

La recette d'un métabolisme primitif

À quoi ressemblaient les cycles biologiques primitifs ? En décortiquant deux voies métaboliques fondamentales qui produisent des molécules indispensables au développement de la vie, nous avons montré qu'il était possible de les réaliser avec des éléments simples comme du fer, dans des conditions qui pouvaient exister il y a 4 milliards d'années.



Joseph Moran
DIRECTEUR DU
LABORATOIRE
DE CATALYSE
CHIMIQUE À
L'INSTITUT DE
SCIENCE ET
D'INGÉNIERIE
SUPRAMO-
LÉCULAIRE (CNRS,
UNIVERSITÉ DE
STRASBOURG).

La vie est aujourd'hui omniprésente sur Terre. Pourtant, notre planète est restée inhabité pendant au moins plusieurs centaines de millions d'années. Que s'est-il passé à l'échelle nanométrique pour que la matière, initialement inerte, finisse par former des réseaux complexes de molécules biologiques, marquant le début du règne de ce qu'on appelle la vie ? Cette question fascine notre équipe qui l'aborde depuis 2013 sous l'angle du métabolisme. Le métabolisme est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein d'un être vivant afin de le maintenir en vie et de lui permettre d'interagir avec son environnement. C'est le réseau de réactions le plus sophistiqué au monde. Toutefois, malgré sa complexité, la vie a une façon assez unique de construire et de décomposer la matière. Elle transforme des substances simples comme le dioxyde de carbone (CO₂), l'azote ou l'hydrogène en métabolites, des molécules impliquées dans le métabolisme. Ces métabolites s'assemblent ensuite, formant des molécules fonctionnelles (telles les protéines) ou porteuses de l'information génétique (comme l'acide désoxyribonucléique ADN et l'acide ribonucléique ARN). Mais l'assemblage de ces molécules complexes ne se produit dans les cellules actuelles qu'avec la présence d'enzymes, c'est-à-dire de protéines qui catalysent (*)

les nombreuses transformations élémentaires du métabolisme. Or ces enzymes ne peuvent être produites qu'à partir de l'information contenue dans les molécules génétiques (ADN, ARN), qui sont d'un niveau de complexité très élevé.

Pour résoudre ce paradoxe de l'œuf et de la poule, la plupart des scientifiques soutiennent l'idée que la vie aurait débuté avec la fabrication de molécules jouant à la fois le rôle de catalyseur et de support de l'information. Dans le vivant actuel, c'est l'ARN qui joue ce double rôle. Cette longue molécule est en effet l'intermédiaire entre l'information génétique stockée dans l'ADN et les protéines, mais elle a aussi un rôle d'enzyme. D'où l'hypothèse qu'il aurait existé, dans le monde ancien, une chimie de la vie essentiellement orchestrée par ce type de molécule : c'est l'hypothèse d'un monde ARN. Mais il existe une autre manière de résoudre ce paradoxe. Dans notre laboratoire, nous pensons ainsi que les premières formes de métabolisme n'étaient pas fondamentalement différentes de celles que nous connaissons aujourd'hui. En effet, l'évolution tend à modifier progressivement un système qui fonctionne déjà, et non à tout réinventer ! C'est pourquoi nous postulons que le métabolisme actuel a pu exister dans une version primitive, où des métaux et des minéraux naturels remplaceraient les enzymes dans leur rôle de catalyseur. Ainsi, de simples composés inorganiques disponibles dans l'environnement auraient permis des réactions organiques donnant naissance au métabolisme, avant l'apparition de molécules complexes comme l'ARN.

