRS, the CEA, the Region Ile de France, the Departmental Council of Essonne and the Region Centre.

## Author contributions

S.B. and M.J. designed the present study. P.J. and J.C.V. conducted the fossilization experiments. P.J., J.C.V. and L.D. performed the XRD analyses. P.J., M.J. and B.R. performed the NMR analyses. P.J. performed the MEB analyses. P.J., J.C.V. and C.L.G. prepared the cryo-ultramicrotome sections. P.J. and C.L.G. performed the TEM analyses. P.J., J.C.V., S.B. and C.L.G. performed the STXM analyses. All authors contributed to the interpretation of the data and discussed their implications. P.J., S.B. and M.J. wrote the manuscript, with critical inputs from all authors.

## Competing interests

The authors declare no competing interests.

## Additional information

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to S.B.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2019



**ANNEXE 2. Article en révision à**  
***Geochemical Perspectives Letters***

# 1            **Abiotic formation of organic biomorphs under diagenetic conditions**

2                            I. Criouet<sup>1</sup>, J.C. Viennet<sup>1</sup>, P. Jacquemot<sup>1,2</sup>, M. Jaber<sup>2</sup>, S. Bernard<sup>1</sup>

3  
4  
5            <sup>1</sup>*Muséum National d'Histoire Naturelle, Sorbonne Université, CNRS, UMR 7590, Institut de*  
6            *Minéralogie, Physique des Matériaux et Cosmochimie, Paris, France.*

7            <sup>2</sup>*Laboratoire d'Archéologie Moléculaire et Structurale, CNRS UMR 8220, Institut des Matériaux de*  
8            *Paris, Sorbonne Université, F-75005, Paris, France.*  
9

## 10 11            **Abstract**

12            **The most ancient fossil record contains fundamentally important information on both the**  
13            **diversity and disparity of ancient life. Yet this ancient record is not that easy to decode, difficulties**  
14            **mainly pertaining to the impact of the geological history. The convergence of multiple lines of**  
15            **evidence is seen as necessary to build a robust demonstration of the biogenicity of putative traces**  
16            **of life. Here we experimentally show that abiotic organic cell-like microstructures meeting all the**  
17            **criteria of biogenicity may form in cherts under classical conditions of diagenesis. These organic**  
18            **biomorphs produced from a mixture of RNA and quartz exposed to temperature and pressure**  
19            **conditions in presence of water exhibit morphological, chemical and isotopic signatures typical of**  
20            **fossil microorganisms. The results of this study exemplify the pitfalls that Archean paleontologists**  
21            **may encounter when searching for traces of life in ancient rocks.**

## 22 23 24            **Main Text**

25            We still do not know when, where and how life started to exist on Earth. The fossil record is the unique  
26            source of direct information about past life and as such may provide answers. Yet, paleontology relies  
27            on imperfect, degraded signals, the interpretation of which being, by nature, subject to controversy. This  
28            is even worse when dealing with ancient rocks that underwent a complex geological history having  
29            caused the degradation of biomolecules and the generation of abiotic compounds masquerading as  
30            degraded biogenic remains (Brasier *et al.*, 2006; Javaux, 2019). As a result, the search for the most  
31            ancient traces of life on Earth has been fraught with controversies and no absolute proof of life having  
32            existed prior to 3 Ga ago has been reported so far (Schopf, 1975; Javaux, 2019).

33  
34            A main difficulty is the lack of a univocal criterion to rely on when discussing the biogenicity of putative  
35            remains of life in ancient rocks: neither the carbon isotopic compositions nor the morphologies should  
36            be seen as unambiguous biosignatures (Craig, 1954; Horita, 2005; Cosmidis and Templeton, 2016;  
37            Garcia-Ruiz *et al.*, 2020). The most memorable and impactful illustration of this issue was undoubtedly  
38            the study of Garcia-Ruiz *et al.* (2003), who experimentally grew mineral biomorphs in alkaline silica-  
39            rich environments. Such self-assembly processes may lead to the precipitation of hierarchically  
40            assembled multiscale microstructures with high levels of complexity (Garcia-Ruiz *et al.*, 2009;  
41            Noorduyn *et al.*, 2013; Rouillard *et al.*, 2018). Calling for an even stronger caution when relying on  
42            morphologies are the carbon-sulfur biomorphs recently produced by Cosmidis and Templeton (2016).

43  
44            Chemical information may help to identify remains of life (Benzerara *et al.*, 2006; Bernard *et al.*, 2007;  
45            Alleen *et al.*, 2018; Loron *et al.*, 2019), but abiotic processes may lead to the formation of disordered



46 carbonaceous materials difficult to distinguish from biogenic ones (Pasteris and Wopenka, 2003; De  
47 Gregorio *et al.*, 2011). Collectively, because none of the criteria commonly used to discuss biogenicity  
48 is sufficient in itself, many authors have emphasized the need for gathering multiple lines of evidence  
49 to convincingly demonstrate the biological origin of any putative remain of life in ancient cherts (*e.g.*,  
50 Westall, 2005; Wacey, 2009; Bernard and Papineau, 2014; Javaux, 2019). Yet, as illustrated by the  
51 present study, purely abiotic microstructures may fulfill not only a couple but many (if not all) the  
52 commonly used criteria of biogenicity, even the most conservative ones.

53  
54 Here, we exposed RNA (*i.e.* the most emblematic organic molecule of the prebiotic RNA World - Higgs  
55 and Lehman, 2015) to thermal conditions typical of diagenesis (200°C) in the presence of quartz (*i.e.*  
56 the main mineral phase of Archean cherts - Perry and Lefcariu, 2007), within pure bi-distilled water  
57 and under an Argon atmosphere for 20 days. We conducted additional experiments under the same  
58 conditions with RNA in the absence of quartz and with quartz in the absence of RNA to serve as  
59 controls. The water-insoluble experimental residues were characterized using X-ray diffraction (XRD),  
60 isotopic ratio mass spectrometry (IRMS) and advanced microscopy and spectroscopy tools including  
61 scanning electron microscopy (SEM) and nuclear magnetic resonance (NMR), Fourier-transform  
62 infrared (FTIR) and X-ray absorption near edge structure (XANES) spectroscopies.

63  
64 Quartz did not suffer that much under the experimental conditions. The main peaks of the XRD pattern  
65 of the experimental residue are those of quartz alpha (*i.e.*, 4.47 Å (100), 3.40 Å (101) and 2.57 Å (110)  
66 – Fig. 1a). Likewise, the FTIR spectrum of the residue exhibits absorption bands typical of quartz alpha  
67 (Fig. 1b): Si-O-Si and Si-O bending vibrations at 455 cm<sup>-1</sup>, 514 cm<sup>-1</sup> and 694 cm<sup>-1</sup>, Si-O stretching  
68 vibrations at 775 and 794 cm<sup>-1</sup> and Si-O-Si stretching vibrations at 1052 and 1160 cm<sup>-1</sup> (Anbalagan *et*  
69 *al.*, 2010). Nevertheless, SEM images reveal the presence of dissolution pits at the surface of quartz  
70 grains, indicating that a certain fraction of quartz dissolved during the experiment (Fig. 2a).

71  
72 Most important, SEM images show the presence, at the surface of the quartz grains, of newly formed  
73 spheroidal microstructures and resembling micro-organisms such as *Thermococcales* or *Staphylococcus*  
74 (Fig. 2). Distributed as clusters, these spheroidal biomorphs exhibit a rather restricted range of diameters  
75 of about 1 to 5 µm (Fig. 2). Most display ornamental features onto their surface and many are connected  
76 together, as if they were microbes encompassing cell-division (Fig. 2). These spheroidal biomorphs are  
77 made of organic matter having N/C values of 0.1 according to bulk elemental analyses (*vs* 0.4 for RNA),  
78 δ<sup>13</sup>C values of -19.35 ± 0.04 ‰ (*vs* -22.62 ± 0.04 ‰ for RNA) and δ<sup>15</sup>N values of -9.95 ± 0.09 ‰ (*vs* -  
79 12.11‰ ± 0.09 ‰ for RNA).

80  
81 While the NMR spectrum of RNA is dominated by the signals of ribose (between 60 and 105 ppm) and  
82 nucleobases (between 140 and 170 ppm), the NMR spectrum of these spheroidal biomorphs indicate  
83 the presence of aliphatic, aromatic and heterocyclic carbons (signals from 0 to 50 ppm, 100 to 130, and  
84 130 to 150 ppm respectively) and amide and ketone groups (features at ~170 and 200 ppm) (Fig. 3 -  
85 Jacquemot *et al.*, 2019). This is confirmed by the FTIR spectrum showing C-H bending vibrations at  
86 1367 cm<sup>-1</sup>, aromatic C=C stretching vibrations at 1442 cm<sup>-1</sup> and CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub> stretching vibrations from  
87 2850 to 2980 cm<sup>-1</sup> (Fig. 3). The additional features at 1594 and 1675 cm<sup>-1</sup> highlight the presence of N-  
88 H bounds in amides or amines, as well as C=N bounds in imines or C=O bounds in ketone (Fig. 3 - Li  
89 *et al.*, 2014; Bernard *et al.*, 2015).

