

PROJET : Frontière thermique et biosignatures des archées hyperthermophiles dans les cheminées hydrothermales

Quelle est la frontière en température du Vivant actif? Cette limite est marquée par des microorganismes hyperthermophiles ayant leur optimum de vie à des températures de plus de 80°C. Ces extrémophiles appartiennent notamment au domaine des Archaea, au sein desquelles la souche *Pyrolobus fumarii* détient le record de croissance à 113°C ⁽¹⁾. D'autres études, plus débattues, suggèrent des indications de vie possible à 121°C ⁽²⁾ et 122°C ⁽³⁾. De plus, la biodiversité hyperthermophile est une composante très mal connue de la biosphère, dont le rôle écologique et géochimique reste largement à déterminer. L'évolution de cette biosphère extrémophile au cours de l'Histoire de la Terre est quant à elle encore plus méconnue.

Les cheminées hydrothermales riches en soufre (« black smokers »), à partir desquelles les souches de plus haute température connues ont été isolées, sont un bon modèle pour étudier la vie hyperthermophile. La température des fluides à l'intérieur des cheminées peut atteindre 350-400°C tandis que la température de l'eau de mer est inférieure à 5°C, ce qui induit des gradients de température de plusieurs dizaines de degrés par millimètre dans les parois des événements hydrothermaux ⁽⁴⁾.

Ce projet propose d'identifier les conditions effectives de vie des archées hyperthermophiles dans les systèmes hydrothermaux, et de définir leurs biosignatures organiques et minérales. Jusqu'alors, les études réalisées sur la biodiversité des environnements hydrothermaux ont essentiellement reposé sur l'analyse d'ADN environnementaux ⁽⁵⁾. Les analyses sur des transects horizontaux d'événements montrent que le gène codant pour l'ARN ribosomique 16S présente un signal fort dans toute l'épaisseur des cheminées ⁽⁶⁾. Néanmoins il s'avère impossible de faire une corrélation *in situ* de cette signature biologique avec le gradient thermique, cela étant pour le moment estimé indirectement, de manière culture-dépendante en laboratoire.

L'objectif de cette recherche doctorale est, par une approche expérimentale, (1) de déterminer les températures optimales et maximales de vie active d'archées hyperthermophiles en milieu hydrothermal réaliste, (2) d'identifier les biosignatures minérales et organiques de ces archées et (3) de confronter ces biosignatures à l'enregistrement géologique. A l'heure où l'hypothèse d'un LUCA (Last Universal Common Ancestor) hyperthermophile représente une vue discutée mais plausible ⁽⁷⁾ et où les fossiles chimiques présumés les plus anciens ont été retrouvés dans des paléo-systèmes hydrothermaux ⁽⁸⁾, ce sujet est d'actualité.

Réalisation

Des cultures d'archées hyperthermophiles seront effectuées à l'IMPMC, d'une part en milieu optimal de croissance et d'autre part en conditions de biominéralisation dans des fluides hydrothermaux reconstitués. Afin d'optimiser la diversité des milieux hydrothermaux à explorer, les souches sélectionnées présentent des métabolismes et des températures optimales de croissance différents. Il s'agit d'organismes appartenant aux ordres des *Thermococcales* et des *Desulfurococcales*. Les *Thermococcales*, dont l'organisme modèle est *Thermococcus kodakarensis* ⁽⁹⁾, sont prédominantes dans les cheminées hydrothermales. Elles sont anaérobies

strictes, chimio-organotrophes, capables de se développer rapidement (≈ 40 min) sur des substrats complexes à une température optimale de croissance de 85°C . Les *Thermococcales* ont la particularité d'évoluer rapidement, ce qui semble être lié aux conditions extrêmes de leur habitat et à la présence d'éléments génétiques mobiles, tels que des virus, des plasmides et des vésicules ⁽¹⁰⁾. Des avancées considérables ont été accomplies sur la génétique de ces organismes ⁽¹¹⁾ et des outils génétiques chez *T. kodakarensis* sont disponibles au laboratoire de Biologie Cellulaire des Archées à l'I2BC. Deux espèces appartenant à l'ordre des *Desulfurococcales* seront également utilisées, à savoir *Aeropyrum Pernix* (aérobie provenant d'une niche écologique proche de celle de *T. kodakarensis*, ce qui permettrait d'envisager des tests de co-cultures) et *Pyrolobus fumarii*, l'espèce isolée la plus hyperthermophile connue (capable de se diviser à 113°C avec un optimum de croissance de 106°C).

