Numéro National de Thèse : 2017LYSEN067

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée par

l'Ecole Normale Supérieure de Lyon

Ecole Doctorale N°34

Ecole Doctorale Matériaux de Lyon

Spécialité de doctorat : Sciences de la Terre et de l'Univers

Soutenue publiquement le 15/09/2017, par :

Ulysse PEDREIRA-SEGADE

Nucléotides à l'interface minéral-eau et réactivité des acides aminés en conditions hydrothermales dans le contexte des origines de la vie

---

Devant le jury composé de :

J. Blichert-Toft	Directrice de Recherche	Ens de Lyon	Examinatrice
M. Jaber	Professeure	Université Pierre et Marie Curie	Rapporteure
R. Pascal	Directeur de Recherche	Université de Montpellier	Rapporteur
E. Ferrage	Chargé de Recherche	Université de Poitiers	Examinateur
L. Michot	Directeur de Recherche	Université Pierre et Marie Curie	Examinateur
I. Daniel	Professeure	Université Lyon 1	Directrice de thèse

A mes parents,

Merci pour l'ouverture d'esprit, la curiosité
et le goût de la découverte que vous m'avez transmis

Résumé de la thèse

Les découvertes de traces de vie primitive, fossiles et biosignatures, suggèrent que celle-ci serait apparue il y 4,3 à 3,7 milliards d'années. Cette émergence est le résultat d'étapes menant des plus simples molécules organiques aux premières formes de vie unicellulaire.

Ce travail de thèse examine l'hypothèse de l'apparition de la vie dans un environnement hydrothermal, dans lequel la pression, les gradients de température et de pH, la diversité des surfaces minérales et l'abondance d'énergie chimique auraient permis l'accumulation et la complexification de la matière organique. Il s'intéresse particulièrement aux étapes de concentration des nucléotides et de polymérisation des acides aminés, respectivement briques élémentaires du matériel génétique et des protéines, inhérentes au vivant.

Cette thèse présente d'abord une étude des interactions de surfaces entre nucléotides en solution et minéraux en feuillets en conditions contrôlées de température, de pH et de salinité. Dans une deuxième partie, elle récapitule les résultats obtenus par l'observation *in situ* de l'effet des conditions hydrothermales et des surfaces minérales sur la polymérisation des acides aminés non activés.

Ce travail suggère que les minéraux en feuillets, et plus particulièrement les argiles gonflantes, augmentent la concentration locale en nucléotide de trois ordres de grandeurs au moins en présentant un comportement très dépendant des conditions physicochimiques du milieu. De plus, il reconfirme l'importance de la température dans la polymérisation des acides aminés en solution, mais montre également que la pression et la présence de surfaces minérales ont une influence majeure sur la réactivité de ces molécules. Les environnements hydrothermaux semblent donc favorables à la concentration, la préservation et la complexification de la matière organique, étapes essentielles à l'émergence des propriétés du vivant.

TABLE DES MATIERES

PARTIE 1 - ETAT DE L'ART.....13
PARTIE 2 - METHODES EXPERIMENTALES ET ANALYTIQUES 63
PARTIE 3 - ADSORPTION (1) 109
PARTIE 4 - ADSORPTION (2)..... 149
PARTIE 5 - POLYMERISATION..... 183
PARTIE 6 - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....217

INTRODUCTION

De l'origine de la vie sur Terre, nous connaissons paradoxalement à la fois très peu et beaucoup de choses. Après la publication de *L'Origine des Espèces* par Charles Darwin en 1859, on considère que les racines de tous les organismes vivants remontent à un ancêtre commun, une population dont les traits caractéristiques, moléculaires et structuraux dont auraient hérité toutes les formes de vie actuelles.

A la suite des grandes avancées dans le domaine du vivant, de la découverte de l'ADN et de sa structure (**Watson and Crick, 1953**) au code génétique et à la théorie des arbres phylogénétiques (**Woese et al., 1966; Woese et al., 1990**), la biologie s'est focalisée sur la construction d'une phylogénie de plus en plus précise, révélant les parentés entre les organismes actuels et fossiles, et tentant de retrouver, à rebours, la structure des molécules et des chemins métaboliques les plus primitifs. Cette approche 'top-down' se révèle efficace dans la compréhension des premiers pas de la vie, de sa capacité à inventer et se diversifier. Elle apporte même, moyennant quelques précautions statistiques, des informations temporelles sur les radiations des premières formes de vie et de leurs métabolismes et gènes associés. L'approche 'top-down' permet de construire un portrait-robot de l'ancêtre commun universel (LUCA), de ses liens étroits avec son écologie, et de proposer un environnement géochimique dans lequel il aurait émergé ou du moins se serait développé. Pourtant, cette méthode se heurte à l'horizon indépassable qu'est LUCA. Aucune reconstruction des schémas antérieurs à cet ancêtre commun n'est possible, et la première forme de vie ayant émergée n'est pas forcément LUCA.

Cette approche historique et génétique est complétée par l'approche chronologique proposée indépendamment par Oparin en 1924 et Haldane en 1929. Ces auteurs ont élaboré une théorie de l'origine de la vie sur Terre qui se prête à des tests expérimentaux. Ils proposent un plan, un cheminement, une suite d'étapes théoriques ayant permis au vivant d'émerger spontanément. Cette approche expérimentale qualifiée de 'bottom-up' propose que la vie soit apparue par évolution chimique de composés organiques simples à la suite de nombreuses étapes clés. La constatation que la vie cellulaire est presque universellement composée d'un matériel génétique conservé par l'ADN, véhiculé par l'ARN, d'une machinerie cellulaire constituée de protéines et de compartiments lipidiques suggère que l'émergence du vivant implique nécessairement l'interaction de ces macromolécules complexes : l'ADN, l'ARN, les protéines et les lipides. L'idée est alors de comprendre d'abord comment ces macromolécules ont pu être produites,

concentrées, assemblées et préservées à partir de premières molécules simples et abondantes. La découverte expérimentale de conditions physico-chimiques permettant le passage d'une étape à une autre éclaire sur les possibles chemins de l'émergence du vivant. Les conditions permettant la validation d'une étape en laboratoire ne représentent pas forcément la réalité de l'environnement primitif, qu'il soit terrestre ou pas. S'effectue alors un aller-retour entre la description de la Terre primitive et de son histoire d'un côté, et les expériences de chimie en laboratoire de l'autre. Ces étapes théoriques de l'approche 'bottom-up' n'ont d'intérêt pour l'origine de la vie sur Terre que si elles s'étudient dans le cadre de conditions simulant un environnement prébiotique probable. Le lien est donc étroit entre la géologie au sens large et la chimie prébiotique.

A partir de nos connaissances en sciences de la Terre, nous avons cherché à concilier dans cette thèse l'aspect géologique et l'aspect chimique de l'approche 'bottom-up' pour tenter de répondre à plusieurs questions. Nous nous sommes particulièrement intéressés à deux hypothèses. La première, théorisée par Bernal (**1951**), propose que la concentration des briques élémentaires du vivant sur des minéraux à grande surface réactive, tels que les argiles, aurait pallié à la très forte dilution de ces molécules dans le vaste océan primitif et aurait favorisé leur réactivité. L'adsorption comme mécanisme de concentration, puis de réaction, est une des hypothèses fortes des scénarii de l'apparition première de l'information génétique comme de ceux de l'émergence initiale d'un métabolisme. La seconde hypothèse repose sur la proposition de Corliss et. al. (**1981**). Corliss et al. proposent que les environnements hydrothermaux sous-marins primitifs, combinant fortes pressions, gradients de température et de pH élevés, diversité minéralogique et stabilité temporelle de ces conditions, auraient été propices à la production et la complexification des molécules du vivant.

Nous supposons que les briques élémentaires du vivant que sont les nucléotides, monomères de l'ADN et l'ARN, et les acides aminés, monomères des protéines, sont présents sur la Terre primitive. Nous avons donc étudié à la fois le problème de la concentration de ces molécules et celui de leur réactivité dans des conditions simulant plusieurs paramètres caractéristiques de la Terre primitive et de ses environnements hydrothermaux sous-marins.

Dans la **première partie**, nous proposons un état de l'art des connaissances sur l'origine de la vie sur Terre et plus particulièrement sur les nombreuses études d'adsorption des nucléotides et de polymérisation des acides aminés.

Dans la **seconde partie**, nous présentons l'ensemble des méthodes expérimentales et analytiques utilisées et développées lors de cette thèse. Celles-ci sont nombreuses et variées, combinent des approches de chimie analytique, de minéralogie ou encore des techniques expérimentales de haute pression.

Les **parties 3 et 4** détaillent notre étude des mécanismes d'adsorption des nucléotides sur des minéraux en feuillets caractéristiques des environnements hydrothermaux sous-marins primitifs. Plus précisément, la **partie 3** est consacrée à l'étude des comportements des différents monomères de l'ADN et de l'ARN lors de leur adsorption sur un ensemble de minéraux en feuillets de compositions et de structures variables, aux conditions ambiantes de pression et de température. L'effet du pH, étant un des paramètres discriminants des différents types de systèmes hydrothermaux sous-marins, a également été étudié. Cette vaste exploration est présentée sous la forme d'un papier publié dans la revue *Geochimica et Cosmochimica Acta*.

La **partie 4** quant à elle s'intéresse à l'impact de la chimie de l'océan primitif et de l'interaction des fluides avec la roche environnante. Il s'agit d'étudier les effets de la composition et de la concentration en sels sur l'adsorption des nucléotides sur les minéraux en feuillets. Ce travail repose à la fois sur une approche macroscopique, classique en adsorption, et sur l'étude structurale du comportement des colloïdes minéraux en fonction des sels présents dans le milieu étudié. Ces résultats sont retranscrits dans un papier soumis au journal de la société américaine de chimie *Langmuir*. Les **parties 3 et 4** ont permis de compléter, préciser, généraliser et parfois corriger l'ensemble important d'études d'adsorption publiées depuis les années 1960. Ces études présentent en effet des résultats disparates, parfois contradictoires et souvent difficilement comparables les uns aux autres tant les méthodes utilisées sont différentes. Nos travaux, reprenant à la base l'exploration des effets de la minéralogie et des conditions physicochimiques sur l'adsorption des nucléotides, nous paraissent être pour l'avenir un point de repère important.

La **partie 5** quant à elle s'intéresse à l'effet des conditions hydrothermales et des surfaces minérales sur la réactivité du plus simple aminé protéinogène, la glycine. Nous avons utilisé pour la première fois dans ce domaine une technique d'analyse *in situ* de spectroscopie Raman couplée à une cellule à enclumes de diamants. D'une part, cette méthode résout de nombreux débats inhérents aux études *ex situ* précédemment réalisées : la stabilité des molécules organiques et la cinétique des réactions en conditions de haute pression et haute température. D'autre part, l'exploration de conditions de pressions plus fortes que dans les précédents travaux nous a permis de découvrir une pression critique au-delà de laquelle le système

chimique est inactivé. Ces résultats sont présentés sous la forme d'un papier préparé pour une soumission aux *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*.

La **partie 6** présente les conclusions générales de ce travail de thèse et les perspectives qui en résultent.

Références

Bernal J. D. (1951) *The Physical Basis of Life*., Routledge and Paul, London.

Corliss J. B., Baross J. A. and Hoffman S. E. (1981) An hypothesis concerning the relationship between submarine hot springs and the origin of life on Earth. *Oceanol. Acta* **4**, 9.

Darwin C. (1859) *On the origin of species by means of natural selection, or, the preservation of favoured races in the struggle for life*. ed. J. Murray, London.

Haldane J. B. S. (1929) The origin of life, rationalist annual (reprinted in Haldane, JBS, science and life, with an introduction by Maynard Smith, J (1968)).

Oparin A. (1924) Proiskhozhedenie Zhizni. Moscow: Mosckovskii Rabochii. *Repr. Transl. Bernal JD (ed). Orig. life.*

Watson J. and Crick F. (1953) Molecular structure of nucleic acids. *Nature.* **171**, 737–8.

Woese C. R., Dugre D. H., Saxinger W. C. and Dugre S. A. (1966) The molecular basis for the genetic code. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **55**, 966–74.

Woese C. R., Kandler O. and Wheelis M. L. (1990) Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **87**, 4576–4579.

PARTIE 1 - ETAT DE L'ART

L'Astrobiologie, ou exobiologie dans la langue de Molière, cherche à comprendre l'histoire de la vie dans l'Univers. Cela inclut la recherche des conditions nécessaires (mais possiblement non suffisantes) à l'émergence de la vie, l'origine et l'évolution de la vie sur Terre et la recherche de conditions d'habitabilité et des traces de vie extraterrestre. C'est une approche très multidisciplinaire qui fait appel aux connaissances de la biologie, de la physique, de la chimie et des sciences de la Terre et de l'Univers (**Domagal-Goldman et al., 2016**).

Ce chapitre tente de résumer l'état de l'art de ce vaste domaine aux cultures scientifiques très différentes, au travers d'un aperçu non exhaustif, mais objectif, de nos connaissances actuelles sur le sujet.
Au sein de cette discipline, c'est synthétiser l'étude des origines de la vie et ses problématiques essentielles jusqu'à aujourd'hui qui nous intéresse particulièrement. Ceci peut débuter par la constatation que nous manquons toujours d'une définition précise de la vie. Nous tenterons de donner quelques clés de compréhension de ce phénomène.

Qu'est-ce que la vie ?