UNE CATALYSE SANS ENZYMES

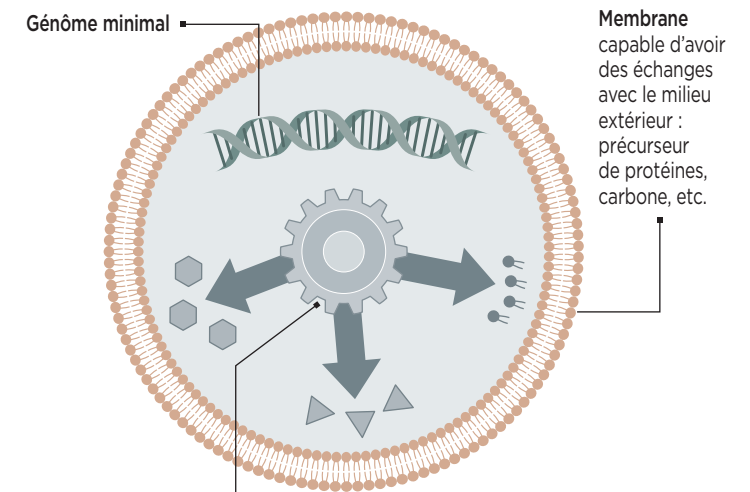
Pour étayer cette dernière hypothèse, nous nous sommes d'abord intéressés aux voies métaboliques les plus fondamentales, à savoir celles qui convertissent le CO₂ en métabolites simples, afin de voir si celles-ci peuvent se produire avec de simples métaux. Parmi les six voies métaboliques différentes que la vie utilise aujourd'hui pour transformer le CO₂, deux ont été particulièrement étudiées par notre équipe : la voie de Wood-Ljungdahl et le cycle inverse de Krebs. La voie de Wood-Ljungdahl est un ensemble de réactions biochimiques utilisées par certaines bactéries et archées (lire p. 36). Elle permet à ces organismes de produire de l'acétate et du pyruvate à partir du CO₂. Ces deux molécules composent la « matière première » bio-

logique : par exemple la synthèse de lipides se fait à partir d'acétate, et le pyruvate est le précurseur des sucres. En étudiant dans le détail cette voie, nous nous sommes rendu compte que les enzymes qui catalysent les réactions possèdent des métaux de transition comme le fer, le nickel ou le cobalt. Ces métaux auraient-ils pu réaliser la catalyse seuls, c'est-à-dire sans l'aide des enzymes ? Pour le savoir, nous avons cherché dans un premier temps des conditions expérimentales capables de reproduire la voie de Wood-Ljungdahl (1). Les tentatives furent nombreuses car beaucoup de paramètres doivent être ajustés, comme la pression de CO₂, la température ou encore la quantité et la nature des métaux à ajouter. Après plusieurs essais infructueux, nous avons obtenu une recette prometteuse : en présence de CO₂ (entre 1 et 40 bars), il suffit de faire chauffer (entre 30 et 100 °C) un mélange d'eau salée et de métaux sous leur forme native (au choix le fer, le nickel ou le cobalt). Dans ces conditions, nous observons l'apparition du formiate, du méthanol et de l'acétate, des métabolites de la voie de Wood-Ljungdahl. Plus intéressant encore, il se forme du pyruvate, un composé impliqué dans le cycle inverse de Krebs.

Bien qu'étonnants, ces résultats ont suscité des critiques de la part de la communauté scientifique. Les biologistes nous ont fait remarquer que les êtres vivants qui utilisent aujourd'hui la voie de Wood-Ljungdahl, comme les micro-organismes des sources hydrothermales, ne se servent pas du fer métallique mais de l'hydrogène (H₂). En outre, les géologues nous ont expliqué que même si le noyau de la Terre est constitué principalement de fer métallique, ce dernier n'est pas très abondant au niveau de la croûte terrestre, un des endroits où la vie aurait pu apparaître. Ces critiques étaient-elles justifiées ? En faisant équipe avec Bill Martin, de l'université Heinrich Heine à Düsseldorf, et Harun Tüysüz, de l'institut Max Planck de Mülheim, en Allemagne, nous avons découvert que certains minéraux à base de fer (comme la magnétite, la greigite et l'awaruite), présents dans les sources hydrothermales, catalysent la réaction entre le CO₂ et le H₂, formant les mêmes molécules que celles de nos précédentes expériences : l'acétate et le pyruvate. Par conséquent, il est raisonnable de penser qu'une version sans enzymes de la voie de Wood-Ljungdahl ait pu exister sur la Terre primitive.