90  
91 In contrast to RNA which C-XANES spectrum exhibits a number of well-defined absorption features  
92 attributed to specific functional groups (Fig. 4 - Viennet *et al.*, 2019), the spheroidal biomorphs display  
93 a XANES spectrum with large features attributed to (hetero)quinones and olefinic or aromatic carbons

94 (284.8–285.5 eV), imines, nitriles, ketones and/or phenols (286.4 eV), aliphatic carbons (287.5–288 eV)  
95 and amide groups (288.2 eV) (Fig. 4 - [Le Guillou et al., 2018](#)). The XANES data collected at the N K-  
96 edge confirm the presence of imine/nitrile (peaks at 398.3 & 399.4 eV) and amide functions (feature at  
97 401.5 eV) (Fig. 4 - [Alleon et al., 2017](#)).

98

99 As is the case of oil flocculation in oil-in-water emulsion, the formation of these spheroidal biomorphs  
100 is likely the result of the production of highly hydrophobic, oily compounds via a cascade of reactions  
101 involving dehydration, aromatization and condensation ([LaMer, 1952](#)), eventually aggregating into  
102 spherical droplets, thereby minimizing interface energy ([Israelachvili et al., 1976](#)). According to the La  
103 Mer model ([LaMer, 1952](#)), their structure could be composed of an aromatic-rich hydrophobic core and  
104 a hydrophilic surface, less dehydrated, containing a larger concentration of reactive oxygen-rich  
105 functional groups, as observed for carbon spheres or hydrochars ([LaMer, 1952](#); [Baccile et al., 2009](#);  
106 [Sevilla and Fuertes, 2009](#)). Yet, spatially-resolved STXM investigations reveal that the spheroidal  
107 biomorphs produced here are quite homogeneous chemically, at least at the submicrometer scale, with  
108 equivalent concentrations of aromatic, ketone and amide groups inside their core and at their surface.

109

110 Collectively, these spheroidal organic biomorphs exhibit all the morphological and geochemical  
111 features typical of organic microfossils. Worse, it has been shown that, if exposed to pressure and  
112 temperature conditions typical of the geological history undergone by ancient cherts, such spheroidal  
113 biomorphs may evolve into double-shell hollow spheres ([Hu et al., 2010](#); [Li et al., 2016](#)). In other  
114 words, because they meet all the criteria commonly used to discuss biogenicity, even the most  
115 conservative ones ([Brasier et al., 2006](#)), these abiotic biomorphs would logically be recognized as truly  
116 biogenic organic microfossils if they were found in ancient cherts. The results of the present study thus  
117 exemplify the pitfalls that Archean paleontologists may encounter when searching for traces of life in  
118 ancient rocks. It is clear that if new strategies are not adopted, ambiguities and controversies will persist.

119

120 Advanced spatially resolved spectroscopy techniques are increasingly used to provide some clues  
121 regarding the molecular structure of putative microfossils (e.g., [Brasier et al., 2015](#); [Alleon and](#)  
122 [Summons, 2019](#)), but this is not sufficient. Unambiguously determining the nature of putative  
123 microfossils requires information on their original chemical nature. Only laboratory experiments may  
124 provide the necessary constraints on organic carbon degradation/generation processes to eventually  
125 decode the most ancient fossil record.

126

127

## 128 **References**

129

130 Alleon, J., Bernard, S., Le Guillou, C., Beyssac, O., Sugitani, K., Robert, F. (2018) Chemical nature of  
131 the 3.4 Ga Strelley Pool microfossils. *Geochemical Perspectives Letters* 37–42.

132 Alleon, J., Bernard, S., Le Guillou, C., Daval, D., Skouri-Panet, F., Kuga, M., Robert, F. (2017) Organic  
133 molecular heterogeneities can withstand diagenesis. *Scientific Reports* 7.

134 Alleon, J., Summons, R.E. (2019) Organic geochemical approaches to understanding early life. *Free*  
135 *Radical Biology and Medicine* 140, 103–112.

136 Baccile, N., Laurent, G., Babonneau, F., Fayon, F., Titirici, M.-M., Antonietti, M. (2009) Structural  
137 Characterization of Hydrothermal Carbon Spheres by Advanced Solid-State MAS <sup>13</sup> C NMR  
138 Investigations. *The Journal of Physical Chemistry C* 113, 9644–9654.

139 Benzerara, K., Menguy, N., Lopez-Garcia, P., Yoon, T.-H., Kazmierczak, J., Tyliczszak, T., Guyot, F.,  
140 Brown, G.E. (2006) Nanoscale detection of organic signatures in carbonate microbialites. *Proceedings*  
141 *of the National Academy of Sciences* 103, 9440–9445.



142 Bernard, S., Benzerara, K., Beyssac, O., Balan, E., Brown Jr., G.E. (2015) Evolution of the  
143 macromolecular structure of sporopollenin during thermal degradation. *Heliyon* 1, e00034.

144 Bernard, S., Benzerara, K., Beyssac, O., Menguy, N., Guyot, F., Brownjr, G., Goffe, B. (2007)  
145 Exceptional preservation of fossil plant spores in high-pressure metamorphic rocks. *Earth and*  
146 *Planetary Science Letters* 262, 257–272.

147 Bernard, S., Papineau, D. (2014) Graphitic Carbons and Biosignatures. *Elements* 10, 435–440.

148 Brasier, M., McLoughlin, N., Green, O., Wacey, D. (2006) A fresh look at the fossil evidence for early  
149 Archaeal cellular life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361,  
150 887–902.

151 Brasier, M.D., Antcliffe, J., Saunders, M., Wacey, D. (2015) Changing the picture of Earth's earliest  
152 fossils (3.5–1.9 Ga) with new approaches and new discoveries. *Proceedings of the National Academy*  
153 *of Sciences* 112, 4859–4864.

154 Cosmidis, J., Templeton, A.S. (2016) Self-assembly of biomorphic carbon/sulfur microstructures in  
155 sulfidic environments. *Nature Communications* 7, 12812.

156 Craig, H. (1954) Geochemical implications of the isotopic composition of carbon in ancient rocks.  
157 *Geochimica et Cosmochimica Acta* 6, 186–196.

158 De Gregorio, B.T., Sharp, T.G., Rushdi, A.I., Simoneit, B.R.T. (2011) Bugs or Gunk? Nanoscale  
159 Methods for Assessing the Biogenicity of Ancient Microfossils and Organic Matter. In: Golding, S.D.,  
160 Glikson, M. (eds) *Earliest Life on Earth: Habitats, Environments and Methods of Detection*. Springer  
161 Netherlands, Dordrecht, 239–289.

162 Garcia-Ruiz, J.M., Hyde, S.T., Carnerup, A.M., Christy, A.G., Van Kranendonk, M.J., Welham, N.J.  
163 (2003) Self-Assembled Silica-Carbonate Structures and Detection of Ancient Microfossils. *Science*  
164 302, 1194–1197.

165 Garcia-Ruiz, J.M., Melero-Garcia, E., Hyde, S.T. (2009) Morphogenesis of Self-Assembled  
166 Nanocrystalline Materials of Barium Carbonate and Silica. *Science* 323, 362–365.

167 Garcia-Ruiz, J.M., van Zuilen, M.A., Bach, W. (2020) Mineral self-organization on a lifeless planet.  
168 *Physics of Life Reviews*.

169 Higgs, P.G., Lehman, N. (2015) The RNA World: molecular cooperation at the origins of life. *Nature*  
170 *Reviews Genetics* 16, 7–17.

171 Horita, J. (2005) Some perspectives on isotope biosignatures for early life. *Chemical Geology* 218, 171–  
172 186.

173 Hu, B., Wang, K., Wu, L., Yu, S.-H., Antonietti, M., Titirici, M.-M. (2010) Engineering Carbon  
174 Materials from the Hydrothermal Carbonization Process of Biomass. *Advanced Materials* 22, 813–828.

175 Israelachvili, J.N., Mitchell, D.J., Ninham, B.W. (1976) Theory of self-assembly of hydrocarbon  
176 amphiphiles into micelles and bilayers. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 2 72,  
177 1525.

178 Javaux, E.J. (2019) Challenges in evidencing the earliest traces of life. *Nature* 572, 451–460.

179 LaMer, V.K. (1952) Nucleation in Phase Transitions. *Industrial & Engineering Chemistry* 44, 1270–  
180 1277.

181 Le Guillou, C., Bernard, S., De la Pena, F., Le Brech, Y. (2018) XANES-Based Quantification of  
182 Carbon Functional Group Concentrations. *Analytical Chemistry* 90, 8379–8386.

183 Li, J., Bernard, S., Benzerara, K., Beyssac, O., Allard, T., Cosmidis, J., Moussou, J. (2014) Impact of  
184 biomineralization on the preservation of microorganisms during fossilization: An experimental  
185 perspective. *Earth and Planetary Science Letters* 400, 113–122.