Reconnaître et différencier le vivant du non-vivant semble être une capacité partagée par tous les êtres humains, et peut-être par tous les êtres vivants (**Gayon, 2010**). Cette intuition ne nous est pourtant pas d'une grande utilité lorsqu'il s'agit de donner une définition de ce qu'est la vie. Paradoxalement, la biologie qui s'intéresse au vivant ne définit pas précisément son objet d'étude. Il a toujours été sous-entendu que l'on savait ce qu'était la vie et que la biologie ait à expliquer son histoire ou à comprendre les lois qui la régissent. Mais en l'absence de définition, l'apparition des domaines de l'astrobiologie ou de la vie artificielle a entrainé quelques difficultés de communication entre les scientifiques de différentes communautés mais également avec le grand public.
Pour des raisons pratiques, les scientifiques se sont alors penchés sur l'élaboration d'une définition simple de la vie, qui regroupe l'ensemble des théories actuelles du vivant et propose des tests opérationnels, des critères qui discrimineront effectivement les êtres vivants du reste. C'est donc le besoin d'hypothèses empiriquement vérifiables qui guide cette définition, puisque notre intuition n'est pas infaillible et le doute récurrent quand on en vient à l'étude des cas limites. Y-a-t-il donc une « règle d'or », un ensemble de caractéristiques universelles (non terra-centrées) qui puissent définir la vie ? Selon Benner (**2010**), la question est passionnante et révélatrice pour l'astrobiologie. Toute tentative de définition de la vie serait construite au

travers du prisme de la théorie du vivant chère aux instigateurs de cette définition. Ainsi, la simple proposition d'une définition du vivant rend compte des chemins que l'on pense envisageables pour générer les caractéristiques du vivant que l'on conçoit comme étant les plus importantes. Les caractéristiques du vivant qui paraissent essentielles sont presque uniques à chaque communauté étudiant la vie, conduisant à la multiplication des définitions. Lazcano (**2008**) propose une synthèse passionnante des différentes théories du vivant et de leurs liens avec les découvertes scientifiques et systèmes de pensée des époques auxquelles elles sont associées. Les biologistes décriront la théorie cellulaire, associée à la compartimentalisation, au métabolisme et aux protéines ; les chimistes préféreront la théorie du carbone réduit ou du système auto-entretenu thermodynamiquement ouvert ; les évolutionnistes souligneront l'importance de l'évolution darwinienne et l'histoire sans fin qui résulte de la réplication imparfaite du matériel génétique (**Benner, 2010**). Toutes les définitions qui sont proposées sont intimement liées à la pensée philosophique occidentale sur la vie : l'animisme d'Aristote, la mécanique de Descartes ou encore l'organisation de Kant. Pourtant, certains auteurs suggèrent que les scientifiques sont encore très dépendants de leur intuition sur le vivant (**Gayon, 2010**). En 1992, le programme d'Astrobiologie de la NASA a adopté la définition opérationnelle suivante, pragmatique, et que nous suivrons en connaissant ses avantages et ses limites :

« La vie est un système chimique auto-entretenu capable d'évolution darwinienne. »

Cette définition évite les écueils les plus communs et comporte une théorie du vivant forte, offrant alors de nombreux critères pour reconnaître la vie (**Benner, 2010**).

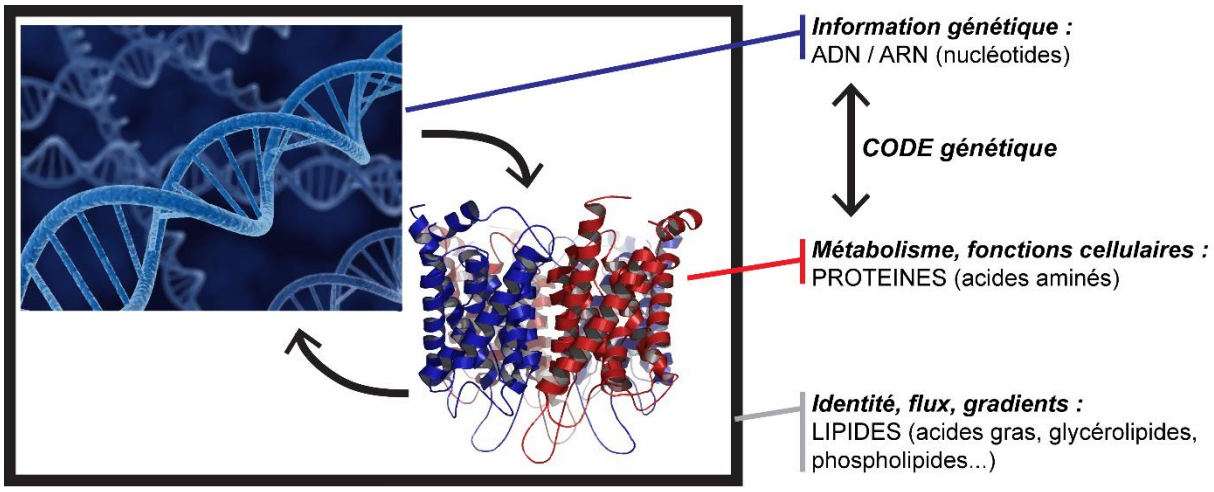


Figure 1 : Représentation schématique des propriétés essentielles du vivant et des molécules de bases associées.

Critères et bases moléculaires du vivant

Le vivant peut être résumé à quelques-unes de ses propriétés essentielles et globalement partagées (**Figure 1**). La vie est cellulaire. Son *identité* est permise par la compartimentalisation au sein de membranes lipidiques amphiphiles, individualisant la cellule et la différenciant de son environnement. Cette membrane permet le maintien de flux et de gradients nécessaires à la régulation de l'activité cellulaire et à son adaptation. La *machinerie cellulaire,* comprenant le métabolisme, est basée sur le fonctionnement d'enzymes. Ces enzymes sont des protéines, constituées de l'enchaînement d'acides aminés par liaisons peptidiques (**Figure 2A**). Cette machinerie est régulée par l'*information génétique* stockée par l'ADN (acide désoxyribonucléique). Les protéines permettent quant à elles l'expression, la préservation et la reproduction de cette information génétique. L'expression passe par la production d'ARN messager (acide ribonucléique). L'ADN et l'ARN sont des polymères formés par l'enchaînement de nucléotides liés par liaisons phosphodiesters (**Figure 2B**). Le lien entre les protéines et le couple ADN/ARN est donc étroit. D'une part, c'est l'expression de l'information génétique qui permet le fonctionnement des protéines mais c'est aussi l'activité des protéines qui permet le maintien et l'expression de l'information génétique. D'autre part, l'expression de l'information génétique passe par un code génétique qui traduit l'information contenue dans l'ADN en protéines fonctionnelles. Le code génétique universel donne la correspondance entre un codon, unité d'information de l'ADN et de l'ARN, et un acide aminé, unité structurale des protéines.

L'émergence des protéines, de l'ARN et de l'ADN semblent donc être des étapes essentielles à l'apparition de la vie.

Protéines, ARN ou ADN ? Quelle molécule émerge la première ?

Un débat central recouvre la définition du vivant énoncée ci-dessus et divise la communauté des astrobiologistes. D'un côté, Oparin (**1924**) et Haldane (**1929**) ont souligné l'importance des cycles métaboliques et l'émergence des vésicules dans ce qui est devenu la théorie « *protein-first* ». De l'autre, Rich (**1962**) propose la théorie « *genetic-first* », focalisée sur des macromolécules aux capacités auto- et hétérocatalytiques et pouvant stocker une information génétique. De cette seconde proposition est née la théorie du « monde à ARN » (**Gilbert, 1986**) renforcée par la découverte d'ARN catalytiques que sont les ribozymes. Un camp soutient donc

une origine métabolique et protéique de la vie, alors que l'autre préfère penser un « monde à ARN » dans lequel cette molécule jouerait le double rôle de modèle à la réplication et d'opérateur catalytique.

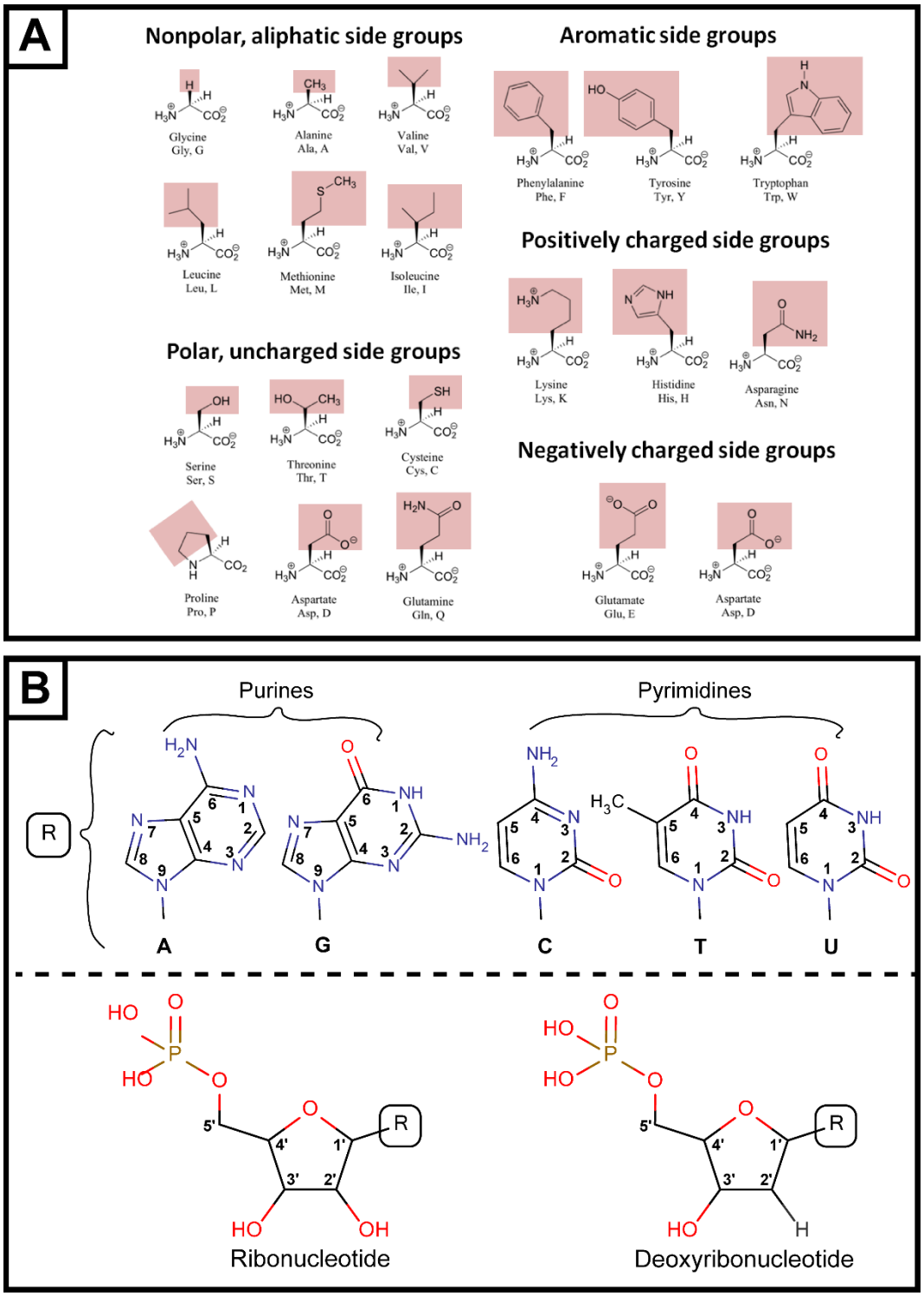


Figure 2 : Briques élémentaires du vivant. A) Les 20 acides aminés protéinogènes. B) Ribo- et désoxyribonucléotides.

La théorie *protein-first* privilégie la vision fonctionnelle du vivant. L'origine de la vie devient alors l'émergence de l'individualité (**Gayon, 2010**). Les grandes lignes de cette théorie reposent sur plusieurs progrès expérimentaux. Les expériences de synthèse prébiotique ont montré qu'il était relativement simple d'obtenir des quantités raisonnables d'acides aminés avec un spectre d'abondance proche de celui d'une protéine moyenne (**Kauffman, 1991; Hennet et al., 1992**). Par ailleurs, cette théorie a été appuyée dans les années 1960 par la découverte de protéinoïdes. Fox démontre la formation spontanée de structures quasi-protéiques formant des vésicules en solution (**Fox and Waehneldt, 1968**). Ces protéinoïdes présentent une variété d'activités catalytiques faibles et non spécifiques au sein de microsphères qui sont des volumes fermés pouvant fusionner, se diviser. La membrane de protéinoïdes semble perméable à la diffusion de petites molécules et peut développer un potentiel électrique trans-membranaire. Ces résultats sont aujourd'hui très débattus, mais il a été suggéré que ces microsphères puissent s'apparenter à des proto-cellules. Des travaux plus récents suggèrent que les métabolismes primitifs aient pu être intimement liés au monde minéral et plus particulièrement aux sulfures et aux métaux de transitions associés. Des cycles métaboliques primitifs auraient pu évoluer spontanément au contact de ces minéraux, permettant l'exploitation des gradients redox et de l'énergie des systèmes hydrothermaux dans lesquels ils se forment. Cela aurait pu initier une vie en deux dimensions (**Wächtershäuser, 1988; de Duve and Miller, 1991**) ou au sein de microvolumes formés par la précipitation d'alvéoles minérales (**Russell et al., 1994; Russell, 2007**).

La théorie alternative *genetic-first* insiste sur les relations de parenté entre populations (**Gayon, 2010**). La vie telle que nous la connaissons est universellement composée d'ADN et d'ARN, molécules s'assurant du stockage et du transfert de l'information génétique. La capacité de ces molécules à former un modèle de réplication, par complémentarité de brin à l'échelle du monomère, en fait de bons candidats en tant que premières molécules réplicantes. L'enthousiasme pour un monde à ARN a été soutenu par la découverte de trois réactions catalysées par des séquences d'ARN, à savoir la trans-estérification, la ligation et le clivage (**Kruger et al., 1982a; Kruger et al., 1982b**). De ces découvertes est ressortie l'idée que l'ARN puisse jouer le rôle d'une polymérase et d'un catalyseur. Cette deuxième théorie, comme la première, a son lot d'obstacles et de difficultés. Contrairement aux acides aminés, la synthèse de nucléotides et même de précurseurs des nucléotides est délicate dans les conditions prébiotiques. La synthèse d'ARN ou d'ADN et la réplication non-enzymatique d'une séquence arbitraire de ces molécules ne sont pas encore accomplies en laboratoire.