LES MÉCANISMES D'UNE CELLULE MINIMALE

Grâce à des expériences de biologie de synthèse, les chercheurs essaient de reproduire les fonctions essentielles des cellules. Ils apportent un éclairage sur ce qui a pu se produire lors de l'émergence de la vie.



Machinerie de fabrication de molécules qui compose la cellule : des phospholipides pour la membrane, des enzymes pour la division cellulaire, des enzymes pour la réplication du génôme.

Passons à l'étude de la deuxième voie métabolique : le cycle inverse de Krebs. Ce cycle est très important car il comprend les cinq précurseurs universels de la biochimie : l'acétyl-CoA, le pyruvate, l'oxaloacétate, le cétooglutarate et le succinate. Toutes ces molécules sont essentielles à la formation des lipides, des sucres ou encore des acides aminés (les composants des protéines). De plus, il est autocatalytique, c'est-à-dire qu'il possède une propriété d'auto-amplification qui produit exponentiellement de la matière, une propriété intéressante dans le cadre de la chimie prébiotique où la concentration est un critère déterminant. Le cycle inverse de Krebs comporte une dizaine d'étapes. Parmi elles, cinq nécessitent de l'adénosine triphosphate (ATP), une molécule cruciale pour son rôle de monnaie d'échange de l'énergie au sein des cellules. Comme les premières formes de métabolisme n'utilisaient probablement pas une molécule aussi complexe, nous avons expérimenté les séquences dont les étapes sont indépendantes de l'ATP.

Comme pour la voie de Wood-Ljungdahl, nous avons testé différentes conditions expérimentales (2). Cinq

(*) Un catalyseur est une entité chimique capable d'accélérer certaines transformations.

(*) Le cycle du glyoxylate est une voie métabolique dérivée du cycle de Krebs et présente chez les plantes, les bactéries et certains champignons.

(*) Un ribonucléotide comprend une base nucléique (adénine, guanine, cytosine ou uracile), un ribose et un ou plusieurs groupements phosphates. Il constitue l'ARN.

des six réactions étudiées peuvent avoir lieu en présence de fer, de zinc ou de chrome (métalliques ou ioniques) à 70 °C dans une eau légèrement acide. Seule la sixième, qui transforme de l'aconitate en citrate, requiert un chauffage à 140 °C et une eau très acide. Cependant, les cinq autres réactions fonctionnent également dans ces conditions proches de celles environnant les sources hydrothermales. Ainsi, avec quelques métaux, nous avons produit les six réactions indépendantes de l'ATP du cycle inverse de Krebs en n'utilisant aucune enzyme. Mais peut-on réaliser un cycle inverse de Krebs complet en se passant d'ATP?

UN NOUVEAU RÉSEAU DE RÉACTIONS

Les travaux de l'équipe de Daniel Segrè, de l'université de Boston, nous ont permis d'avancer. Ces chercheurs avaient montré que le pyruvate, et une nouvelle molécule, le glyoxylate (*), pouvaient avoir une place centrale dans un métabolisme sans ATP (3). Nous les avons alors testés avec nos catalyseurs métalliques. Expérimentalement, lorsque le pyruvate et le glyoxylate sont mélangés avec du fer oxydé à 70 °C, de nombreux métabolites sont synthétisés suivant un nouveau réseau de réactions (4). Ce réseau comprend les cinq précurseurs universels et les mêmes types de réactions que l'on retrouve en biochimie. Aussi, en ajoutant de l'hydroxylamine et du fer métallique, quatre acides aminés sont produits. Enfin, ce réseau partage de nombreuses réactions et molécules impliquées dans le cycle de Krebs et le cycle du glyoxylate qui sont des voies métaboliques utilisées par le vivant actuel. Ainsi, nous avons conclu que ce réseau, ou au moins certaines de ses parties, pourrait constituer une forme primitive des cycles biologiques connus aujourd'hui. Après avoir étudié les différentes voies de fixation du CO₂, nous essayons de reproduire les mécanismes de fabrication des sucres et même des ribonucléotides (*), la base de l'ARN. Il reste encore beaucoup à faire, mais plus nous cherchons, plus il nous semble probable que les premières formes de vie aient utilisé un réseau complexe de réactions ressemblant aux voies métaboliques que nous connaissons aujourd'hui. ■