186 Li, S., Pasc, A., Fierro, V., Celzard, A. (2016) Hollow carbon spheres, synthesis and applications – a  
187 review. *Journal of Materials Chemistry A* 4, 12686–12713.

188 Loron, C.C., François, C., Rainbird, R.H., Turner, E.C., Borensztajn, S., Javaux, E.J. (2019) Early fungi  
189 from the Proterozoic era in Arctic Canada. *Nature* 570, 232–235.

190 Noorduyn, W.L., Grinthal, A., Mahadevan, L., Aizenberg, J. (2013) Rationally Designed Complex,  
191 Hierarchical Microarchitectures. *Science* 340, 832–837.  
192 Pasteris, J.D., Wopenka, B. (2003) Necessary, but Not Sufficient: Raman Identification of Disordered  
193 Carbon as a Signature of Ancient Life. *Astrobiology* 3, 727–738.  
194 Perry, E.C., Lefticariu, L. (2007) Formation and Geochemistry of Precambrian Cherts. *Treatise on*  
195 *Geochemistry*. Elsevier, 1–21.  
196 Rouillard, J., García-Ruiz, J.-M., Gong, J., van Zuilen, M.A. (2018) A morphogram for silica-witherite  
197 biomorphs and its application to microfossil identification in the early earth rock record. *Geobiology*  
198 16, 279–296.  
199 Schopf, J.W. (1975) Precambrian Paleobiology: Problems and Perspectives. *Annual Review of Earth*  
200 *and Planetary Sciences* 3, 213–249.  
201 Sevilla, M., Fuertes, A.B. (2009) Chemical and Structural Properties of Carbonaceous Products  
202 Obtained by Hydrothermal Carbonization of Saccharides. *Chemistry - A European Journal* 15, 4195–  
203 4203.  
204 Viennet, J.-C., Bernard, S., Le Guillou, C., Jacquemot, P., Balan, E., Delbes, L., Rigaud, B., Georgelin,  
205 T., Jaber, M. (2019) Experimental clues for detecting biosignatures on Mars. *Geochemical Perspectives*  
206 *Letters* 28–33.  
207 Wacey, D. (ed.) (2009) *Early Life on Earth*. Springer Netherlands, Dordrecht.  
208 Westall, F. (2005) Early Life on Earth: The Ancient Fossil Record. In: Ehrenfreund, P. *et al.* (eds)  
209 *Astrobiology: Future Perspectives*. Springer Netherlands, Dordrecht, 287–316.

210  
211

## 212 **Author Contributions**

213

214 **IC, PJ** and **SB** designed the present study. **IC** and **PJ** performed the NMR analyses. **IC, PJ** and **SB**  
215 performed the SEM analyses. **IC** and **JCV** performed the EA-IRMS analyses, the XRD analyses and  
216 the FTIR analyses. **IC, JCV** and **SB** performed the STXM analyses. All authors contributed to the  
217 interpretation of the data and discussed their implications. **IC, JVC** and **SB** wrote the manuscript, with  
218 critical inputs from **PJ** and **MJ**.

219

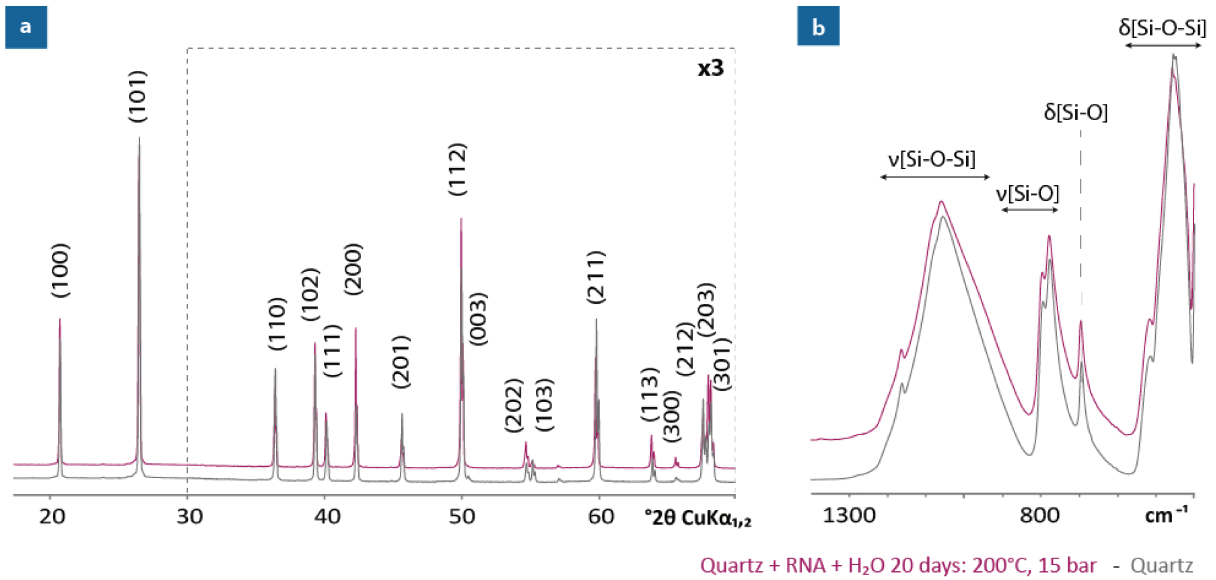
## 220 **Acknowledgments**

221

222 We acknowledge the support of the IMPMC spectroscopy platform. We thank Elisabeth Malassis  
223 (IMPMC) for administrative support, Imène Esteve (IMPMC) for her help with SEM, Etienne Balan  
224 (IMPMC) for his help with FTIR, Denis Fiorillo (AASPE) for his help with EA-IRMS, B. Rigaud  
225 (IMPC) for his help with NMR, David Troadec (IEMN) for the preparation of FIB sections and Sufal  
226 Swaraj (Soleil) for the expert support of the HERMES STXM beamline at SOLEIL. The SEM facility  
227 at IMPMC is supported by Region Ile de France grant SESAME Number I-07-593/R, INSU-CNRS,  
228 INP-CNRS and UPMC-Paris 6, and by the Agence Nationale de la Recherche (ANR) grant number  
229 ANR-07-BLAN-0124-01. The HERMES beamline (SOLEIL) is supported by the CNRS, the CEA, the  
230 Region Ile de France, the Departmental Council of Essonne and the Region Centre.