Il existe également des problèmes communs à ces deux théories. Un système ne se reposant que sur un type unique de molécules doit évoluer rapidement afin de créer la relation intime qui existe entre les deux groupes de polymères que sont les acides nucléiques et les protéines, liés par le code génétique. Ces deux vues sont certes différentes, mais ne doivent pas être considérées comme mutuellement exclusives.

Quelques pistes tentant de dépasser ces deux théories peuvent être soulignées. Kauffman (**1991**) suggère que l'ADN et l'ARN, et les protéines doivent cesser d'être vus comme des antagonistes et devenir complémentaires. En effet, si une théorie génétique doit inventer un code et des protéines, une théorie protéique doit inventer la traduction et les gènes. Ce problème a semblé suffisamment important pour envisager d'unifier les deux théories. Kauffman, au travers du prisme de l'étude des propriétés émergentes des systèmes complexes, propose : « *Lors de la complexification d'une population de polymères aux propriétés catalytiques, un seuil critique de complexité peut être atteint au-delà duquel il existe une probabilité forte qu'existe un sous-système de polymères au sein duquel la formation d'un membre soit catalysée par un autre membre du même sous-système. Un tel groupe de polymères serait auto-catalytique et ceux-ci se reproduiraient collectivement. Je propose donc une nouvelle vision, terriblement simple : la vie est une propriété prévisible, collectivement auto-organisée des polymères catalytiques.* » Selon cette idée, ADN/ARN et protéines, les deux formes primitives de vie, coévoluent en symbiose. Il devient alors important de comprendre comment elles peuvent être couplées dans un même environnement et être soumises à la même histoire.
Un point de vue focalisé sur les propriétés chimiques des molécules du vivant a conduit l'équipe de Hud à s'intéresser à la synthèse et la réactivité de « proto-ARNs ». Ces molécules auraient des propriétés similaires à l'ARN mais leurs voies de synthèse prébiotique seraient plus simples (*e.g.* **Hud, 2017**). Une fois ce système simple mis en place, un chemin évolutif des systèmes génétique et métabolique serait envisageable. L'ARN serait un produit de l'évolution chimique et son origine succéderait au développement d'une molécule auto-réplicante.

Par ailleurs, tous ces scénarios impliquent de questionner l'existence, la durée et les caractéristiques du système chimique primitif d'intérêt (monde à ARN, métabolisme primitif, proto-ARN…) (**Dworkin et al., 2003; Russell et al., 2010; Hud, 2017**). La probabilité d'existence de tels scénarios dépend de la disponibilité des briques élémentaires, de leur réactivité et de l'émergence spontanée de systèmes plus complexes possédant les

caractéristiques envisagées. Tout ceci est contraint par nos connaissances de l'environnement primitif et de la durée potentielle de l'évolution prébiotique conduisant à l'émergence de la vie.

Il nous paraît donc important de revenir sur les traces du vivant, préservées dans l'enregistrement géologique et d'en tirer des informations chronologiques sur les grandes étapes de l'évolution des premières formes de vie et les environnements primitifs qui y sont associés.

LUCA et l'histoire de la vie : Chronologie et environnements potentiels des premières traces de vie

L'enregistrement de biosignatures primitives (> 4,0 milliards d'années [Ga]) et des premières traces de vie est parcellaire à cause de la très faible préservation de roches de cette époque. Pourtant, des efforts de recherche de biosignatures ont permis l'accumulation de preuves suggérant l'existence d'une biosphère développée dès 3,8 Ga, et de premières traces de vie de plus en plus anciennes, remontant potentiellement à 4,1 Ga.
Les biosignatures primitives peuvent être séparées en plusieurs groupes : les microfossiles, les structures biogéniques et les signatures chimiques (**Figure 3**).

Les cherts archéens australiens de Strelley Pool et d'Apex Chert, qui sont des roches siliceuses datées à environ 3,46 Ga, ont livré très tôt de nombreuses structures allongées et segmentées de plusieurs dizaines de micromètres de long (**Figure 3A**). Elles ont été interprétées par Schopf (**Schopf and Packer, 1987**) comme étant les microfossiles les plus anciens découverts et la roche siliceuse associée, peu métamorphisée, a été interprétée comme provenant de dépôts hydrothermaux sous-marins de faible profondeur. Ces travaux ont été vivement critiqués, et la biogénicité des structures décrites a été contestée. Il n'y a à notre connaissance toujours pas de consensus sur ce cas particulier (*e.g.* **Schopf and Kudryavtsev, 2012; Wacey et al., 2016**). La délicatesse des structures étudiées, la métamorphisation et le degré de préservation des roches, l'existence de processus abiotique formant spécifiquement ces structures en laboratoire rendent la discrimination biogénique/abiotique généralement difficile. La biogénicité n'est souvent prouvée qu'au terme de longues analyses combinant des techniques de microscopie, de spectroscopie à haute résolution et de géochimie isotopique et élémentaire (**Brasier et al., 2015**). Les cas les plus récents de découvertes de telles structures proposent la présence de microfossiles sous la forme de microtubules d'hématite dans des roches ferrugineuses sédimentaires du Nuvvuagittuq, au Québec (**Dodd et al., 2017**). Ce microfossile potentiel serait

daté entre 3,7 et 4,2 Ga. Les auteurs interprètent son environnement de formation comme étant un système hydrothermal sous-marin primitif.

Une précaution doit être ajoutée. Du fait de la faible proportion de roches archéennes à la surface de la Terre et de leur préservation généralement faible, avec des degrés métamorphiques plus ou moins avancés, l'environnement de vie supposé de ces nombreux premiers fossiles pourrait souffrir de biais d'échantillonnage et/ou de préservation : les modes de fossilisation rapides au sein des environnements hydrothermaux et l'abondance relative de ces roches dans le registre géologique pourraient favoriser l'interprétation que la vie primitive est associée à ces environnements.

Un autre type de biosignature est la préservation de structures biogènes macroscopiques (**Figure 3B**). Le développement de communautés microbiennes modifie généralement le microenvironnement de ces organismes et favorisent la précipitation de phases minérales, typiquement des carbonates, et l'encroûtement des tapis microbiens. Les cycles d'encroûtement et de croissance des microorganismes forment des roches bio-induites nommées stromatolithes (au sens large ici). Ces structures ont été décrites au sein de roches sédimentaires dans les cherts australiens de North Pole à 3,45 Ga (**Walter et al., 1980**) et dans la ceinture supracrustale d'Isua dans des dépôts de métacarbonates à 3,7 Ga (**Nutman et al., 2016**). De la même manière que pour les microfossiles, interpréter le caractère biogénique de ces structures requiert quelques précautions.

Le dernier type de biosignature que nous aborderons est la signature chimique (**Figure 3C**). De nombreux auteurs exploitent l'enrichissement de roches ou de minéraux en molécules organiques à des degrés de conservation variables. Cela peut aller de biomolécules transformées par métamorphisme en géomolécules, au subtil enrichissement en isotope léger du carbone en lien avec la photosynthèse ou la méthanogenèse. Les roches archéennes et les minéraux hadéens peuvent contenir des traces de kérogènes mais ceux-ci sont généralement interprétés comme des contaminations postérieures (**Wacey et al., 2016**). Les traces chimiques sont plutôt liées à la présence de nodules de graphites dans des roches ou des minéraux. Il devient alors important de déterminer la formation synchrone de la roche (ou du minéral) et des nodules de graphite. La composition isotopique de ces nodules montre généralement un appauvrissement en carbone 13 et donc une potentielle source biogène autotrophe pour la source de ce carbone graphitique. Mojzsis et al. (**1996**) décrivent un cas encore débattu de nodules de graphite à signature isotopique biogène dans les métasédiments d'Isua à 3,8 Ga. La signature isotopique en zinc de

ces roches d'Isua a été interprétée comme caractéristique de volcans de boues sous-marins (**Pons et al., 2011**). Ces évents hydrothermaux alcalins sont typiques des arcs océaniques similaires à la fosse des Mariannes. Plus récemment, Bell et al. (**2015**) ont analysé des zircons ($ZrSiO_4$) contenant des inclusions micrométriques de graphite datées à 4,1 Ga. Cette biosignature pourrait être actuellement la plus ancienne trace de vie découverte. En revanche, l'inclusion de ce carbone dans un zircon empêche toute interprétation quant à l'environnement de vie des organismes à l'origine de cette signature.

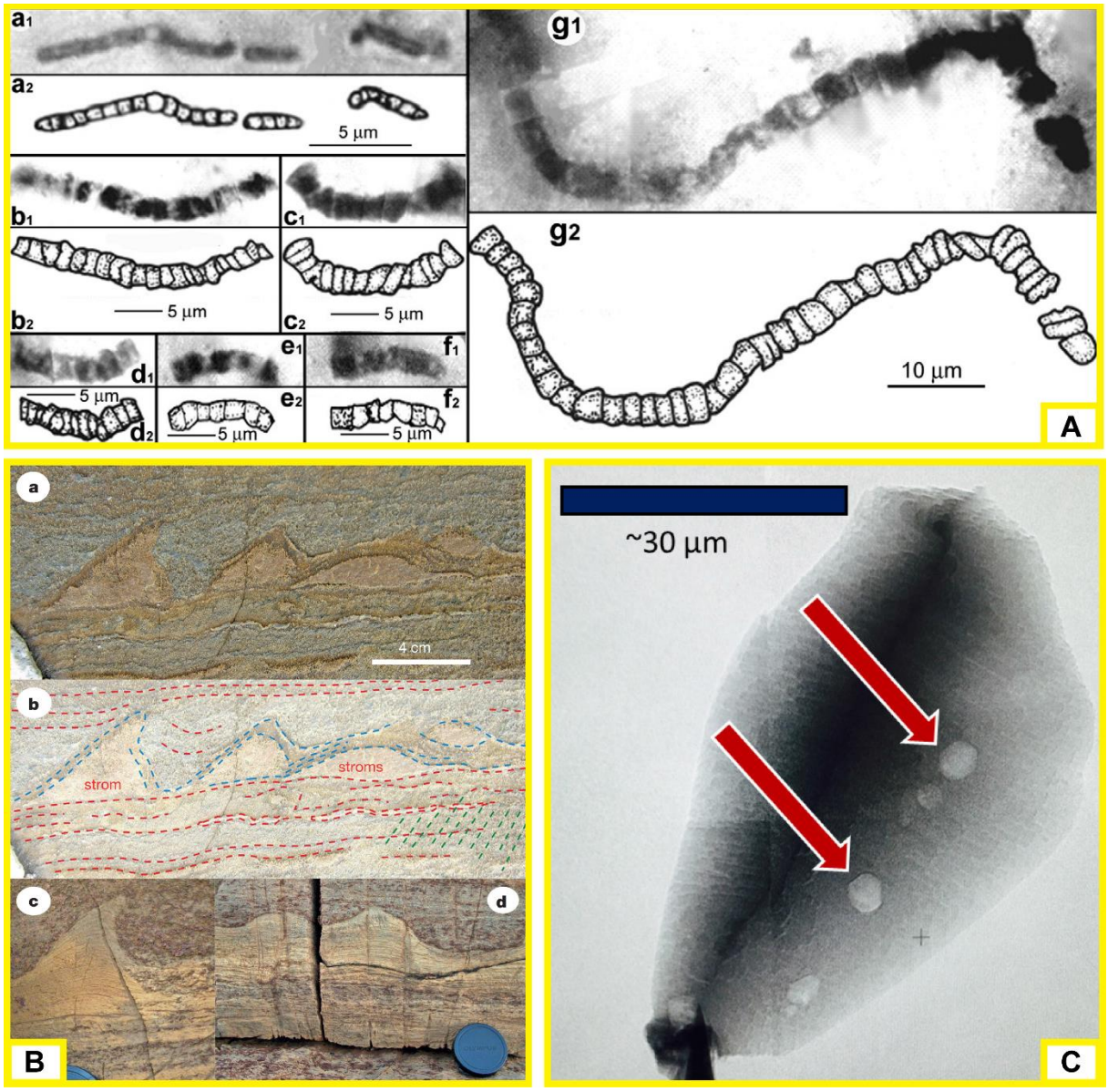


Figure 3 : Exemples de biosignatures. A) Microfossiles, Apex Chert (*Schopf and Packer, 1987*). B) Stromatolites, Isua (*Nutman et al., 2016*). C) Inclusions de graphite dans un zircon (*Bell et al. 2015*).

C'est donc dans un environnement géochimique mal contraint, mais probablement au niveau de systèmes hydrothermaux sous-marins, que se développent et se complexifient les premières

formes de vie. Les premiers organismes, cellulaires ou non, ne possédaient probablement pas de mécanismes homéostatiques permettant de réguler les conditions physico-chimiques de leurs compartiments. Ils devaient être tributaires des conditions environnementales et de leurs fluctuations pour la mise en place de leurs cycles métaboliques. L'environnement primordial dans lequel ces premiers organismes ont évolué et à partir duquel ils se sont adaptés a donc pu laisser des indices, une empreinte, fixés dans les racines profondes du vivant. L'héritage de ces traits primitifs, conservés au moins en partie dans la biosphère actuelle, rend possible l'étude des caractères partagés les plus anciens. L'origine commune des organismes vivants modernes est visible dans le partage de molécules organiques simples (acides aminés, nucléotides), de mécanismes de stockage et de préservation de l'information génétique (ADN et code génétique), de chemins métaboliques très proches dans l'ensemble des branches du vivant, ou encore dans l'abondance et l'utilisation d'éléments inorganiques par les cellules (**Figure 4**).

Ainsi, la compilation et l'étude statistique en bioinformatique de groupes de gènes ou de protéines partagés (*e.g.* **Di Giulio, 2003; Hedges and Kumar, 2009; Weiss et al., 2016**), de noyaux métaboliques primitifs (**Goldford et al., 2017**), ou encore d'empreintes inorganiques dans la chimie cellulaire (**Novoselov et al., 2017**) peut conduire à l'établissement d'un portrait-robot des premières formes de vie et de l'environnement géochimique associé.