Les expériences de culture et minéralisation seront réalisées sous pression et température (entre 80°C et 150°C) en bombes réactionnelles chemisées en titane (pour une bonne inertie réactionnelle avec le fluide hydrothermal) sur des durées variant de quelques heures à quelques jours. Afin de déterminer les températures optimales et maximales de vie des archées hyperthermophiles en conditions hydrothermales réalistes, plusieurs analyses seront réalisées *in situ*. Un dispositif original mis en place à l'IMPMC, qui consiste à relier des bombes réactionnelles à un chromatographe (GC-TCD), permettra de déterminer la composition de la phase gaz (H_2 , H_2S , CO_2 , O_2 , etc) des échantillons en temps réel. Cela fournira des indications directes du niveau d'activité métabolique des archées lors des expériences. En parallèle, l'ATP-métrie et le comptage cellulaire, réalisés après culture au laboratoire de l'IMPMC, fourniront des informations sur l'activité métabolique en fonction des conditions choisies. Ces données permettront d'établir des diagrammes température-composition pour l'activité biologique, à la fois en milieux de cultures et en milieux naturels hydrothermaux reconstitués. De plus, le(la) doctorant(e) aura accès à un dispositif quasi-unique à l'échelle internationale, récemment mis en place à Sorbonne Université. Il s'agit de la RMN en conditions hydrothermales (collaboration Pr Maguy Jaber, LAMS-Sorbonne Université), qui sera en particulier utilisée pour documenter *in situ* l'évolution de la spéciation du phosphore. Cet élément rare, car précipité dans le milieu, mais concentré dans les cellules, a un rôle essentiel dans le vivant en général, et pour la vie hydrothermale de haute température en particulier ⁽¹⁰⁾. Cette expérience de RMN *in situ* (température jusqu'à 130°C , pression jusqu'à plusieurs centaines de bar) sera l'une des premières à simuler de manière réaliste un milieu biologique sous température et pression – avec toutefois certaines restrictions de composition pour des raisons techniques – et participera à donner une réponse originale à la question de la limite thermique du Vivant, au moins pour les trois souches considérées.

Dans l'optique de caractériser des biosignatures minérales et organiques, qui permettraient d'appréhender cette limite dans des échantillons ex situ ou fossiles anciens, les résidus de culture seront étudiés à l'IMPMC, après chaque expérience, à l'aide de la diffraction des rayons X, de la spectroscopie infrarouge, de la microscopie optique (épifluorescence ou confocale) et de la microscopie électronique à balayage (en corrélative possible avec le confocal) et en transmission. Ces techniques permettront de documenter la nature des phases minérales produites et leurs relations avec les molécules organiques à toutes les échelles. L'intérêt dans cette thèse, d'explorer non seulement les températures physiologiquement connues pour les souches choisies (80°C - 113°C) mais aussi des températures plus élevées (jusqu'à typiquement 150°C), sera de déterminer l'impact d'une diagenèse classique sur la préservation/dégradation des biosignatures identifiées à

très hautes températures. Les résidus de ces expériences de fossilisation seront caractérisés à l'aide des outils discutés plus haut. Ces expériences fourniront des informations précieuses pour déterminer quelles signatures biogéochimiques peuvent être préservées dans l'enregistrement géologique, et sous quelles formes.

Ainsi, outre de nouvelles informations sur les métabolismes de ces organismes hyperthermophiles, ce travail de thèse offrira un regard nouveau sur les limites thermiques du vivant et sur les signaux de la « biosphère chaude » potentiellement préservés dans les roches. On s'attachera, à titre d'activité de veille, à rechercher ces signatures dans des échantillons anciens de fumeurs noirs disponibles au sein de la collection de roches du MNHN, et dans des échantillons de cheminées hydrothermales actuelles collectés par l'IFREMER à Brest (échantillons de la récente mission Atlantique Bicoise II).