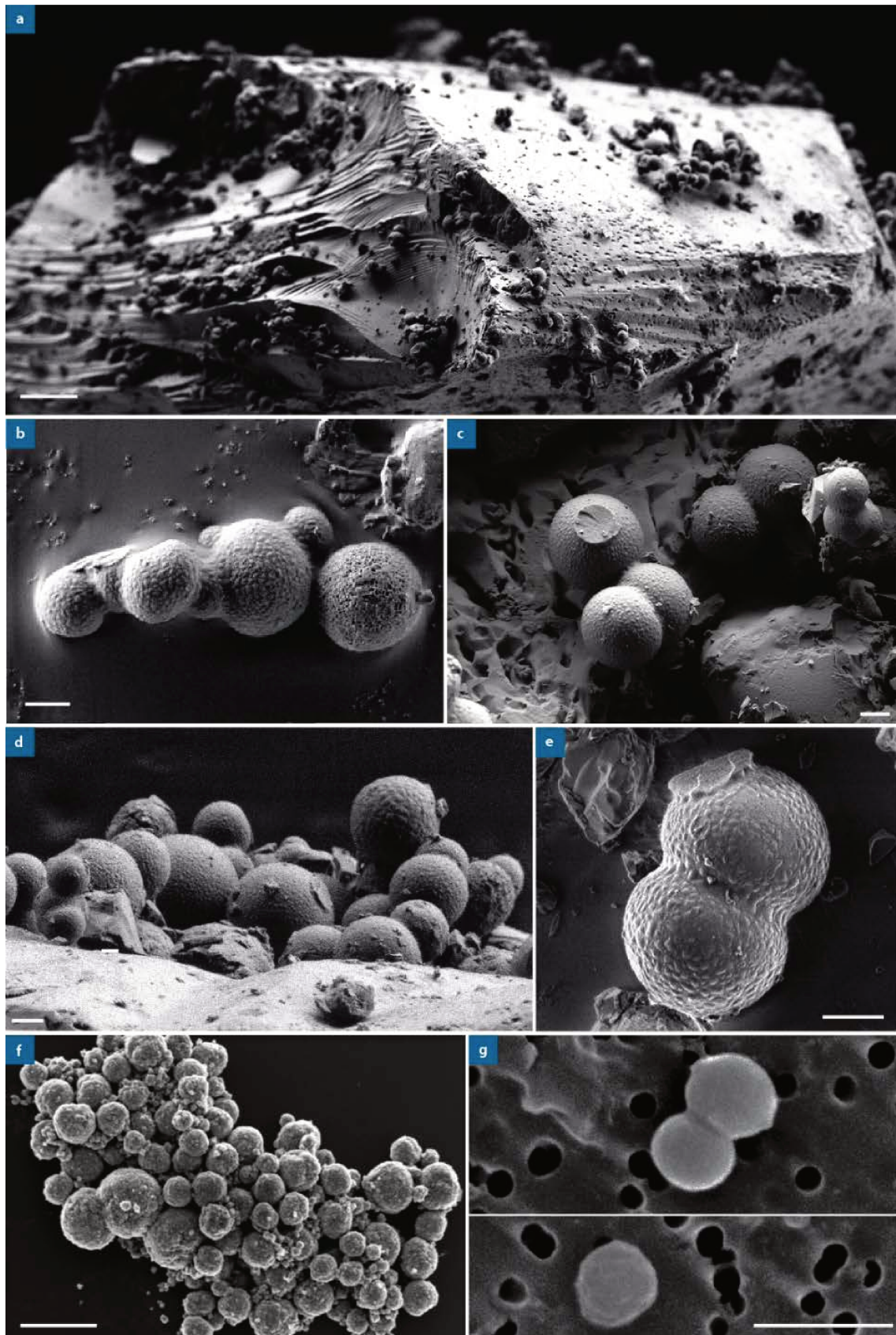
231 **Figures**

232  
233  
234  
235  
236



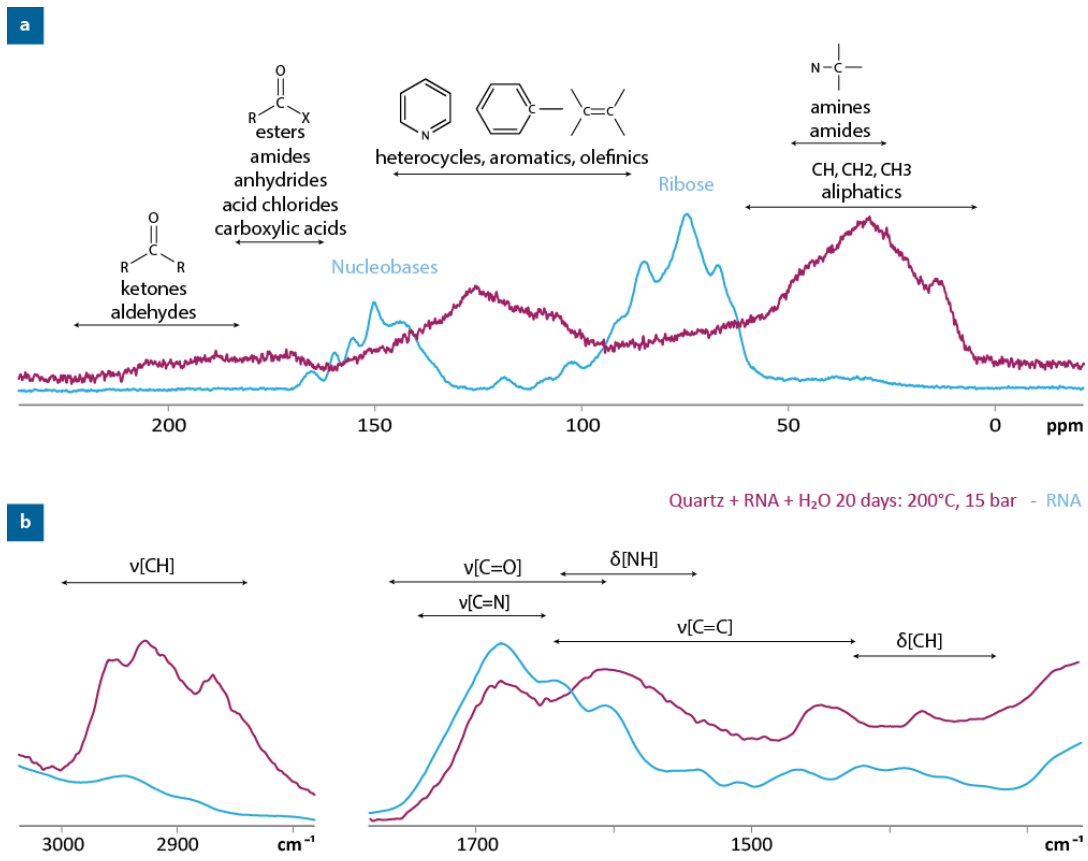
237  
238  
239  
240  
241

**Figure 1** XRD and Mid-IR characterization of the mineral fraction. **(a)** Powder XRD pattern of the residue (purple) compared to that of the quartz alpha reference (grey) (intensity increased  $\times 3$  from 30 to 70°2 $\theta$ ). **(b)** Mid-infrared ATR spectra of the residue and of the quartz alpha reference.



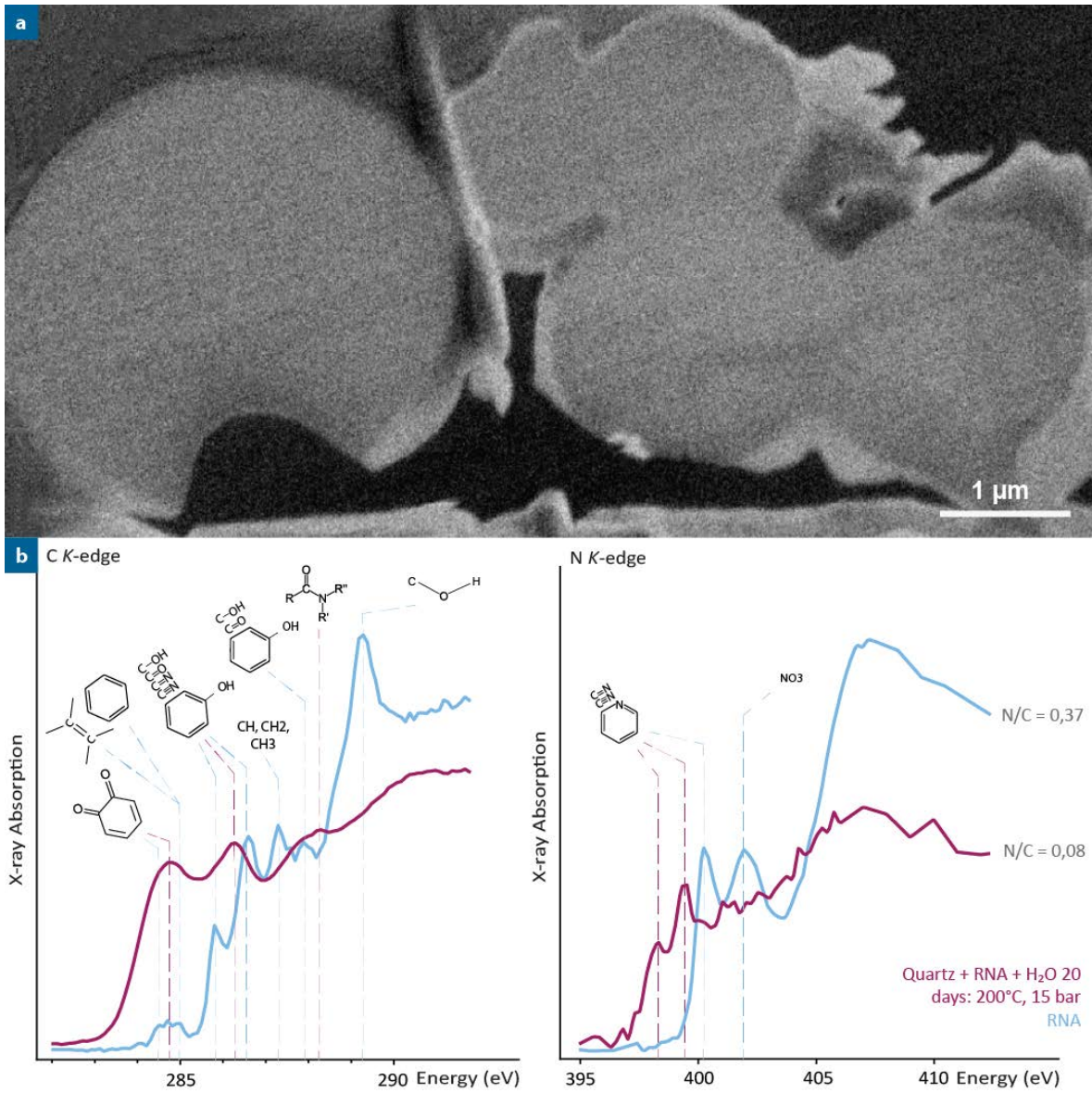
242  
243  
244  
245  
246

**Figure 2** SEM images of the spheroidal organic biomorphs produced during the experiments (a-e) and of cells of *Thermococcus prieurii* (photo courtesy of Aurore Gorlas). Scale bars: (a) 10  $\mu\text{m}$ , (b-e) 1  $\mu\text{m}$ , (f, g) 1  $\mu\text{m}$ .