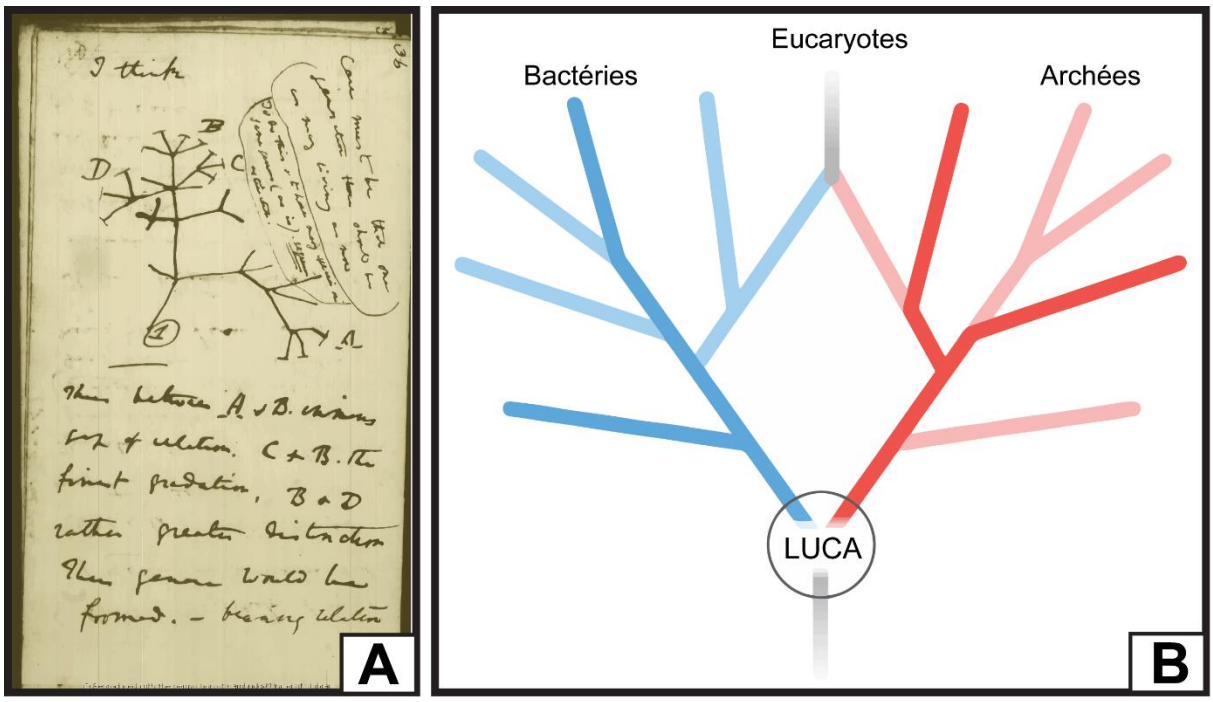


Figure 4 : Evolution de l'arbre du vivant, du croquis de Darwin (A) au nouveau modèle actuel à deux branches (B).

Ce premier organisme modèle, théoriquement à la base des 3 différentes branches du vivant (Archées, Bactéries et Eucaryotes), est nommé le dernier ancêtre commun universel (LUCA). Woese et Fox (**1977**) proposent à l'origine un organisme possédant un faible niveau d'organisation. Ce « progénote » théorique est une entité qui ne possède pas encore de relation forte entre un génome et un phénotype car, principalement, sa compartimentation cellulaire n'est pas achevée. Plus récemment, l'arbre du vivant a été réévalué et il semblerait que les Eucaryotes aient un ancêtre commun procaryote (Archées ou Bactéries, **Figure 4B**). LUCA ne serait l'ancêtre commun que des Bactéries et des Archées (**Williams et al., 2013; Raymann et al., 2015**). De nombreux travaux s'accordent à montrer que LUCA serait au contraire un organisme cellulaire à part entière (**Gogarten and Taiz, 1992; Gogarten and Deamer, 2016**). Les portraits les plus complets suggèrent que LUCA serait thermophile à hyperthermophile, vivant à une température optimale d'environ 80°C (**Di Giulio, 2003; Weiss et al., 2016**). Associé à cette thermophilie, LUCA posséderait un métabolisme autotrophe, anaérobique dépendant de H_2 et permettant la fixation de CO_2 et de N_2. Sa biochimie est basée sur l'utilisation de cofacteurs à base de clusters de FeS et de métaux de transitions (Mo, Ni, Se). Les auteurs de cette étude considèrent ces caractéristiques comme étant typiques des environnements hydrothermaux primitifs (**Figure 5**).
Les travaux récents de Goldford et al. (**2017**) rejoignent partiellement cette idée. Les auteurs se sont intéressés à la possibilité d'un métabolisme primitif ne faisant pas intervenir le phosphate, actuellement essentiel aux réactions cellulaires, mais dont la disponibilité sur la Terre hadéenne et archéenne est débattue (*e.g.* **Pasek et al., 2015; Pasek, 2017**). Goldford et al. ont découvert à partir de la compilation des chemins métaboliques modernes l'existence d'un réseau métabolique primitif indépendant du phosphate et construit autour de cofacteurs de FeS.

Enfin, l'utilisation de modèles d'horloges moléculaires permet d'estimer une date de divergence entre les domaines des Archées et des Bactéries à environ 4,2 Ga (**Battistuzzi et al., 2004; Hedges and Kumar, 2009**). Ceci est en accord avec les dernières découvertes de traces de vie à 4,1 Ga (**Bell et al., 2015**).

L'ensemble de ces données s'accorde à montrer que les premières traces de vie et l'ancêtre commun LUCA étaient fortement liés aux environnements hydrothermaux primitifs.

Qu'en est-il de l'histoire de la Terre et de ses environnements de surface et sub-surfaces, tels qu'ils sont compris au travers du registre géologique ?

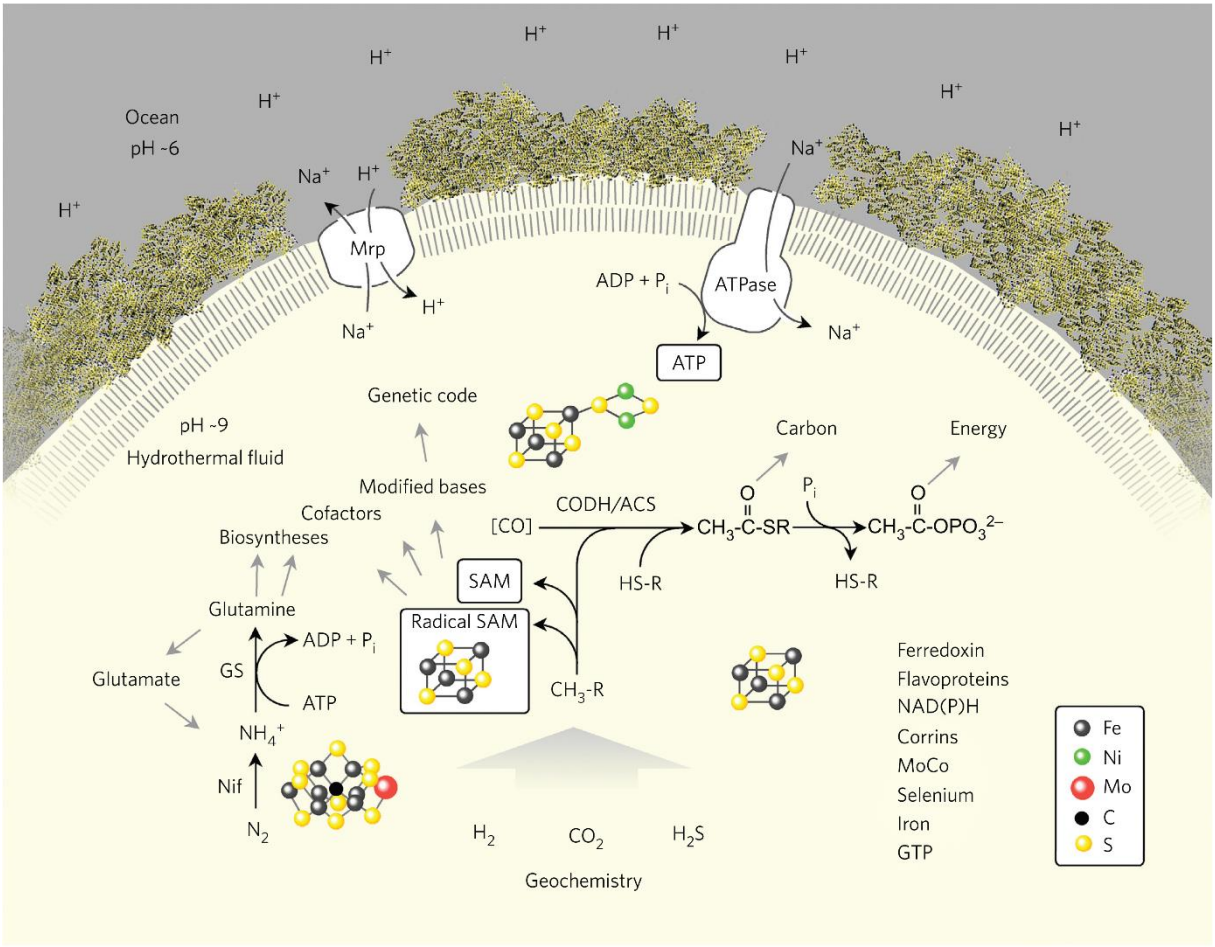


Figure 5 : Reconstruction de LUCA à partir de la compilation de génomes actuels. Weiss et al. (*2016*) proposent un métabolisme à base de H_2, CO_2, CO et H_2S, associé à des cofacteurs de métaux sulfurés, indicateur d'une origine hydrothermale de LUCA.

Etapes de formation de la Terre

La formation des minéraux les plus réfractaires, les CAI (inclusions riches en calcium et aluminium), définit l'âge du système solaire. Celui-ci a été daté par les systématiques Pb-Pb et Hf-W à 4,568 Ga environ (**Burkhardt et al., 2008; Bouvier and Wadhwa, 2010**). La Terre se forme à une distance de 1 unité astronomique du soleil (1 UA = 149,6 millions de km) par accrétion de matériel chaud et pauvre en eau orbitant à proximité (0,8 à 1,2 UA). Vers la fin de cette phase d'accrétion, il est admis qu'un planétésimal de la taille de Mars rentre en collision avec la proto-Terre et forme la Lune, 30 à 55 Ma après la formation du système solaire selon les modèles (**Canup, 2004; Halliday, 2006**). La datation la plus récente donne un âge de formation de la Lune à 4,51 Ga (**Barboni et al., 2017**).

L'énergie libérée lors d'impacts, la radioactivité à courte demi-vie de ^{26}Al et de ^{60}Fe, et l'échange de chaleur latente à la limite noyau-manteau ont pu former un ou plusieurs océans de

magma (**Wood et al., 1970; Labrosse et al., 2007**). Les modèles prédisent une profondeur de 300 à 2000 km (*e.g.* **Labrosse et al., 2007**). Lors de l'évolution de l'océan de magma, le refroidissement, la solidification et le dégazage définissent les conditions initiales pour : (i) la stratification chimique de la planète ; (ii) la composition de l'atmosphère dégazée ; (iii) son régime tectonique. (**Figure 6**)

Selon toute vraisemblance, un océan de magma global cristalliserait complétement en 400 ans à 100 Ma. Cette cristallisation serait retardée de 1 Ma au maximum par écrantage et effet de serre dû à une atmosphère de vapeur d'eau et de 2 Ma si la Lune, plus proche qu'aujourd'hui, a eu un effet de marée important (**Zahnle et al., 2007; Elkins-Tanton, 2008; Lebrun et al., 2013; Massol et al., 2016**).

Les modèles de formation du système solaire s'accordent à dire que l'accrétion planétaire, l'impact de formation de la lune, la solidification de l'océan de magma et la différenciation du noyau terrestre se terminent vers 4,5 Ga (**Canup, 2004**).

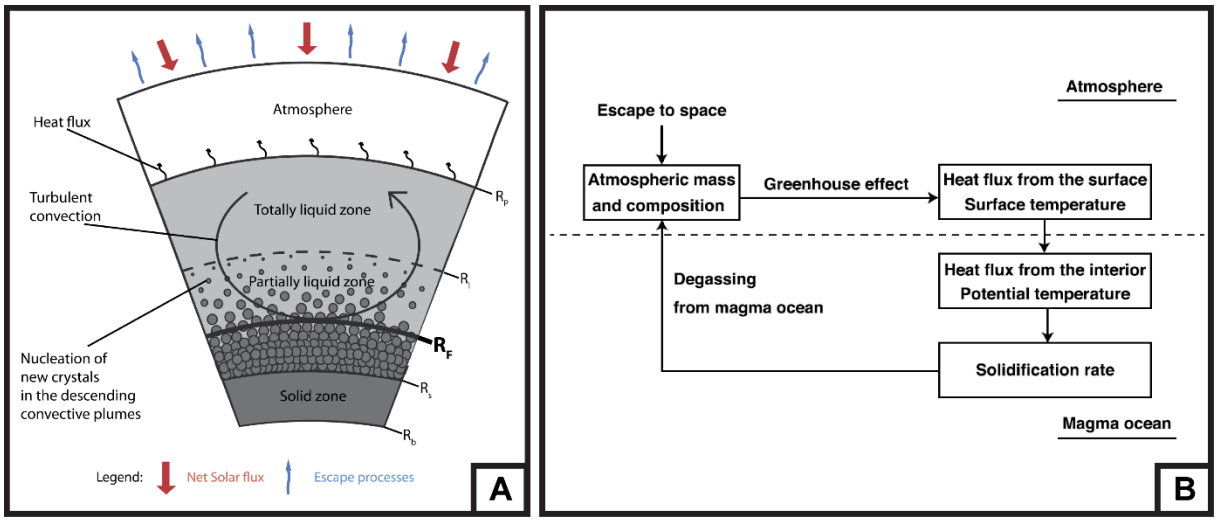


Figure 6 : Modèles de l'océan de magma primitf, d'après Massol et al. (*2016*). A) Représentation schématique de la solidification de l'océan de magma. B) Interactions entre l'évolution atmosphérique et l'évolution de l'océan de magma.