Encadrement de la thèse

La direction de cette thèse pluridisciplinaire sera assurée par François Guyot, géochimiste et minéralogiste à l'IMPMC (site Buffon) MNHN. La plupart des analyses seront effectuées à l'IMPMC et dans d'autres laboratoires de Sorbonne Université. La co-direction de la thèse par Jacques Oberto directeur du laboratoire de biologie cellulaire des archées de l'I2BC, Université Paris Sud Saclay, spécialiste des archées hyperthermophiles ouvrira le champ de cette recherche doctorale aux méthodes de pointe d'études de la biologie des archées hyperthermophiles. Le financement de l'environnement de cette thèse est assuré sur les trois années.

Références

- (1) **E. Blöch, R. Rachel, S. Burggraf, D. Hafenbradl, H. W. Jannasch, K. O. Setter T. (1997).** *Pyrolobus fumarii*, gen. and sp. Nov., represents a novel group of archaea, extending the upper limit for life at 113°C. *Extremophiles*, Vol 1, p. 14-21.
- (2) **K. Kashefi and D. R. Lovley. (2003).** *Extending the upper temperature limit for life.* *Science*, Vol 301, p. 934.
- (3) **K. Takai, K. Nakamura, T. Toki, U. Tsunogai, M. Miyazaki, J. Miyazaki, H. Hirayama, S. Nakagawa, T. Nunoura, K. Horikoshi. (2008).** *Cell proliferation at 122°C and isotopically heavy CH₄ production by a hyperthermophilic methanogen under high-pressure cultivation.* *PNAS*, Vol 105 No 31, p. 10949-10954.
- (4) **M. K. Tivey, A. M. Bradley, T. M. Joyce, D. Kadko. (2001).** *Insights into tide-related variability at seafloor hydrothermal vents from time-series temperature measurements.* *Earth and Planetary Science Letters*, Vol 202, p. 693-707.
- (5) **R. E. Anderson, M. L. Sogin, J. A. Baross. (2015).** *Biogeography and ecology of the rare and abundant microbial lineages in deep-sea hydrothermal vents.* *FEMS Microbiology Ecology*, Vol 91 No 1, 11 p.
- (6) **M. O. Schrenk, D. S. Kelley, J. R. Delaney, J. A. Baross. (2003).** *Incidence and diversity of microorganisms within the walls of an active deep-sea sulfide chimney.* *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 69 No 6, p. 3580-3592.
- (7) **M. Di Giulio. (2001).** *The universal ancestor was a thermophile or a hyperthermophile.* *Gene*, Vol 281, p. 11-17.
- (8) **M. S. Dodd, D. Papineau, T. Grenne, J. F. Slack, M. Rittner, F. Pirajno, J. O'Neil, C. T. S. Little. (2017).** *Evidence for early life in Earth's oldest hydrothermal vent precipitates.* *Nature*, Vol 543, p. p. 60-64.
- (9) **A. Gorlas, P. Jacquemot, J-M. Guigner, S. Gill, P. Forterre, F. Guyot. (2018).** *Greigite nanocrystals produced by hyperthermophilic archaea of Thermococcales order.* *PLOS one*, Vol 13 No 8, 10 p.
- (10) **J. Oberto, M. Gaudin, M. Cossu, A. Gorlas, A. Slesarev, E. Marguet, P. Forterre. (2014).** *Genome Sequence of a Hyperthermophilic Archaeon, Thermococcus nautili 30-1, That Produces Viral Vesicles.* *Genome Announcements*, Vol 2-2, 2 p.
- (11) **R. Catchpole, A. Gorlas, J. Oberto, P. Forterre. (2018).** *A series of new E. coli-Thermococcus shuttle vectors compatible with previously existing vectors.* *Extremophiles*, Vol 22, p. 591-598.