251 **Figure 3** Mid-IR and solid-state NMR characterization of the organic fraction. **(a)** Solid-state CP MAS  
 252  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of the residue (purple) and that of the RNA reference (blue). Spectra are normalized  
 253 to the quantity of carbon. **(b)** Mid-infrared ATR spectra of the residue and of the RNA reference. Spectra  
 254 are normalized to the total carbon content and increased  $\times 3$  from  $\sim 3035$  to  $\sim 2775$   $\text{cm}^{-1}$ .





**Figure 4** : STXM-XANES analyses of the spheroidal organic biomorphs. **(a)** FIB section prepared for STXM-XANES analyses. **(b)** C- and N-XANES spectra of the biomorphs and of the reference RNA, and corresponding the N/C values. Spectra are normalized to C and N quantities.

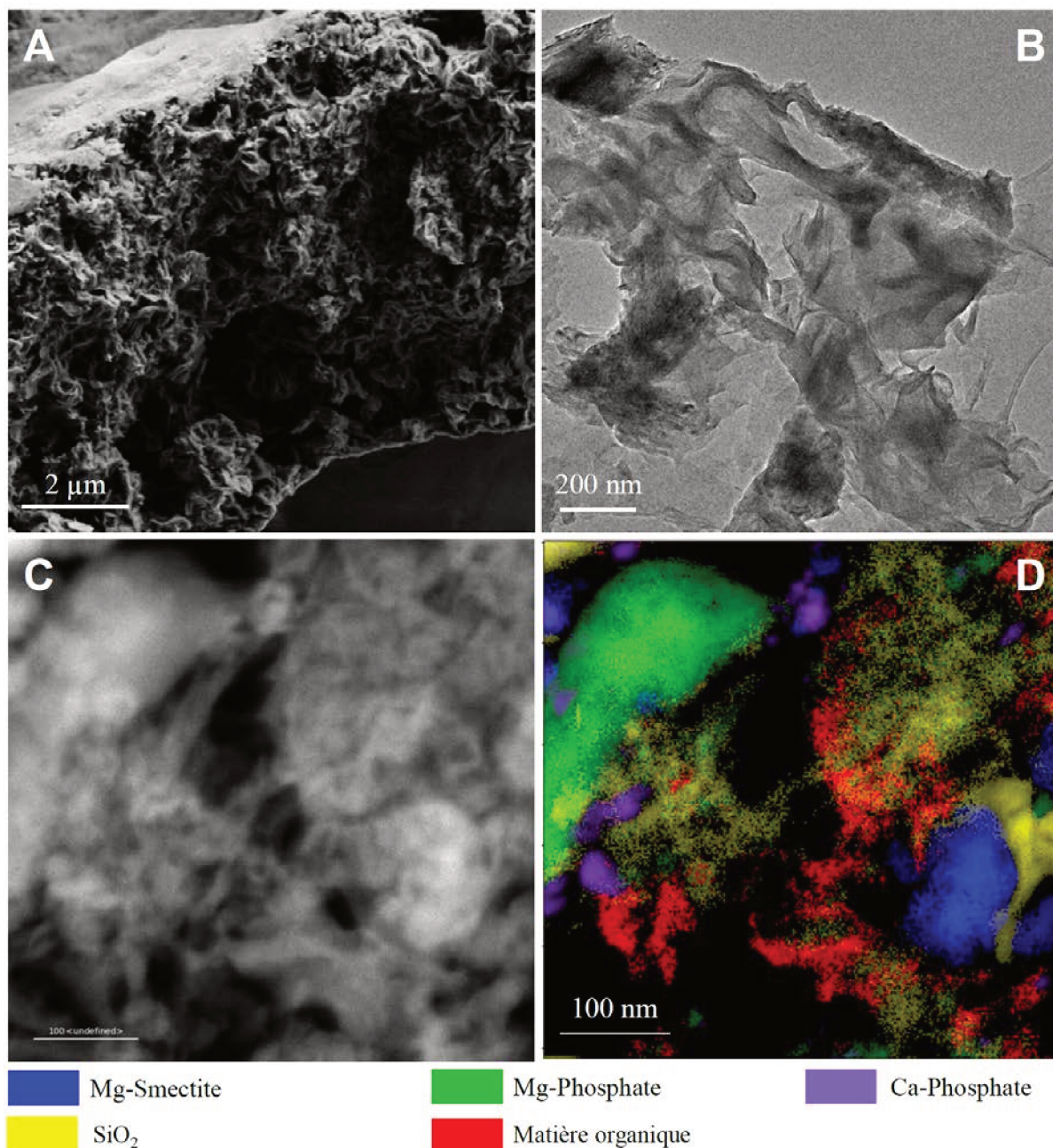
## **ANNEXE 3. Travaux connexes**

### **1. Biosignatures martiennes**

Afin de mieux comprendre l'interaction entre minéraux argileux et matière organique d'origine biologique en conditions martiennes, des expériences de fossilisation d'ARN en présence de saponite  $(Al_{0,4}Si_{3,6})O_{10}(F_{0,05}OH_{0,95})_2$  et sous atmosphère de  $CO_2$  (200°C, 20 jours) ont été conduites en parallèle de cette thèse. Dans ce cas, la présence d'ARN conduit également à la formation d'assemblages particuliers comprenant des phosphates inorganiques (Ca-phosphates ou Mg-phosphates), de la silice amorphe et des smectites riches en Mg (Fig. 1). Des analyses complémentaires en diffraction X ont montré qu'une partie de la matière organique semble piégée dans l'espace interfoliaire des smectites. Cette matière organique piégée constitue donc un réservoir stable à l'échelle des temps géologiques et les assemblages décrits précédemment sont donc précisément ceux dans lesquels il faut la chercher. Il s'agit là d'une bonne illustration de l'importance de l'analyse des assemblages minéraux dans la recherche de biosignatures organiques. L'ensemble des résultats et des implications de cette étude sont détaillés dans l'article de **Viennet et al. (2019)**.

### **2. Influence de l'atmosphère sur la fossilisation**

Au cours de cette étude, nous avons montré que la présence d'une atmosphère plus ou moins oxydante (Argon ou air), exerce une influence sur les morphologies des structures organiques formées après fossilisation (Partie 3 IV.). Bien que la composition de l'atmosphère de la Terre primitive reste controversée (**Kasting 1993; Sleep et al. 2001; Lowe and Tice 2004**), il est généralement admis qu'elle ne contient que très peu de dioxygène mais principalement du



**Figure 1.** A. Image MEB B. Image MET (champ clair) C. Image MET-STEM HAADF D. Cartographie MET EDS correspondant à l'image C.

dioxyde de carbone et du diazote (Marty et al. 2013; Kasting 2014). L'étude expérimentale de Schiffbauer (Schiffbauer et al. 2012) a montré que le caractère oxydant ou anoxique du milieu de fossilisation exerce une influence importante sur la dégradation morphologique et moléculaire de microfossiles et a conclu à une plus forte dégradation en milieu oxydant. Compte-tenu du potentiel important de biopréservation de la matière organique dans les minéraux argileux (Kennedy 2002; Cai et al. 2008; Ehlmann et al. 2008; Wacey et al. 2015;



McMahon 2018), nous avons voulu déterminer en parallèle de cette thèse si les effets de l'atmosphère observés par Schiffbauer et entrevus au cours de notre étude, sont comparables en présence de minéraux argileux. Nous avons donc conduit des expériences de fossilisation d'ARN en présence et en absence de smectites (saponite  $(Al_{0,4}Si_{3,6})O_{10}(F_{0,05}OH_{0,95})_2$ ) pendant 7 jours dans des conditions hydrothermales et d'équilibre avec (i) une atmosphère anoxique de  $CO_2$  et (ii) une atmosphère oxydante 80%  $N_2$ , 20%  $O_2$  (air actuel) (Viennet et al. 2020). De façon générale, la matière organique formée sous air apparaît plus riche en hétéroéléments (N, O) que celle formée sous  $CO_2$ . En présence de saponite, les résidus obtenus se composent d'un assemblage hétérogène de phosphates mixtes (Ca, Al, Mg), de particules de silice amorphe et de smectites riches en matière organique (Fig. 2). Des analyses en diffraction X ont montré qu'une fraction de cette matière organique est piégée dans l'espace interfoliaire. Concernant cette fraction organique particulièrement intéressante du point de vue de la préservation des fossiles, des analyses en spectroscopie XANES spatialement résolues (STXM) mettent en évidence qu'elle s'enrichit en amides lorsque la fossilisation a lieu sous  $CO_2$  et qu'elle s'enrichit en