L'accrétion est intimement liée à formation d'une atmosphère primitive par capture de gaz au sein du disque primitif riche en H et He, puis à l'évolution d'une atmosphère secondaire, par dégazage de l'océan de magma et accrétion de corps différenciés. Cette atmosphère a subi une évolution supplémentaire liée à un bombardement tardif de matériel riche en volatile et éléments sidérophiles, environ 100 Ma après la formation du système solaire. L'origine et la composition des corps participant au « vernis tardif » sont encore débattues (**Albarède, 2009; Young et al., 2016**). En fonction de l'outil géochimique utilisé pour les modèles de formation

de la planète, le « vernis tardif » posséderait une signature de corps externe ou interne au système solaire, et serait donc plus ou moins chargé en volatile. Le budget global entre le dégazage primitif de volatile et l'apport supplémentaire est donc variable selon les modèles.

Habitabilité de la Terre hadéenne : évolution de l'hydrosphère, de l'atmosphère

L'Hadéen correspond aux 500 premiers millions d'années d'histoire de la Terre, et par définition, nous ne connaissons pas de roches de cette époque, ce qui en complique l'analyse. C'est tôt dans son histoire que se joue l'habitabilité de la Terre, liée à la condensation d'un océan de manière rapide. Ceci a permis l'hydratation de la croûte primitive, qui a favorisé le démarrage de la tectonique de plaques et la dynamique de surface que l'on connaît aujourd'hui. L'habitabilité est également déterminée par la composition et la pression de son atmosphère, permettant le maintien de températures de surfaces au-dessus de la solidification de l'eau par effet de serre.

L'eau dégazée formant l'atmosphère secondaire et l'eau apportée par le « vernis tardif » condensent en un océan en 1,5 Ma environ (**Lebrun et al., 2013**). Ces résultats sont appuyés par l'analyse géochimique des isotopes de l'oxygène et de la température de formation de zircons datés à 4,3 Ga suggérant la présence d'eau liquide à la surface de la planète (**Mojzsis et al., 2001; Wilde et al., 2001; Watson and Harrison, 2006)**.
Le volume de ces océans dépend de l'état d'hydratation du manteau et a été estimé à une valeur maximale de deux fois le volume actuel (**Albarède, 2009**). Des modèles récents suggèrent que ce volume soit 26% supérieur à l'océan moderne à 3.8 Ga (**Pope et al., 2012**).

Kasting (**2014**) propose une synthèse de nos connaissances sur l'atmosphère primitive et sur les contraintes possibles sur sa composition (**Figure 7**). L'analyse de métaux dont l'état redox contraint la mobilité (V, Cr, Ce…) suggère que le manteau terrestre était partiellement oxydé dès 4,4 Ga. L'atmosphère associée était probablement elle aussi relativement oxydée et riche en N_2 et CO_2, avec des quantités mineures de CO et CH_4. La concentration en CH_4 abiotique est liée au taux de serpentinisation de la croûte et à la conversion de CO_2 en méthane. La concentration de CO augmente dans la haute atmosphère du fait de la photolyse du CO_2, mais peut également augmenter épisodiquement à la suite d'impacts météoritiques ou cométaires. CO peut être à la source de métabolismes primitifs (**Weiss et al., 2016**) ou permettre la formation de composés essentiels à la production des briques élémentaires du vivant (par

exemple le formate $HCOO^-$ par hydratation du CO) (**Russell et al., 2010**). Cela suggère que les épisodes de bombardements dans l'histoire précoce de la Terre aient pu être favorables à l'évolution prébiotique ou au maintien de communautés microbiennes primitives.

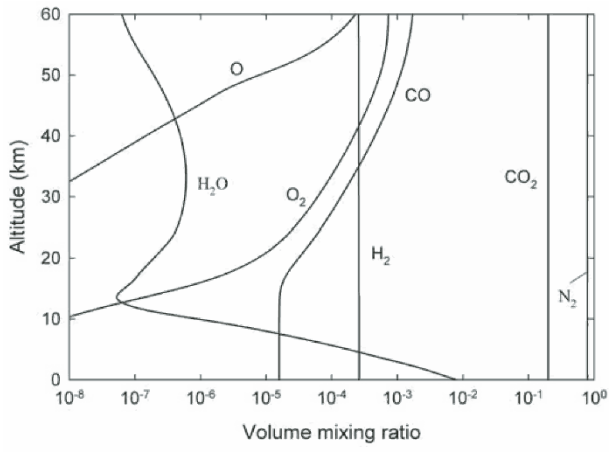


Figure 7 : Un exemple de profils verticaux pour une atmosphère Archéenne modélisée avec une pression de surface de 1 bar (d'après *Kasting, 2014*).

Le « paradoxe du soleil jeune » (**Tajika, 2003**) souligne la difficulté à maintenir de l'eau liquide à la surface de la Terre alors que le soleil est 30% moins lumineux à l'Hadéen qu'aujourd'hui. La pression partielle de CO_2, pouvant atteindre plusieurs bars au début de l'Hadéen, pouvait être suffisante à la mise en place d'un effet de serre conséquent. Cette concentration diminue progressivement par échange avec l'océan et carbonatation des roches de la croûte primitive. A la fin de l'Hadéen, avec un soleil environ 25% moins lumineux qu'aujourd'hui, Kasting calcule une concentration de 0,2 bar de CO_2 pour permettre le maintien d'une température autorisant la présence d'eau liquide de surface.

Habitabilité de la Terre hadéenne : croûte primitive et début de la tectonique des plaques

La nature de la croûte primitive et des régimes tectoniques associés est essentielle à l'origine de la vie. Il est communément admis que la présence d'une croûte différenciée, enrichie en éléments incompatibles, est l'unique moyen de recycler le phosphore et de nombreux éléments ayant un rôle de nutriments pour le vivant (**Pons et al., 2011; Santosh et al., 2017**). Ces éléments sont en général piégés dans la croûte en interaction hydrothermale avec l'océan, et seule l'altération subaérienne d'une roche différenciée permet un retour de ces nutriments dans l'océan.

Les avis sur la nature de la croûte primitive sont divergents (**Figure 8**). La première croûte hadéenne correspond à la cristallisation des dernières fractions de l'océan magmatique. La

plupart des modèles et des études d'échantillons naturels montrent qu'elle est plutôt mafique à ultramafique (riche en Mg, Fe, et pauvre en Si) (**Massol et al., 2016; Reimink et al., 2016; Rollinson, 2017**), mais pourrait présenter une fraction de croûte felsique (riche en Si, Al) importante dès 4,38 Ga (**Harrison, 2009; Harrison et al., 2016)**. Un modèle plus théorique propose une cristallisation de l'océan magmatique similaire aux processus ayant affecté la croûte lunaire : la croûte primitive serait constituée d'une portion anorthositique (roche en Si, Al) et de basalte KREEP (basalte riche en potassium, terres rares, et phosphore) (**Santosh et al., 2017**).

Nous supposerons dans la suite, car cela est en accord avec la plupart des observations, que la croûte primitive était principalement ultramafique. Une fusion partielle de cette croûte est néanmoins nécessaire à la formation de roches différenciées. Ceci implique l'existence précoce d'un régime tectonique présentant quelques affinités avec la tectonique des plaques que l'on connaît aujourd'hui. L'âge des zircons de Jack Hills, leur température de cristallisation relativement basse, leurs inclusions minérales et leurs valeurs isotopiques de l'oxygène suggèrent la présence abondante d'eau et l'hydratation des roches. Ainsi, malgré un géotherme plus élevé qu'aujourd'hui, le phénomène de simili-tectonique des plaques démarre de manière précoce (**Figure 8**). L'analyse de ces zircons de Jack Hills semble donc être en accord avec l'idée de processus similaires aux subductions modernes dès 4,35 Ga (**Watson and Harrison, 2006; Harrison, 2009**). De façon un peu plus nuancée, certains travaux suggèrent la prédominance d'un régime tectonique vertical, la sagduction, accompagné dans des modèles plus récents de déplacements horizontaux de matériel et du chevauchement de blocs au niveau de zones de convergences **(Barbey and Martin, 1987; Martin, 2005; Hastie et al., 2016**).

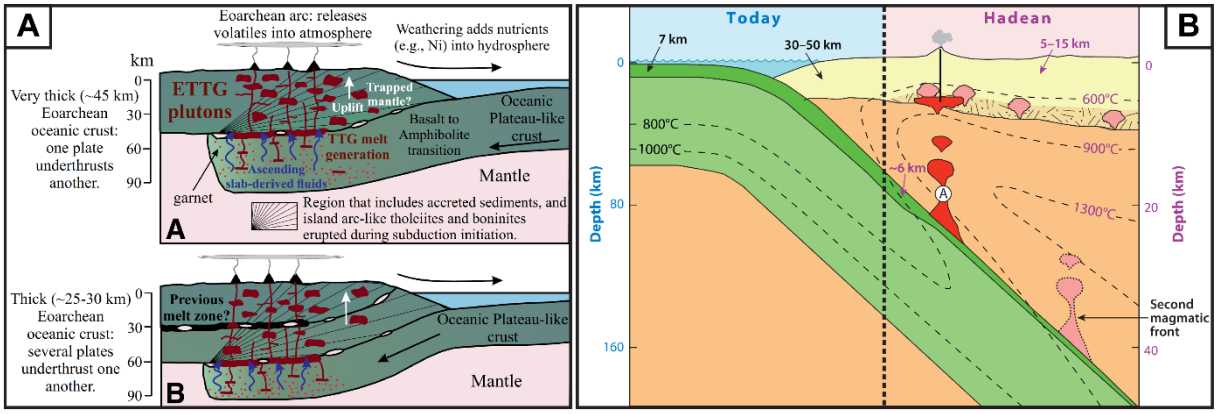


Figure 8 : Deux exemples de modèles de tectonique primitive. A) Sagduction avec une composante horizontale (d'après *Hastie et al., 2016*). B) Subduction hadéenne (d'après *Harrison, 2009*).

Nous proposons donc en guise de compromis qu'une faible portion de la croûte primitive ultramafique refonde au niveau de zones de convergence dans un système comparable aux zones de subduction actuelles dans une moindre mesure. Nous ne discuterons pas des différences majeures des modèles de croissance crustale actuels (résumées dans **Harrison, 2009; Rollinson, 2017**). Ce compromis voudrait qu'un océan liquide existe tôt et que la subduction soit possible sous une forme potentiellement différente jusqu'à environ 4 Ga. La convergence entre des croûtes mafiques primitives qui conduiraient à la formation de magmas, puis de roches enrichies en éléments incompatibles dont le recyclage à la surface permettrait de soutenir un apport de nutriments constants.

Habitabilité de la Terre hadéenne : le bombardement tardif

Le bombardement tardif intense (LHB) est un épisode relativement court (environ 100 à 200 Ma) de bombardement intense du système solaire interne qui a été mis en évidence aux alentours de 3,9 Ga (*e.g.* modèle de Nice, **Gomes et al., 2005; Tsiganis et al., 2005**). Ce bombardement a apporté l'équivalent d'une couche de roche de 2,4 km d'épaisseur à la surface de la Terre (**Kasting, 1990**). Logiquement, un tel épisode pourrait potentiellement vaporiser toute ou partie de l'océan primitif, et stériliser la surface de la planète, en induisant la fusion globale des roches de surface (**Marchi et al., 2014**). Cependant, cette idée est écartée car les observations géochimiques couplées à des modèles théoriques suggèrent que cet épisode n'a pas totalement bouleversé la surface et que des niches favorables au développement et à la conservation de la vie ont été nombreuses **(Abramov and Mojzsis, 2009; Harrison et al., 2016; Massol et al., 2016**).

L'habitabilité globale de la Terre s'en est peut-être trouvée perturbée, mais des conditions de surfaces clémentes, voire froides ont été mise en évidence dans des systèmes hydrothermaux subaériens datés à 3,5 Ga (**de Wit and Furnes, 2016**).

Les conditions favorables à l'émergence du vivant apparaissent donc dès 4,4 Ga environ (**Figure 9**). Si la première trace de vie est effectivement aux alentours de 4,1 Ga, cela laisse moins de 300 Ma à l'évolution prébiotique pour l'apparition de la première forme de vie.