(1) S. J. Varma *et al.*, *Nat. Ecol. Evol.*, 2, 1019, 2018.

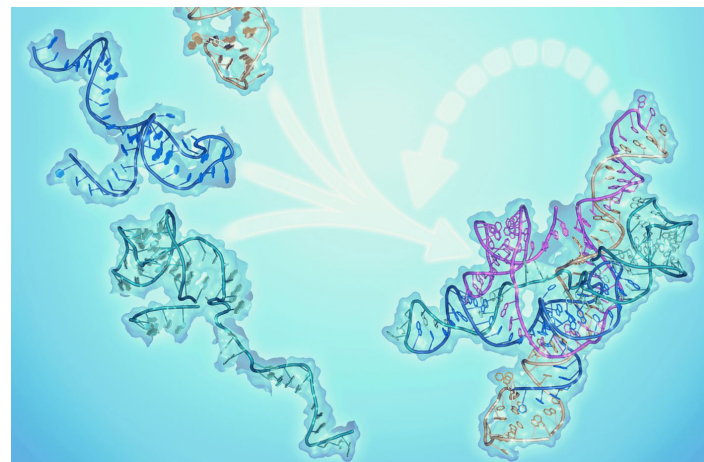
(2) K. B. Muchowska *et al.*, *Nat. Ecol. Evol.*, 1, 1716, 2017.

(3) J. E. Goldford *et al.*, *Cell*, 168, 1126, 2017.

(4) K. B. Muchowska *et al.*, *Nature*, 569, 104, 2019.

Sur la piste de l'évolution moléculaire

Le vivant ne se résume pas à ses constituants ! Si synthétiser des précurseurs des briques élémentaires essentielles à la vie cellulaire est une approche très suivie par les chercheurs, des chimistes tentent une autre voie : reproduire les fonctions qui le caractérisent, comme sa capacité à produire sa propre matière (autocatalyse), celle de se répliquer (autoréplication) et surtout celle d'évoluer. De nouvelles expériences prometteuses sont en cours.



▲ Des ARN « ribozymes » (acides ribonucléiques et enzymes) sont dérivés de la bactérie *Azoarcus*.

Trop souvent, on résume le vivant à sa capacité de répliquer : celle de « donner la vie », notamment par la reproduction. Mais la vie se définit aussi... par le changement ! En effet, la possibilité d'obtenir des innovations et de les maintenir au cours de la reproduction est une condition nécessaire à l'évolution darwinienne. Mais l'établissement d'un tel système chimique est un défi, que mon équipe et moi-même tentons de relever. Pour ce faire, nous explorons la piste de l'ARN, cette molécule porteuse de l'information



Philippe Nghe
MAÎTRE DE CONFÉRENCES,
ÉCOLE SUPÉRIEURE DE
PHYSIQUE ET CHIMIE
INDUSTRIELLE DE LA VILLE DE

PARIS (ESPCI) ET UNIVERSITÉ
PARIS, SCIENCES ET LETTRES
*Spécialiste de biophysique, il tente de
reproduire les réseaux d'interaction
biochimiques des cellules.*

génétique qui sert à la synthèse de protéines. Car elle est bien plus que cela : elle est un catalyseur, capable de réaliser des opérations de recombinaison moléculaire. Pour ce double rôle, on parle de « ribozymes » – mot-valise formé à partir de « acide ribonucléique » et « enzyme ». Dans notre laboratoire, nous étudions comment cette recombinaison pourrait engendrer une grande diversité de nouvelles séquences d'ARN, et les conditions pour que celles-ci favorisent leur propre reproduction.