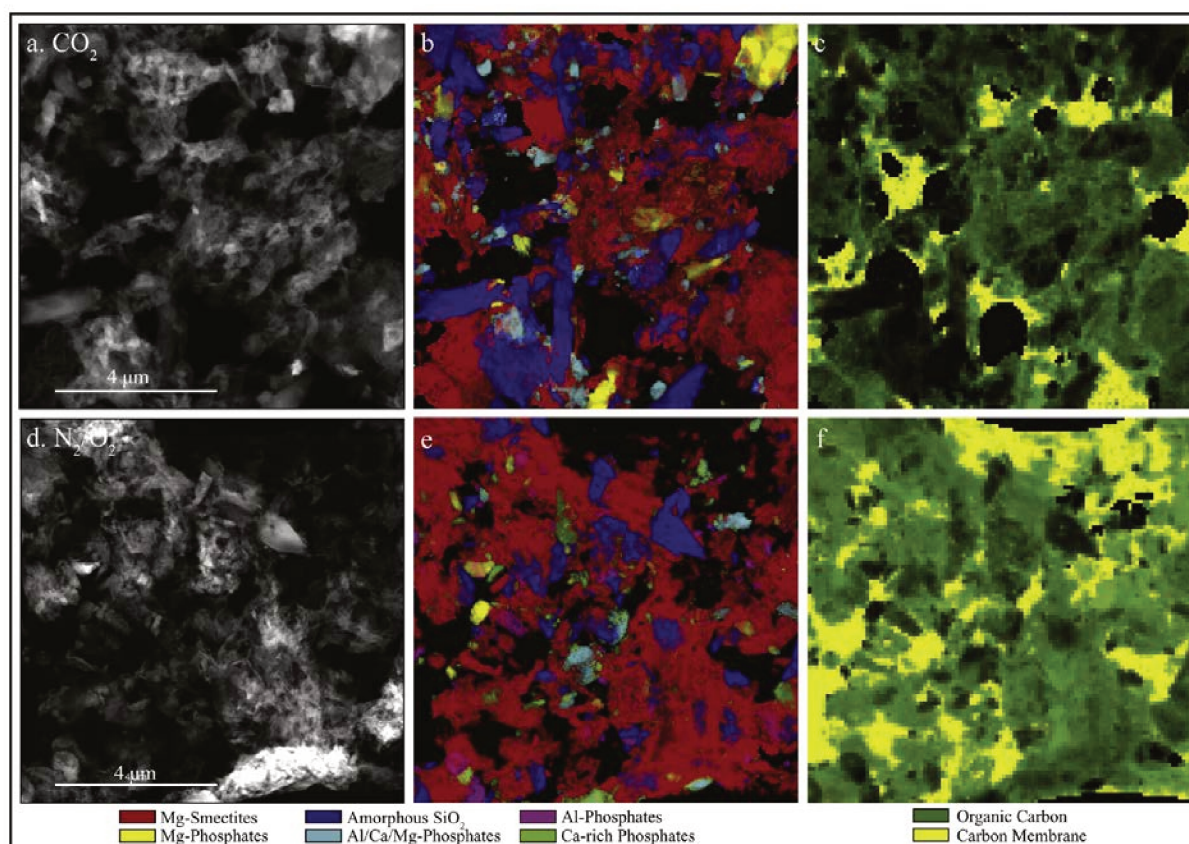


Figure 1. a.d. Images MET-STEM HAADF b.c.e.f. Cartographies MET-EDS des phases minérales et des composés organiques

hétérocycles aromatiques sous air (Fig. 3). La composition de la phase gaz avec laquelle la solution est en équilibre au cours de la fossilisation a donc une influence sur la composition moléculaire de la matière organique piégée dans les smectites. Cependant, la nature minérale de l'assemblage final semble très similaire sous air et sous  $\text{CO}_2$  et présente d'ailleurs des similarités avec les assemblages observés dans cette étude lors des expériences utilisant

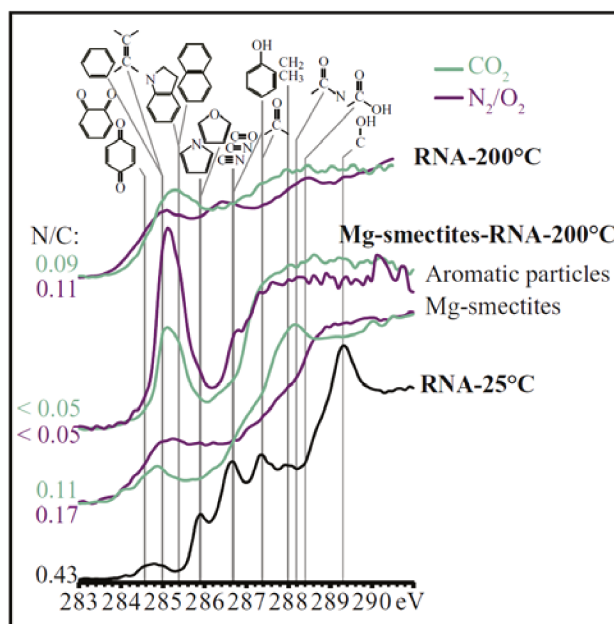


Figure 3. Spectres XANES (STXM) des résidus expérimentaux

les gels de composition montmorillonite. Ceci confirme la complexité des relations entre la nature de l'assemblage initial (biomolécule + matrice minérale), les conditions de fossilisation (atmosphère mais aussi T, P,  $E_h$ , pH...) et le résidu final. L'analyse des fossiles ou traces de vie supposées ne doit donc jamais conduire à des conclusions en ignorant ces difficultés et doit donc nécessairement consister en une analyse multi-échelle des assemblages minéraux-matière organique.

## Références

- Bishop JL, Dobreá EZN, McKeown NK, et al (2008) Phyllosilicate Diversity and Past Aqueous Activity Revealed at Mawrth Vallis, Mars. *Science, New Series* 321:830–833
- Cai P, Huang Q, Li M, Liang W (2008) Binding and degradation of DNA on montmorillonite coated by hydroxyl aluminum species. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 62:299–306.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.10.016>
- Ehlmann BL, Mustard JF, Fassett CI, et al (2008) Clay minerals in delta deposits and organic preservation potential on Mars. *Nature Geoscience* 1:355–358. <https://doi.org/10.1038/ngeo207>
- Grotzinger JP, Sumner DY, Kah LC, et al (2014) A Habitable Fluvio-Lacustrine Environment at Yellowknife Bay, Gale Crater, Mars. *Science* 343:1242777–1242777. <https://doi.org/10.1126/science.1242777>
- Kasting JF (1993) Earth's early atmosphere. *Science* 259:920–926
- Kasting JF (2014) Atmospheric composition of Hadean–early Archean Earth: The importance of CO. In: *Earth's Early Atmosphere and Surface Environment*. Geological Society of America
- Kennedy MJ (2002) Mineral Surface Control of Organic Carbon in Black Shale. *Science* 295:657–660.  
<https://doi.org/10.1126/science.1066611>
- Lowe DR, Tice MM (2004) Geologic evidence for Archean atmospheric and climatic evolution: Fluctuating levels of CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and O<sub>2</sub> with an overriding tectonic control. *Geology* 32:493.  
<https://doi.org/10.1130/G20342.1>
- Marty B, Alexander CMO, Raymond SN (2013) Primordial Origins of Earth's Carbon. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 75:149–181. <https://doi.org/10.2138/rmg.2013.75.6>
- McMahon S (2018) *The chemistry of fossilization on Earth and Mars*. Portland Press 5
- Osinski GR, Tornabene LL, Banerjee NR, et al (2013) Impact-generated hydrothermal systems on Earth and Mars. *Icarus* 224:347–363. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.08.030>
- Schiffbauer JD, Wallace AF, Hunter JL, et al (2012) Thermally-induced structural and chemical alteration of organic-walled microfossils: an experimental approach to understanding fossil preservation in metasediments: Experimental thermal alteration of microfossils. *Geobiology* 10:402–423.  
<https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2012.00332.x>
- Schwenzer SP, Kring DA (2009) Impact-generated hydrothermal systems capable of forming phyllosilicates on Noachian Mars. *Geology* 37:1091–1094. <https://doi.org/10.1130/G30340A.1>
- Sleep NH, Zahnle K, Neuhoff PS (2001) Initiation of clement surface conditions on the earliest Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:3666–3672.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.071045698>
- Viennet J-C, Bernard S, Le Guillou C, et al (2019) Experimental clues for detecting biosignatures on Mars. *Geochemical Perspectives Letters* 28–33. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1931>

Viennet J-C, Bernard S, Le Guillou C, et al (2020) Influence of the nature of the gas phase on the degradation of RNA during fossilization processes. *Applied Clay Science* 191:105616.  
<https://doi.org/10.1016/j.clay.2020.105616>

Wacey D, Saunders M, Roberts M, et al (2015) Enhanced cellular preservation by clay minerals in 1 billion-year-old lakes. *Scientific Reports* 4:. <https://doi.org/10.1038/srep05841>

## **ANNEXE 4. Script Hyperspy**

# Script analyse EDS-TEM

May 6, 2020

```
In [1]: %matplotlib qt5
import hyperspy.api as hs
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
import numba
import copy
```

```
C:\Anaconda3\lib\site-packages\h5py\__init__.py:36: FutureWarning: Conversion of the second argument of
from ._conv import register_converters as _register_converters
```