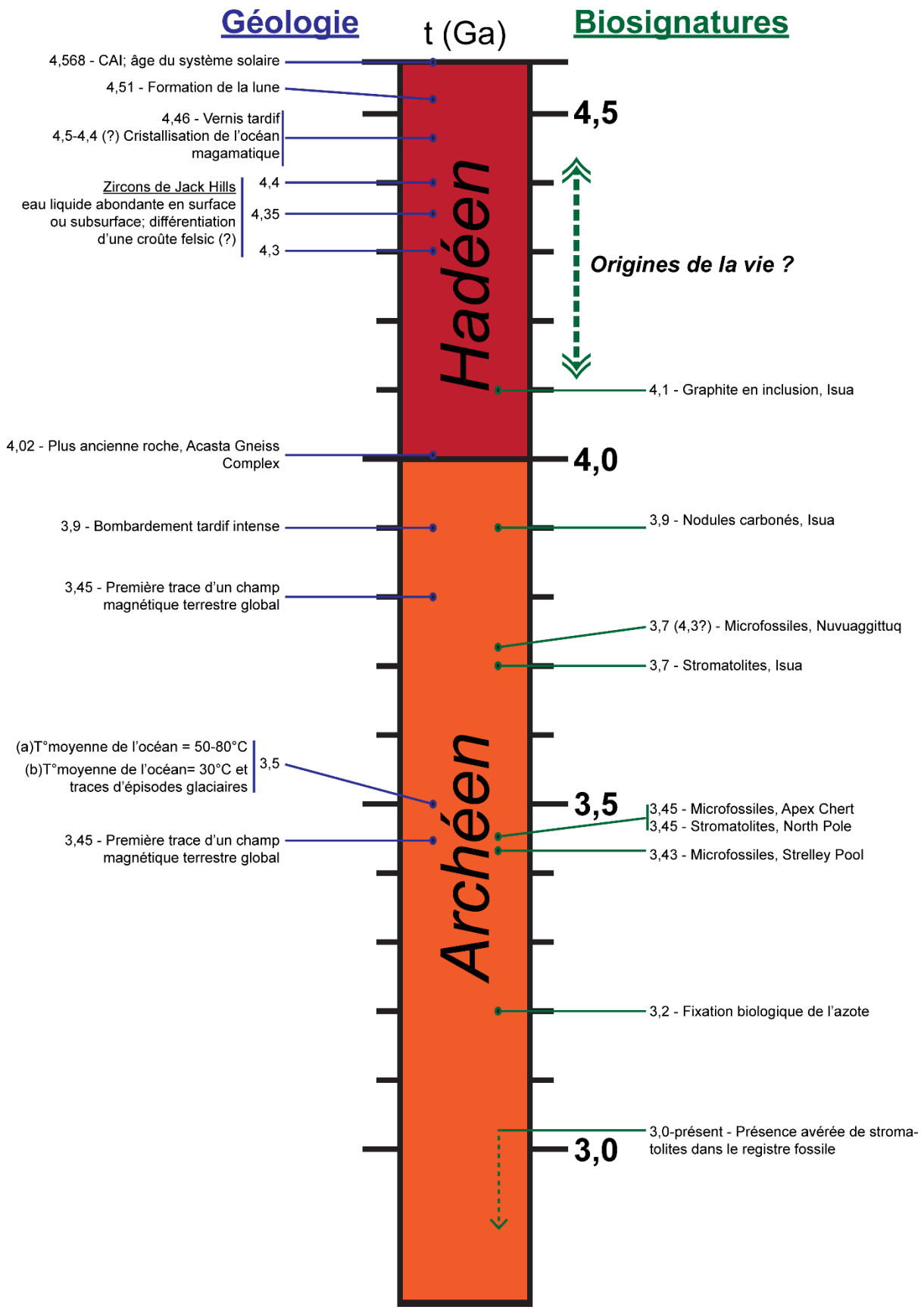


Figure 9 : Proposition d'une chronologie géologique et biologique de l'Hadéenne et de l'Eo-Archéen basée sur une compilation non exhaustive des découvertes de biosignatures, de roches et de traces géochimiques dans le registre géologique (références dans le texte).

Chimie des océans et assemblages minéraux

La courbe hypsométrique de la Terre actuelle est bimodale, de par la tectonique des plaques et la formation de deux croûtes aux chimies très différentes (océanique et continentale). Actuellement, l'océan couvre environ 70% de la surface de la planète. Au cours de l'Archéen, la courbe hypsométrique de la Terre était probablement également bimodale (voir plus haut et **Figure 10**), mais les terres émergées constituaient moins de 5% de la surface terrestre (**Flament et al., 2008; Arndt and Nisbet, 2012**).

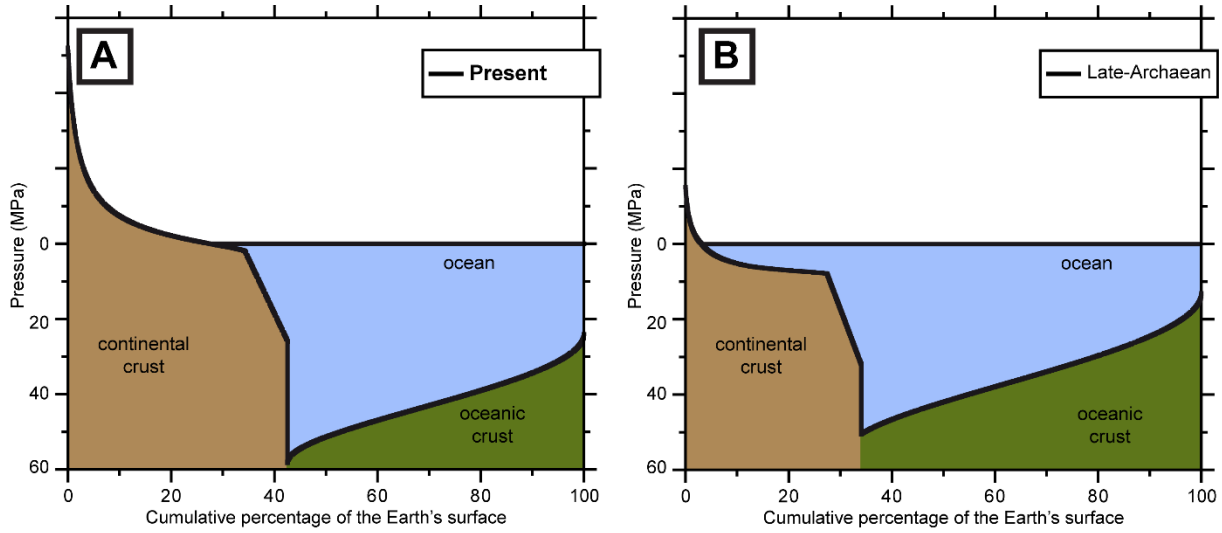


Figure 10 : Courbes hypsométriques de la Terre actuelle (A) et de la fin de l'Archéen (B). Moins de 5% des terres étaient émergées à cette époque primitive et la profondeur océanique moyenne était moins importante qu'aujourd'hui (d'après *Flament et al. 2008*).

Cet océan primitif était concentré en CO_2, par échange avec l'atmosphère (**Kasting, 2014; Schoonen and Smirnov, 2016**). Le pH acide en résultant aurait permis la solubilisation de Fe^{2+} (**Russell and Hall, 1997**). La salinité de cet océan est mal connue, et les valeurs proposées varient de 1,5 à 15 fois la valeur moyenne moderne (**Knauth, 1998; Saito, 2015; Saito et al., 2016**). De plus, le Ca^{2+} aurait pu remplacer Na^{+} dans le rôle de cation majoritaire (**Lécuyer, 2016**). Cet océan carbonaté, de pH acide (océan « soda ») détermine la chimie des minéraux d'altération par interaction eau-roche, et donc potentiellement les processus d'évolution chimique prébiotique. Schoonen et Smirnov (**2016**) obtiennent des modèles d'altération des roches d'intérêt pour l'Hadéen et l'Archéen. Ces modèles montrent principalement que cette altération produit des argiles au fonds des océans, et un mélange de silice et de carbonates dans les environnements subaériens.

Plus précisément, les études d'altération en laboratoire de roches mafiques à ultramafiques (**Humphris, 1978; Mottl and Holland, 1978; Mottl et al., 1979; Seyfried and Bischoff, 1979; Seyfried and Dibble, 1980; Seyfried and Bischoff, 1981; Seyfried and Mottl, 1982; Gysi and Stefánsson, 2012; Shibuya et al., 2013**), ainsi que l'observation d'échantillons naturels (**Ito and Anderson, 1983; Alt and Honnorez, 1984; Buatier et al., 1993; Hunter et al., 1999; Alt and Teagle, 2003; Mével, 2003; Dias and Barriga, 2006; Lackschewitz et al., 2006; Dekov et al., 2007; Augustin et al., 2008; Mas et al., 2008; Martínez et al., 2010; Meunier et al., 2010; Marcaillou, 2011; Hicks et al., 2014; James et al., 2014**) ont montré que les principales phases minérales produites étaient des phyllosilicates (minéraux en feuillets) : des serpentines, des argiles gonflantes (nontronite, saponite) riches en Fe et Mg et de la chlorite. Mais également des sulfates hydratés ou anhydres, des oxydes et hydroxydes de fer (hématite ou magnétite) et des sulfures (pyrite, sphalérite). Ces résultats sont compatibles avec ceux obtenus par Schoonen et Smirnov pour des conditions spécifiquement similaires à la chimie des eaux hadéennes (**Schoonen and Smirnov, 2016**). Ces phases minérales seraient donc les principales formées au niveau des fonds océaniques et plus particulièrement là où l'interaction eau-roche est renforcée, au niveau des zones hydrothermales. Les phyllosilicates ferromagnésiens représentent une fraction essentielle des minéraux d'altération de la croûte ultramafique (**Table 1**).

Environnements hydrothermaux actuels et anciens

Les systèmes hydrothermaux sous-marins sont le résultat d'un transfert de chaleur à l'eau froide océanique infiltrée dans la croûte océanique qui remonte alors par différence de densité. Cette eau hydrothermale réagit avec la roche encaissante et entraîne son altération hydrothermale, l'hydratation de minéraux et la précipitation de nouvelles phases. On distingue plusieurs types de systèmes hydrothermaux (**Figure 12**). Les plus étudiés forment des zones de décharge très localisées, sous la forme de champs de cheminées hydrothermales par exemple ou de volcans sous-marins. Il existe également des zones de décharge beaucoup plus diffuses qui sont plus difficiles à observer. Les systèmes hydrothermaux localisés sont de trois types. Les fumeurs noirs (**Corliss et al., 1979**) forment des cheminées constituées principalement par la précipitation de sulfures de fer, donnant leur couleur noire aux panaches qu'ils rejettent (**Figure 11A**). Les fluides émis sont très chauds (350-400°C), au pH fortement acide (2-3) et chargés en méthane et dihydrogène. Les fumeurs blancs (**Kelley et al., 2005**) forment des cheminées carbonatées et émettent un fluide moins chaud (50-90°C), incolore, au pH fortement alcalin (9-

10) et enrichi en méthane et dihydrogène également (**Figure 11B**). Enfin, les volcans de boue (**Fryer et al., 1995; Mottl et al., 2003**) sont des massifs coniques plurikilométriques constitués de boues de serpentinites. Ils exhalent des fluides froids (2°C), moins salins que l'eau de mer, au pH extrêmement alcalin (12-13) et chargés également en méthane.

Les fumeurs noirs sont situés sur l'axe des dorsales, et les fluides hydrothermaux chauffent au contact des chambres magmatiques associées. Les fumeurs blancs sont localisés en bordure de dorsales lentes, là où la péridotite sous-jacente est exhumée (**Kelley et al., 2005**). Les volcans de boue constituent l'évent de remontées de serpentinites formées à grande profondeur et à basse température. Ces systèmes hydrothermaux actuels sont des hotspots de biodiversité, caractérisés entre autre par des métabolismes primitifs, autotrophes et anaérobiques (**Figure 11C**).

Table 1 : Modèles géochimiques de la formation d'assemblages minéraux secondaires suite à l'altération de différentes roches avec une PCO_2 de 5 atm, ou l'altération d'un MORB en fonction de la PCO_2. Les réactions sont modélisées à 75°C, pour 50 g de roche dans 1 kg d'eau. « Ouvert » et « Fermé » se réfèrent à la possibilité d'échanges de gaz avec l'atmosphère lors de la réaction ou non (d'après *Schoonen and Smirnov, 2016*).

		Assemblage minéral secondaire (wt%)						Fluide	
Conditions	**Type de roche**	**Silice**	**Argile**	**Zéolite**	**Carbonate**	**AlOOH**	**Sulfure**	**Log (Ca+Mg) /(Na+K)**	**pH**
OUVERT	MORB	39,49	0,00	0,00	35,20	14,81	9,58	-1,47	5,97
	Komatiite	32,80	0,00	0,00	58,29	5,78	2,82	-0,26	5,62
	Péridotite	29,32	0,00	0,00	61,76	1,58	7,26	0,17	5,55
	Tonalite	54,10	0,00	0,00	19,61	19,59	6,37	-2,06	6,19
FERME	MORB	0,00	41,48	46,54	10,76	0,00	0,03	-0,82	7,46
	Komatiite	0,00	89,10	0,00	10,79	0,00	0,02	-2,85	9,25
	Péridotite	0,00	88,92	0,00	9,68	0,00	0,02	-2,69	9,37
	Tonalite	4,91	38,93	49,52	6,61	0,00	0,03	-2,84	7,31
Conditions	**PCO_2 (atm)**	**Silice**	**Argile**	**Zéolite**	**Carbonate**	**AlOOH**	**Sulfure**	**log(Ca+ Mg)/(Na +K)**	**pH**
OUVERT	5	39,49	0,00	0,00	35,20	14,81	9,58	-1,47	5,97
	2	5,34	53,22	0,00	30,16	0,51	9,83	-2,15	6,35
	1	5,08	53,66	0,00	30,15	0,34	9,83	-2,53	6,65
	0,1	0,00	26,88	45,72	16,58	0,00	9,76	-2,23	7,17
	0,01	0,00	22,06	54,94	12,02	0,00	9,86	-0,99	7,42
FERME	5	0,00	41,48	46,54	10,76	0,00	0,03	-0,82	7,46
	2	0,00	56,53	29,53	4,64	8,06	0,00	-3,09	10,51
	1	0,00	51,70	44,60	2,42	0,00	0,02	-2,08	10,17
	0,1	0,00	53,90	44,60	0,22	0,00	0,02	-2,24	10,27
	0,01	0,00	54,01	44,71	0,00	0,00	0,02	-2,33	10,33

Au regard de la croûte mafique à ultramafique de l'Hadéen et de l'Archéen, la serpentinisation devait être un processus très étendu spatialement à ces époques. Les volcans de boues devaient donc être abondants en contexte compressif (**Pons et al., 2011**), et les fumeurs blancs nombreux au vu de l'exposition des roches ultramafiques aux eaux océaniques (**Russell and Hall, 1997; Russell et al., 2010**). Les fumeurs noirs étaient probablement toujours présents le long des zones d'accrétion.

Corliss et al. (**1981**) proposent à la suite de la découverte des fumeurs noirs que la vie ait pu apparaître dans de tels environnements. Selon les auteurs, ces systèmes hydrothermaux sont caractérisés par des flux d'énergie thermique forts, des conditions réductrices, la présence de surfaces catalytiques (argiles ferromagnésiennes) et des concentrations importantes de méthane, d'ammoniaque, de dihydrogène et de métaux. Ils supposent que la convection des fluides puisse faire migrer verticalement les produits formés à un site de réaction profond au travers de gradients de température et de composition. Cette migration serait associée à la séquence de réactions suivante : $CH_4 + NH_3 + H_2$ → acides aminés → protéines → polymères complexes → structure organisées possédant un métabolisme → organismes vivants.