Pour nos expériences, nous utilisons un modèle de ribozyme issu de la bactérie *Azoarcus*. Ces ribozymes sont des ARN composés d'un enchaînement de 200 molécules (nucléotides) de long. Ils peuvent être coupés en fragments. Une fois mis en présence d'un ribozyme complet dérivé d'*Azoarcus*, ces fragments se dupliquent et s'assemblent, formant de nouveaux fragments. Une des difficultés est de mesurer ce qui se passe. Nous y sommes parvenus en couplant des outils dits de microfluidique de gouttelettes – qui permet de faire de chaque goutte un minuscule compartiment de réaction – à une technique de catalogage et d'identification moléculaire (le code-barre moléculaire). En séquençant ces codes-barres, nous identifions rapidement les ARN obtenus dans les gouttelettes, de sorte que nous sommes capables de suivre l'évolution de nos réseaux d'ARN dans le temps et dans ces différents compartiments.

Dans un premier temps, notre expérience a consisté à produire une banque de 20 000 gouttelettes de 5 picolitres (10⁻¹² litre) contenant 24 combinaisons de fragments de ribozyme (1). Puis, des ensembles aléatoires de 1 à 5 gouttelettes de cette banque initiale ont été fusionnés avec une gouttelette de 50 picolitres contenant un ribozyme entier. Après incubation à 48 °C pendant une heure, la composition de chaque gouttelette a été analysée. Nous avons ainsi obtenu des milliers de réseaux d'ARN qui catalysent leur propre formation à partir de fragments. Ainsi, non seulement ces réseaux se

répliquent, mais ils évoluent. Leurs différences proviennent des relations entre la topologie du réseau de réactions et la composition chimique.

Cette expérience nous permet de déterminer des conditions d'évolution de ces réseaux. Nous avons ainsi constaté deux types de compromis : d'une part entre la croissance (le nombre d'ARN obtenus dans une gouttelette) et la variation dans les réseaux de réactions ; d'autre part, entre cette variation et la robustesse aux changements environnementaux (modification du milieu de réaction). Ces observations nous semblent pertinentes pour les scénarios où l'évolution précoce est motivée par l'hétérogénéité environnementale. En effet, dans certains scénarios prébiotiques, l'évolution dépend d'un équilibre entre la persistance des compositions chimiques – la robustesse aux changements environnementaux – et l'exploration de nouvelles compositions – la capacité à intégrer de nouvelles formes moléculaires. Dans ces conditions, l'apparition au hasard de nouveaux catalyseurs, en raison soit de réactions rares, soit d'intrants environnementaux, permettrait à son tour l'apparition de nouveaux réseaux autocatalytiques auto-entretenus.

Une telle dynamique fournit donc une voie progressive par laquelle de nouveaux états chimiques peuvent être explorés et sélectionnés d'une manière darwinienne. Toutefois, nous devons encore développer notre système d'expérimentation, et nous devons pour cela trouver de nouveaux ribozymes modèles, ou bien en inventer par biologie de synthèse, de manière à obtenir plus de diversité dans les fragments issus des réactions chimiques complexes. En outre, il reste à comprendre comment l'évolution darwinienne dans les réseaux parvient à sélectionner des chimies de complexité croissante, qui peuvent avoir été favorisées par des cycles environnementaux de température, de salinité ou d'autres conditions physico-chimiques.

(1) S. Ameta *et al.*, bioRxiv, doi : 10.1101/726497, 2020. (À paraître dans *Nature Communications*).