## 1 1. Ouverture du signal

```
In [2]: # Ouverture du fichier brut .emd
s=hs.load("SI.emd", signal_type = "EDS_TEM")
```

```
WARNING:hyperspy.io_plugins.emd:The file contains only one spectrum stream
```

```
In [3]: # Fichier en 3 parties : le spectre EDS total, la donnée EDS hyperspectrale, l'image HAADF
s
```

```
Out[3]: [<EDSTEMSpectrum, title: EDS, dimensions: (|4096)>,
<Signal2D, title: HAADF, dimensions: (|675, 486)>,
<EDSTEMSpectrum, title: EDS, dimensions: (675, 486|4096)>]
```

```
In [4]: sp, adf, eds = s
```

```
In [ ]: eds.save('SI_full_EDS')
sp.save('SI_full_sp')
adf.save('SI_full_adf')
```

```
In [ ]: eds = hs.load('SI_full_EDS.hspy')
sp = hs.load('SI_full_sp.hspy')
```

```
In [ ]: adf = hs.load('SI_full_adf.hspy')
```

```

In [5]: # Ré-échantillonnage de l'espace signal et de l'espace navigation
eds = eds.isig[0.15:]
eds = eds.inav[:,484]
edsb = eds.rebin((672/4,484/4, 1024))
# on fixe les éléments de l'échantillon
edsb.set_elements(['C','N','O','F','Na','Mg','Al','Si','P','Cl','Ca','Ti','Fe','Cu'])
# on génère les X-Rays lines
edsb.add_lines()
edsb.plot()

In [ ]: edsb.save('SI_rebin_EDS')

In [ ]: edsb = hs.load('SI_rebin_EDS.hspy', signal_type = "EDS_TEM")

In [ ]: edsb.plot(True)

In [ ]: adf.plot()

In [6]: # On rebine l'image adf comme edsb
adf = adf.isig[:,484]
adfb = adf.rebin((672/4,484/4))
adfb

Out[6]: <Signal2D, title: HAADF, dimensions: (|168, 121)>

In [ ]: adfb.plot()

In [7]: mask = adfb<1.4e+5 # On entre la valeur seuil
mask.plot()

In [ ]: mask.plot()

In [ ]: mask.save('mask')

In [ ]: mask = hs.load('mask.hspy')

```

## 2 2. Fit gaussien

```

In [ ]: #création du modèle
m = edsb.create_model()

In [ ]: m.components

In [ ]: # On supprime les composantes associées aux raies négligeables
To_delete = []
for j in range (7,9):
    To_delete.append(m[j].name)
for j in range (14, 18):
    To_delete.append(m[j].name)
for j in range (22, 25):

```

```

        To_delete.append(m[j].name)
    for j in range (38, 41):
        To_delete.append(m[j].name)
    m.remove(To_delete)
    m.components

In [ ]: #recalibration du spectro
        m.calibrate_energy_axis(calibrate='offset')
        m.calibrate_energy_axis(calibrate='scale')

In [ ]: # Fit du background
        m.fit_background(kind = 'multi', bounded=True, mask = mask.data)

In [ ]: # Fit gaussien
        m.multifit(fitter = 'leastsq', bounded=True, mask = mask.data)
        m.save_parameters2file('fit_SI')

In [ ]: m.save('fit_SI')

In [ ]: m.load_parameters_from_file(r'C:\Users\Pierre Jacquemot\Documents\Archive\TITAN-190206\S

In [ ]: m.plot(True)

In [ ]: import sys
        sys.path.append(r'C:\Users\Pierre Jacquemot\Documents\Archive\TITAN-180416\CL_Quant')
        from CL_Quant import*

        # on va chercher les valeurs des xray lines qu on a fitté.
        # on ajoute les kbeta aux kalpha pour coller aux k-factors
        # on crée la liste des k-factors
        # on intègre les X-Ray lines en tenant compte des k-factors
        result = m.get_lines_intensity(xray_lines='from_metadata', plot_result=False)
        result_cor = correct_result(result)
        factors = kfactors(result_cor)
        # On regroupe les cartes des intensités des x-rays lines en 1 seul objet
        R_cor = hs.hyperspy.utils.stack(result_cor)
        R_cor = R_cor.as_signal2D([0,1])

In [ ]: result

In [ ]: R_cor.plot()

```

### 3 3. Carte d'épaisseur

#### 3.1 3.1 Méthode intrinsèque

```

In [ ]: # on crée un signal "carte d'intensité" qui est un proxy de l'épaisseur x densité
        s = eds
        dt = hs.signals.Signal1D(np.ones((s.data.shape[0], s.data.shape[1], 1)))
        dt.isig[0] = s.integrate1D(-1)

```



```

In [ ]: import copy
        t = copy.deepcopy(dt)
        d = 2.5 # On fixe une densité moyenne
        t.isig[0] = dt.isig[0]/(d*2) # on applique un paramètre de correction arbitraire

In [ ]: # Tracé de la carte d'épaisseur + histogramme
        t.isig[0].plot()
        t.isig[0].get_histogram().plot()

In [ ]: d = copy.deepcopy(dt)
        d.isig[0] = 2.5
        d.isig[0].plot()

```

### 3.2 3.2 Méthode EELS

```

In [ ]: # On charge la carte d'épaisseur obtenue par intégration du pic élastique en EELS
        t = hs.load('Thick_map_final.hspy')
        t.plot()

In [ ]: d = hs.signals

```

## 4 4. Quantification

```

In [ ]: %%time

        # Quantification par élément en tenant compte de la correction d'absorption
        Quant = absorption_correction(result_cor, edsb, factors, d=d, t=t.data, navigation_mask

In [ ]: Quant

In [ ]: # On regroupe les cartes des compositions en 1 seul objet
        Q = hs.hyperspy.utils.stack(Quant)
        Q = Q.as_signal2D([0,1])
        Q.save('Quanti')
        Q.plot()

In [8]: Q = hs.load('Quanti.hspy')

```

## 5 5. PCA sur signal quantifié

```

In [ ]: # PCA sur les données quantifiées
        # Visualisation de chaque composante et de sa contribution
        Q2 = Q.transpose()
        Q2.decomposition(navigation_mask=mask.data)
        Q2.plot_explained_variance_ratio()
        Q2.plot_decomposition_results()

```

```
In [ ]: # Création d'un modèle avec les composantes principales (=réduction du bruit)
        Q2dec = Q2.get_decomposition_model(6)
        Q2dec.plot()
```

```
In [ ]: # Régression linéaire multi-variables
        Q2dec.blind_source_separation(number_of_components=6)
        Q2dec.plot_bss_results()
```

## 6 6. MLLS

### 6.1 6.1 1er tour

```
In [ ]: # On définit un seuil pour chaque composante --> 1 masque par composante
        N = 6
        Threshold = [3.8, 9.5, 10, 32, 21.5, 4]
        Mask= []
        sc_Masked= []
        for i in range (N):
            Mask.append(Q2dec.get_bss_loadings().inav[i] < Threshold[i])
            sc_Masked.append(0)
```

```
In [ ]: # On corrige manuellement certains masques : aluminoSi 1
        mask_c = Q2dec.get_bss_loadings().inav[1] < 9.5
        mask_d = Q2dec.get_bss_loadings().inav[1] > 16
        Mask[1] = mask_c+mask_d
```

```
In [ ]: # On regroupe tous les masques en un seul objet
        Mask = hs.hyperspy.utils.stack(Mask)
```

```
In [ ]: Mask.plot()
```

```
In [ ]: # On reconstruit un signal des zones non-masquées et on extrait le spectre moyen
        import copy
        s_C=[]

        for k in range (N):
            s_C.append(0)
            sc_Masked[k] = copy.deepcopy(Q2dec)
            sc_Masked[k].data[Mask.inav[k].data, :] = np.nan
            s_C[k] = sc_Masked[k]._get_signal_signal(np.nanmean(sc_Masked[k].data, axis=(0, 1)))

        SP = hs.hyperspy.utils.stack(s_C)
```

```
In [ ]: SP.plot()
```

```
In [ ]: Mquant = Q2dec.create_model(False,False)
```

```
In [ ]: # On définit les composantes du modèle qui correspondent aux spectres de ref
        g = []
```

```

for i in range (N):
    g.append(hs.model.components1D.ScalableFixedPattern(s_C[i]))
    Mquant.extend([g[i]])
    Mquant.set_parameters_not_free([g[i]], parameter_name_list=['xscale','shift'])
    g[i].yscale.bmin=0
    g[i].yscale.bmax=1

In [ ]: Mquant.multifit(fitter='leastsq',bounded=True, mask = mask.data)

In [ ]: Mquant.plot(True)

In [ ]: Mquant.save_parameters2file('MLLS1_6comp')

In [ ]: Mquant.load_parameters_from_file('MLLS1_6comp.npz')

In [ ]: G1 = []
        for i in range (N): G1.append(g[i].yscale.as_signal())
        G1 = hs.hyperspy.utils.stack(G1)

In [ ]: G1.plot()

In [ ]: G1.save('G1')

In [ ]: G1=hs.load('G1.hspy')