La recherche puis la découverte des fumeurs blancs par la suite a relancé cette hypothèse (**Figure 12** et voir **Russell and Hall, 1997; Russell, 2007**). La réaction de serpentinisation produit de grandes quantités de dihydrogène par réduction de l'eau concomitante à l'oxydation du fer :

$$6\ [(Mg_{1,5}Fe_{0,5})SiO_4] + 7\ H_2O \rightarrow 3\ [(Mg_3Si_2O_5(OH)_4] + Fe_3O_4 + H_2$$

Ce dihydrogène peut réduire le CO_2 dissous et former du méthane ou des molécules organiques plus grandes, par réaction de type Fischer-Tropsch (FTT) :

$$CO_{2aq} + [2 + (m/2n)]\ H_2 \rightarrow (1/n)\ C_nH_m + 2\ H_2O$$

Le méthane et les molécules de plus grande masse molaire ainsi formés peuvent participer à la production de briques élémentaires du vivant et de métabolites simples.

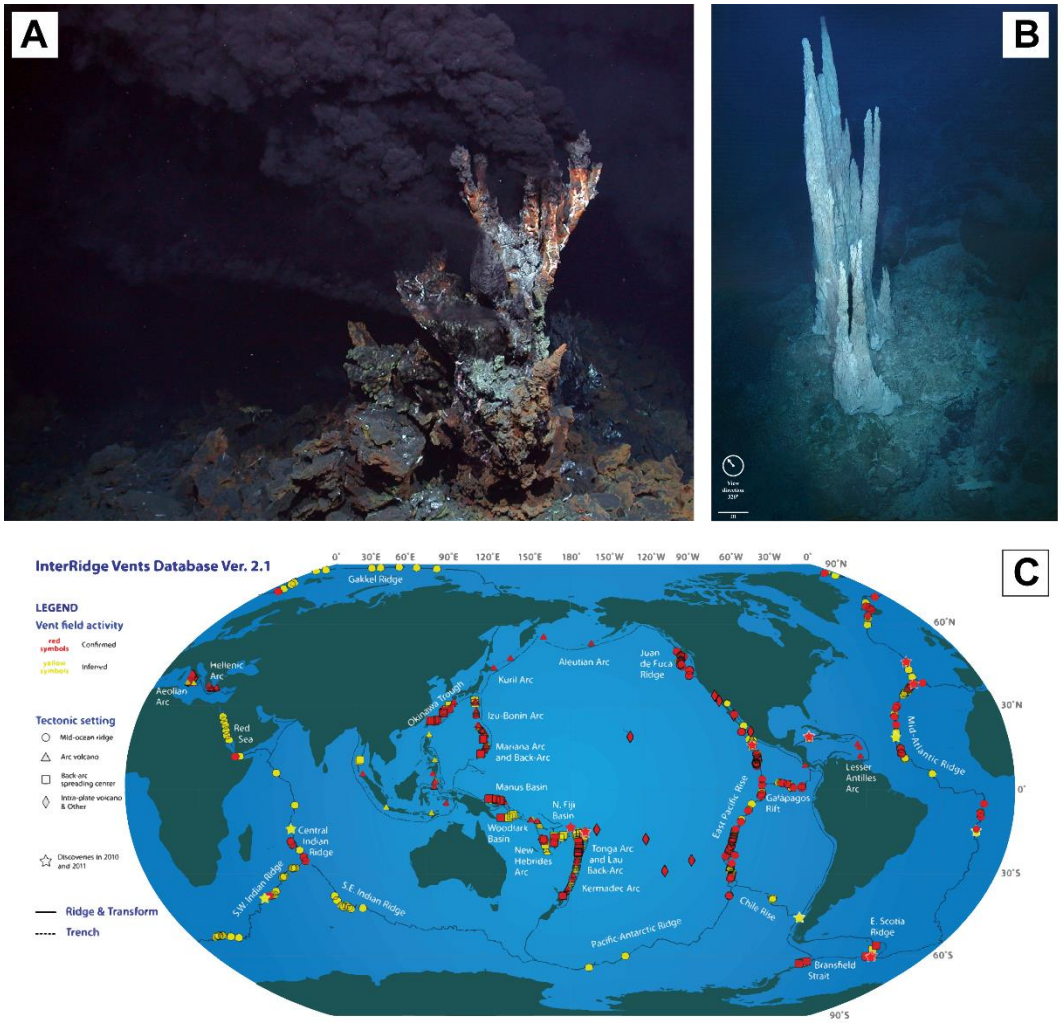


Figure 11 : Photographies d'une cheminée de fumeur noir (A) et de fumeur blanc (B). C) La carte de distribution des sytèmes hydrothermaux sous-marins modernes recensés dans la base de donnée InterRidge Vents. *Crédits images : NASA, NOAA, Woods Hole Oceanographic Institution, InterRidge Vents Database, Version 2.1.*

Synthèse et disponibilité des briques élémentaires du vivant

Ces descriptions récentes de l'environnement prébiotique, principalement oxydé (**Figure 12**), s'oppose à l'idée d'une atmosphère réductrice riche en CH_4 et NH_3 tel qu'envisagée lors des expériences de Miller et Urey (**Miller, 1953; Miller and Urey, 1959**). La synthèse de briques élémentaires de vivant n'est pas aussi simple que proposée par ces auteurs : même si l'activation électrique de molécules réduites volatiles produit des acides aminés, elle ne produit pas de nucléobases (**Wollrab et al., 2015**).

Il a été proposé que les briques élémentaires du vivant aient été délivrées à la surface de la Terre par le flux important de météorites et comètes ayant impacté la planète durant la fin de son

accrétion, au moment du « vernis tardif ». L'analyse détaillée des composés organiques découverts dans les météorites de type chondrites carbonées montre entre autre la présence d'acides aminés (**Cronin and Pizzarello, 1983; Aponte et al., 2016; Elsila et al., 2016**) et de nucléobases (**Martins et al., 2008; Callahan et al., 2011**). La récente mission Rosetta de l'agence spatiale européenne a découvert la présence de glycine et de phosphore dans la coma de la comète 67P (**Altwegg et al., 2016**). Ces observations sont complétées par des progrès considérables en laboratoire sur la chimie de météorites irradiées et de glaces irradiées analogues aux comètes. Le matériel météoritique irradié en présence de formamide a permis la formation d'acides aminés, de sucres, de nucléobases et même de nucléosides (**Saladino et al., 2015**). L'irradiation d'analogues cométaires produit quant à elle de l'aldéhyde, des sucres (dont le ribose), des acides aminés (**Danger et al., 2012; Evans et al., 2012; de Marcellus et al., 2015**). Le choc produit à l'impact peut également permettre la formation de nucléobases et d'acides aminés (**Goldman et al., 2010; Furukawa et al., 2015; Koziol and Goldman, 2015; Umeda et al., 2016**).

Les impacts extraterrestres apportent également du phosphore réduit, sous la forme du minéral schreibersite $(Fe,Ni)_3P$, présent dans les météorites (**Pasek et al., 2015; Pasek, 2017**). Ce phosphore peut ensuite être oxydé dans l'océan primitif et mobilisé pour la phosphorylation des briques élémentaires du vivant.

Les réactions chimiques peuvent être favorisées par la présence de surfaces minérales, catalysant la production d'acides aminés ou de nucléobases (**Orgel, 1998; Bhushan et al., 2016**), la formation de précurseurs de ces molécules (**Montgomery et al., 2011**) ou encore l'allongement de chaînes carbonées (**Williams et al., 2005**).

Enfin, de nombreux auteurs ont étudié la faisabilité de synthèses hydrothermales, en présence ou non de minéraux, d'acides aminés, de nucléobases et de sucres (**Hennet et al., 1992; Marshall, 1994; Alargov et al., 2002; Shock and Canovas, 2010; Zhang et al., 2016**). Récemment, une étude de quartz de Jack Hills, datés à plus de 3 Ga, a montré la présence d'inclusions fluides contenant des molécules organiques (**Schreiber et al., 2017**). Ces molécules comprenant 1 à 15 carbones ont une signature isotopique abiotique. Les auteurs proposent que ces inclusions soient une preuve de la synthèse de molécules organiques complexes par réactions de type Fischer-Tropsch au sein d'un système hydrothermal primitif.

Ces chimies sont pour la plupart basées sur la présence de cyanure d'hydrogène (HCN), de formamide ($HCONH_2$), précurseurs potentiellement présents dans l'environnement prébiotique (*e.g.* **Bada et al., 2016**).

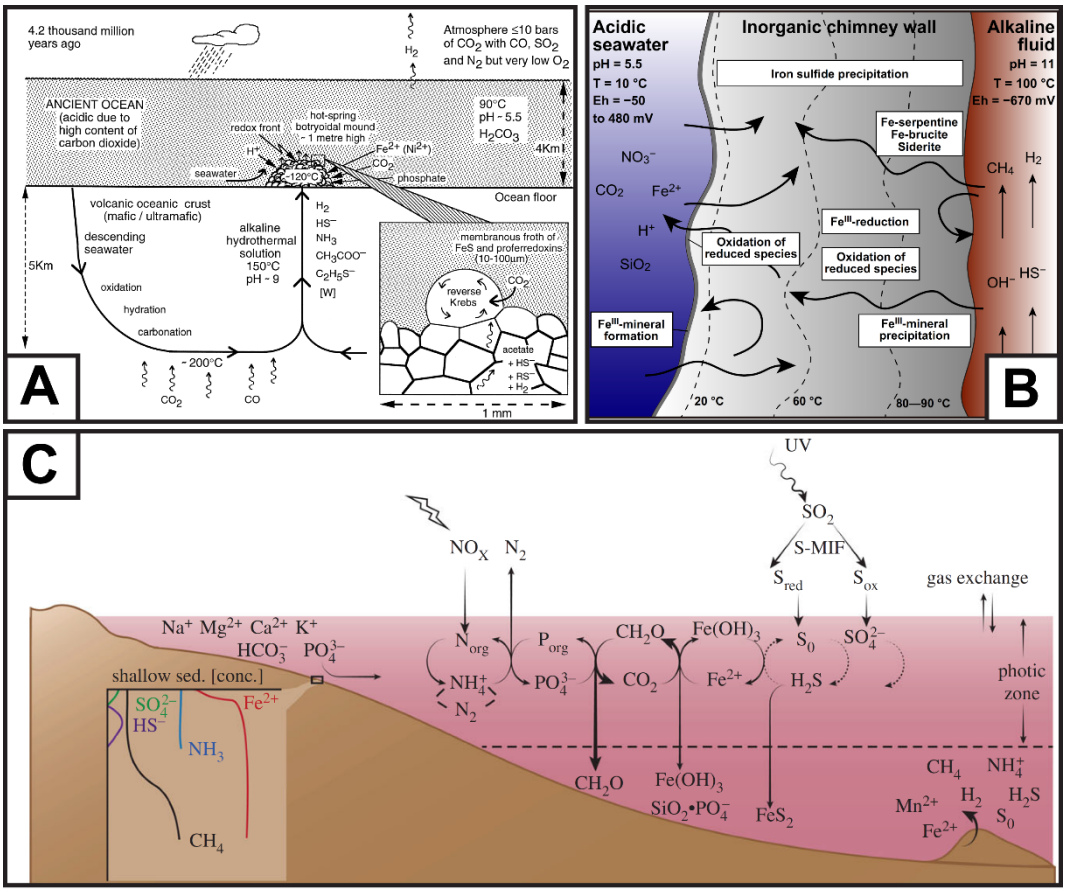


Figure 12 : A) Hypothèse de l'émergence d'un système métabolique primitif lié à un système hydrothermal en contexte de serpentinisation (d'après *Russell and Hall, 1997*). B) Représentation schématique d'une coupe de paroi d'un évent hydrothermal et distribution spatiale des espèces inorganiques et des réactions redox potentielles (d'après *Shibuya et al., 2016*). C) Ecosystème marin Archéen dans l'océan sulfidique. L'épaisseur des flèches indique l'importance écologique des réactions (d'après *Knoll et al., 2016*).

Nous mentionnerons également l'existence d'un débat concernant les modalités de production de ribose par la réaction formose. Cette production produit seulement minoritairement ce sucre, à moins qu'il ne soit stabilisé par une molécule inorganique. Le borate, le phosphate ou la silice ont été testés et il semblerait que le borate soit le plus efficace (**Ricardo et al., 2004; Benner et al., 2012a; Nitta et al., 2016**). De nombreuses critiques sur la disponibilité prébiotique du borate laissent à penser que ce mécanisme n'a pas été essentiel à l'évolution chimique sur Terre. Une autre équipe propose la formation de ribonucléosides activés par la complexation de phosphate aqueux (**Powner et al., 2009; Sutherland, 2016**). Une littérature détaillée sur le

sujet peut être trouvée dans les références suivantes **(Benner et al., 2010; Benner et al., 2012b; Benner et al., 2012a; Sutherland, 2016**).

Polymérisation et dégradation des molécules du vivant

Les protéines et les oligonucléotides sont des molécules fragiles (**Figure 13**). Les réactions de polymérisation formant respectivement les liaisons peptidiques et phosphodiester sont des réactions de déshydratation. La présence d'eau liquide est donc potentiellement limitante pour ces réactions. Par ailleurs, les nucléotides sont particulièrement sensibles aux radiations, qui dégradent les nucléobases aromatiques très rapidement. La fragilité de ces molécules nécessite que leur complexification ait eu lieu dans un environnement protégé des rayonnements type UV, et où l'activité de l'eau peut être faible. Les milieux hydrothermaux sous-marins, en plus des propriétés favorables à l'émergence de molécules complexes listées par Corliss et al. (**1981**), diminuent l'activité de l'eau et ne sont pas soumis aux conditions de radiations fortes de la surface de la Terre (**Figure 12**).