```

## 6.2 6.2 2ème tour

```

In [ ]: # On définit un seuil pour chaque composante --> 1 masque par composante
        N = 6
        Threshold = [0.9, 0.97, 0.98, 0.99, 0.97, 0.99]
        Mask= []
        sc_Masked= []
        for i in range (N):
            Mask.append(G1.inav[i] < Threshold[i])
            sc_Masked.append(0)

In [ ]: # On regroupe tous les masques en un seul objet
        Mask = hs.hyperspy.utils.stack(Mask)

In [ ]: Mask.plot()

In [ ]: # On reconstruit un signal des zones non-masquées et on extrait le spectre moyen
        import copy
        s_C=[]
        for k in range (N):
            s_C.append(0)
            sc_Masked[k] = copy.deepcopy(Q2dec)
            sc_Masked[k].data[Mask.inav[k].data, :] = np.nan
            s_C[k] = sc_Masked[k]._get_signal_signal(np.nanmean(sc_Masked[k].data, axis=(0, 1)))

        SP = hs.hyperspy.utils.stack(s_C)

```

```

In [ ]: SP.plot()

In [ ]: # On met les compos des elements non utiles aux phosphates à 0
s_C[0].data[3] = 0
s_C[0].data[4] = 0
s_C[0].data[5] = 0
s_C[0].data[6] = 0
s_C[0].data[9] = 0
s_C[0].data[12] = 0
s_C[0].data[13] = 0

In [ ]: # On met les compos des elements non utiles aux aluminoSi 1 à 0
s_C[1].data[1] = 0
s_C[1].data[3] = 0
s_C[1].data[4] = 0
s_C[1].data[5] = 0
s_C[1].data[6] = 0
s_C[1].data[9] = 0
s_C[1].data[11] = 0
s_C[1].data[13] = 0

In [ ]: # On met les compos des elements non utiles à la N-rich MO à 0
s_C[2].data[0] = 0
s_C[2].data[2] = 0
s_C[2].data[3] = 0
s_C[2].data[4] = 0
s_C[2].data[5] = 0
s_C[2].data[6] = 0
s_C[2].data[7] = 0
s_C[2].data[9] = 0
s_C[2].data[11] = 0
s_C[2].data[12] = 0
s_C[2].data[13] = 0

In [ ]: # On met les compos des elements non utiles au carbone à 0
s_C[3].data[0] = 0
s_C[3].data[2] = 0
s_C[3].data[3] = 0
s_C[3].data[4] = 0
s_C[3].data[5] = 0
s_C[3].data[6] = 0
s_C[3].data[7] = 0
s_C[3].data[9] = 0
s_C[3].data[11] = 0
s_C[3].data[12] = 0
s_C[3].data[13] = 0

In [ ]: # On met les compos des elements non utiles aux aluminoSi 4 à 0
s_C[4].data[1] = 0

```

```

s_C[4].data[3] = 0
s_C[4].data[4] = 0
s_C[4].data[5] = 0
s_C[4].data[6] = 0
s_C[4].data[9] = 0
s_C[4].data[11] = 0
s_C[4].data[13] = 0

In [ ]: Mquant = Q2dec.create_model(False,False)

In [ ]: # On définit les composantes du modèle qui correspondent aux spectres de ref
g = []
for i in range (6):
    g.append hs.model.components1D.ScalableFixedPattern(s_C[i])
    Mquant.extend([g[i]])
    Mquant.set_parameters_not_free([g[i]], parameter_name_list=['xscale','shift'])
    g[i].yscale.bmin=0
    g[i].yscale.bmax=1

In [ ]: Mquant.multifit(fitter='leastsq',bounded=True, mask = mask.data)

In [ ]: Mquant.plot(True)

In [ ]: Mquant.save_parameters2file('MLLS2_6comp')

In [ ]: Mquant.load_parameters_from_file('MLLS2_6comp.npz')

In [ ]: G2 = []
for i in range (N): G2.append(g[i].yscale.as_signal())
G2 = hs.hyperspy.utils.stack(G2)

In [ ]: G2.plot()

In [ ]: G2.save('Final_mixing_model_best')

In [ ]: G2 = hs.load('Final_mixing_model_best.hspy')

```

## 7 7. Compositions

```

In [ ]: # On définit un seuil pour chaque composante --> 1 masque par composante
N = 6
Threshold = [0.5, 0.9, 0.8, 0.97, 0.9, 0.8]
Mask= []
sc_Masked= []
for i in range (N):
    Mask.append(G2.inav[i] < Threshold[i])
    sc_Masked.append(0)

In [ ]: # On regroupe tous les masques en un seul objet
Mask = hs.hyperspy.utils.stack(Mask)

```

```

In [ ]: Mask.plot()

In [ ]: # On reconstruit un signal des zones non-masquées et on extrait le spectre moyen
import copy
s_C=[]
for k in range (N):
    s_C.append(0)
    sc_Masked[k] = copy.deepcopy(Q2dec)
    sc_Masked[k].data[Mask.inav[k].data, :] = np.nan
    s_C[k] = sc_Masked[k]._get_signal_signal(np.nanmean(sc_Masked[k].data, axis=(0, 1)))

SP_compo = hs.hyperspy.utils.stack(s_C)

In [ ]: # Affichage des n-uplets de fractions atomiques
SP_compo.plot()

In [ ]: # On reconstruit un signal des zones non-masquées et on extrait le spectre moyen
import copy
s_C=[]
for k in range (N):
    s_C.append(0)
    sc_Masked[k] = copy.deepcopy(edsb)
    sc_Masked[k].data[Mask.inav[k].data, :] = np.nan
    s_C[k] = sc_Masked[k]._get_signal_signal(np.nanmean(sc_Masked[k].data, axis=(0, 1)))

SP_eds = hs.hyperspy.utils.stack(s_C)

In [ ]: # Affichage des spectres EDS moyen de chaque composante
SP_eds.plot(True)

```

## Résumé :

L'enregistrement fossile est l'unique témoin direct de l'histoire du vivant. Actuellement, ses toutes premières étapes situées autour de 4 Ga sont très mal connues notamment à cause de la rareté des roches Archéennes et Hadéennes et de la très forte dégradation des biosignatures au cours des temps géologiques. Plusieurs scénarios comme celui d'un « monde à ARN » ont été élaborés pour décrire l'émergence de la vie mais il n'en existe pour l'heure aucune preuve dans l'enregistrement fossile car on ne sait pas quelles traces ces formes de vie primitives ont pu laisser. Au cours de cette thèse, nous développons une approche expérimentale afin d'identifier les traces d'un « monde à ARN » susceptibles d'être conservées au cours de la diagénèse. Cette approche consiste à faire subir en laboratoire des processus de diagénèse à des molécules caractéristiques du vivant primitif en présence de minéraux modèles de la surface de la Terre Hadéenne. De l'ARN, une des premières biomolécules à émerger dans l'hypothèse du « monde à ARN » a donc été placée en conditions de diagénèse durant 20 jours à 200°C en présence de silice sous forme de gel (précurseurs des cherts), de quartz ou de silice fumée. Des expériences similaires ont été conduites en présence de gels de composition montmorillonite (analogues des premières phases d'altération) à différentes quantités d'eau. Les résidus obtenus ont été analysés par des techniques permettant de caractériser leur contenu minéral et organique. Ceci a permis de documenter les caractéristiques attendues pour des traces fossiles des premières formes de vie issues du monde à ARN et de proposer des hypothèses sur les mécanismes de leur formation et les paramètres déterminants pour leur préservation.

Mots-clés : Fossilisation expérimentale ; Biosignatures ; Monde à ARN ; Silice ; Montmorillonite

## **Experimental fossilization of the RNA world**

### Abstract:

Fossil record is the only immediate proof of the history of life. Currently, its first steps around 4 Ga are very poorly known particularly because of the scarcity of Hadean and Archean rocks and the very strong degradation of biosignatures throughout geological times. Several scenarios such as the "RNA world" have been developed to describe the emergence of life but no proof of that exists for now into the fossil record because one does not know what traces these primitive forms of life could leave. During this PhD thesis, we developed an experimental approach to identify the traces of an "RNA world" which could be preserved during diagenesis. This approach consists in experimentally submitting typical molecules of primitive life to diagenetic processes in presence of model minerals of the surface of the Hadean Earth. RNA, one of the first biomolecules emerging in the "RNA world" hypothesis, has been placed in diagenetic conditions during 20 days at 200°C in presence of silica as gel (cherts precursor), as quartz or as fumed silica. Similar experiments have been performed in presence of gels of montmorillonite composition at different amounts of water (similar to the first alteration phases). The obtained residues have been further analyzed by techniques allowing the characterization of their mineral and organic content. This allowed to document the expected characteristics of fossil traces of the first forms of life coming from the "RNA world" and to provide hypotheses on their formation mechanisms and the key parameters for their preservation.

Keywords: Experimental fossilization ; Biosignatures ; RNA world ; Silica ; Montmorillonite