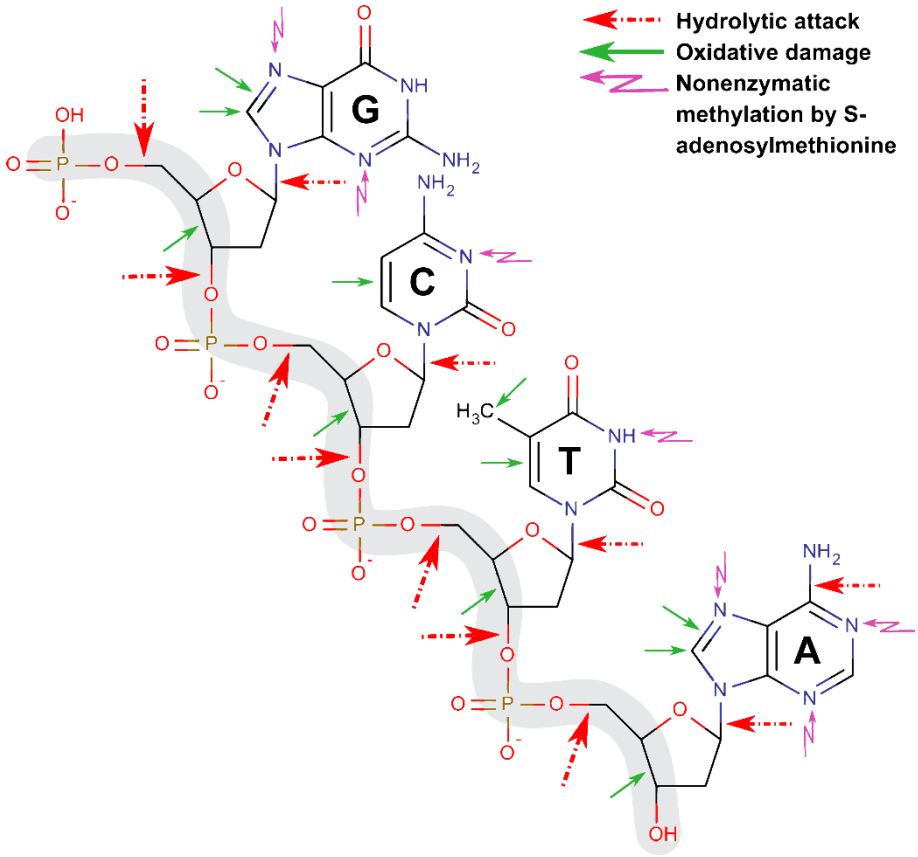


Figure 13 : Principaux dommages que peut subir une molécule d'ADN. En grisé, le squelette du polymère, particulièrement sensible à l'hydrolyse des liaisons phosphodiester (d'après *Lindhal, 1993*).

Adsorption des nucléotides et rôle des surfaces minérales

Il a été proposé que l'adsorption et plus généralement l'interaction de molécules organiques à l'interface minéral-eau aient favorisé la condensation, la concentration et la polymérisation des briques élémentaires de vivant (**Bernal, 1951**).

L'adsorption étant un phénomène de surface, les études se sont rapidement portées sur des minéraux présentant naturellement de grandes surfaces réactives : oxydes et hydroxydes par exemple, mais surtout des phyllosilicates. Les études d'adsorption des nucléotides sont rares, plus fréquentes sont celles de l'adsorption de leurs composants (nucléobases, sucres, phosphate) ou de leurs polymères (oligonucléotides, ARN, ADN).

L'adsorption de ces molécules a été testée sur de nombreuses surfaces minérales : par exemple les oxydes d'aluminium, de titane ou de zinc, la calcite, la goethite, le mica, l'olivine, la pyrite, le rutile, la silice, les hydroxydes doubles lamellaires, le graphite, la zéolite **(Lorenz and Wackernagel, 1987; Holm et al., 1993; Bezanilla et al., 1995; Pontes-Buarques et al., 2001; Sowerby et al., 2001; El Amri et al., 2004; Balint et al., 2007; Arora, 2007; Cleaves et al., 2010; Bhushan et al., 2011; Cleaves et al., 2011; Cleaves et al., 2012; Baú et al., 2012; Swadling et al., 2012; Swadling et al., 2013; Zhang et al., 2014; Anizelli et al., 2015; Bertolino et al., 2017**). Mais la grande majorité de ces études se sont focalisées sur la montmorillonite et la kaolinite, argiles respectivement gonflante et non-gonflante, riches en aluminium, et probablement plus proches des phases d'altération modernes que archéennes ou hadéennes, que ce soit pour la concentration (**Odom et al., 1979; Banin et al., 1985; Ferris et al., 1989b; Franchi et al., 1999; Franchi et al., 2003; Franchi and Gallori, 2004; Cai et al., 2006; Cai et al., 2008; Swadling et al., 2010; Hashizume et al., 2010; C. A. Carneiro et al., 2011; Michalkova et al., 2011**), la condensation ou la polymérisation des nucléotides (**Rao et al., 1980; Ferris et al., 1989a; Ertem and Ferris, 1998; Ferris, 2002; Williams et al., 2005; Huang and Ferris, 2006; Joshi et al., 2009; Montgomery et al., 2011; Jheeta and Joshi, 2014**).

A titre de comparaison, l'étude de l'adsorption des acides aminés sur les surfaces minérales est également focalisée sur les argiles alumineuses (**Greenland et al., 1962; Kalra et al., 2003; Kollár et al., 2003; Ramos and Huertas, 2013; Pandey et al., 2015; Yang et al., 2016**) . Mais elle comprend également des travaux sur des oxydes de titane, de fer, de zinc, de la calcite, des grains cométaires ou météoritiques ou encore de la silice **(Hazen et al., 2001; Meng et al., 2004; Jonsson et al., 2009; C. E. A. Carneiro et al., 2011; Escamilla-Roa and Moreno,**

2012; Bürger et al., 2013; Lee et al., 2014; Estrada et al., 2015; Pandey et al., 2015; Schwaminger et al., 2015; Grégoire et al., 2016).

Le grand nombre d'études sur des phyllosilicates alumineux témoigne d'une méconnaissance de la minéralogie de la Terre primitive et de la dominance sdes minéraux ferromagnésiens (eg. **Meunier et al., 2010; Schoonen and Smirnov, 2016**).

Dans les **parties 3 et 4** de ce travail de thèse, l'étude de l'adsorption des nucléotides se concentre sur un ensemble de phyllosilicates choisis d'une part pour leur pertinence en tant que potentiels produits d'altération hydrothermale de roches magmatiques ferromagnésiennes primitives, et d'autre part pour leur utilisation classique et historique dans le domaine des origines de la vie. Nous avons donc sélectionné un assemblage de phyllosilicates ferromagnésiens géochimiquement cohérents avec l'hypothèse hydrothermale prébiotique et deux phyllosilicates alumineux comme références, permettant une comparaison avec les études d'adsorption antérieures.

Quelques synthèses sur la thématique de l'adsorption ont été proposées (**Ferris, 2005; Cleaves et al., 2012; Hashizume, 2012; Yu et al., 2013**). Les mécanismes principaux d'adsorption et de concentration qui y sont proposés résument la difficulté à comparer les données obtenues dans la littérature et à en généraliser les résultats.
Ces études s'accordent à montrer un effet de spécificité ou d'affinité d'adsorption des différents nucléotides ou de leurs nucléobases. Les observations montrent systématiquement une adsorption supérieure de la base azotée G par rapport aux autres, et des monomères d'ADN par rapport à ceux de l'ARN. De nombreuses études notent une plus grande adsorption des argiles gonflantes, mais reposent sur des isothermes d'adsorption plutôt que des densités d'adsorption… De plus, l'effet des sels dans l'adsorption d'oligomères est potentiellement déterminant, mais il n'a pas ou peu été étudié pour l'adsorption des monomères. Mais surtout, ces études proposent un nombre important de mécanismes d'adsorption pour des molécules et des conditions expérimentales finalement relativement proches. Parmi ces mécanismes, l'adsorption de nucléotides dans l'espace interfoliaire est fréquemment soulignée. Les autres mécanismes suggérés, mais pas démontrés, proposent des processus de chimisorption sur les surfaces latérales, par complexation ou échange de ligand sans bien préciser les sites de surfaces et les groupements chimiques de l'adsorbat considérés, ou encore du pontage cationique, principalement pour des polymères d'ADN ou d'ARN adsorbés parallèlement à la surface

basale… Les méthodes expérimentales et analytiques utilisées sont disparates, les surfaces minérales sont peu ou pas caractérisées, d'où un effort particulier dans le cadre de cette thèse avec l'aide des collègues du LIEC à Nancy sur la caractérisation des surfaces. Les minéraux en feuillets forment en effet des petites particules avec un grand rapport d'aspect : une surface basale beaucoup plus grande que la surface latérale et des propriétés de surface complexes. La structuration des particules par empilements plus ou moins ordonnés de feuillets et la forme de ces feuillets entraînent la mise en place d'interfaces minéral-eau très différentes. La détermination de la surface réactive de ces particules, et donc la possibilité de définir des densités d'adsorption, est essentiel. L'espace interfoliaire est théoriquement accessible à de petites molécules dans le cas d'argiles gonflantes, possédant plusieurs couches de molécules d'eau et des cations échangeables dans cet espace. La surface latérale des bords de feuillets est couverte de sites métalliques hydroxylés, dont la spéciation dépend du pH. Enfin les surfaces basales extérieures des particules développent une porosité interparticulaire importante. Ce sont des surfaces plus ou moins hydrophobes, et ne présentant des cations de surface, échangeables que dans le cas des argiles gonflantes.

Récemment, notre équipe a commencé à étudier le comportement des nucléotides sur les surfaces latérales des argiles gonflantes, en comparant les nontronites ferromagnésiennes, et les montmorillonites alumineuses (**Feuillie et al., 2013**). Nos résultats ont montré que les densités d'adsorption de ces deux argiles étaient similaires, mais la nontronite est potentiellement plus efficace à charge de surface égale. Le mécanisme d'adsorption suggéré par l'effet du pH, la densité d'adsorption et la chimie des surfaces est un échange de ligand entre le groupement phosphate des nucléotides et les métaux hydroxylés des surfaces latérales des argiles gonflantes (**Figure 14**). Ce mécanisme est commun aux monomères de l'ADN et de l'ARN. Ces résultats ont ensuite été étendus à la surface d'oxydes d'aluminium et confirment le mécanisme d'échange de ligand sur les bords de feuillets, au comportement proche de celui de ces oxydes (**Feuillie et al., 2015**).

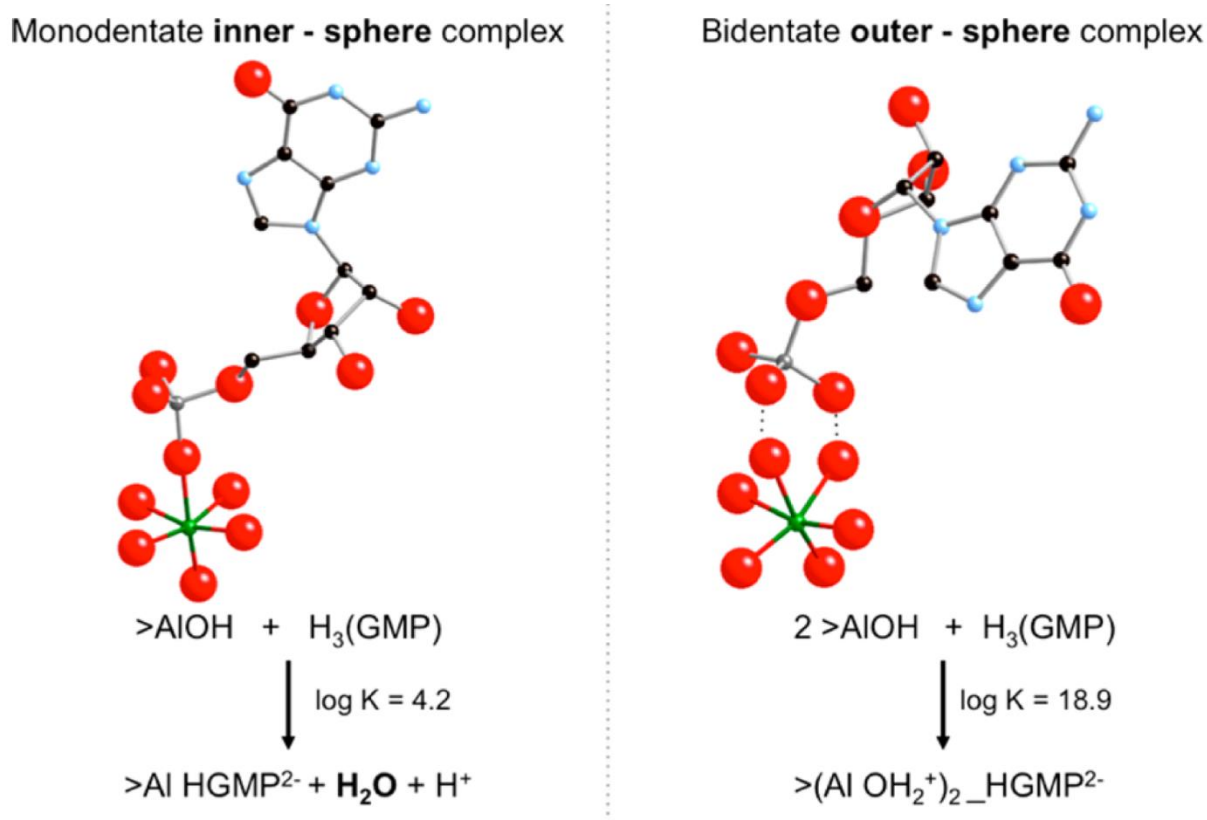


Figure 14 : Mécanismes d'adsorption probables de GMP sur un oxyde d'aluminium (d'après *Feuillie et al., 2015*).

Polymérisation non enzymatique de glycine non activée en conditions hydrothermales

La glycine ($C_2H_5NO_2$) est l'acide aminé protéinogène le plus simple, achiral et sans chaîne latérale, et probablement le plus abondant dans l'environnement primitif. La réaction de polymérisation est une réaction de déshydratation. Elle est favorisée par l'augmentation de température, et surtout par les conditions hydrothermales, qui diminuent l'activité de l'eau. La glycine en solution peut alors (i) se dégrader par décarboxylation ou désamination ; (ii) polymériser en diglycine (Gly_2), son dimère linéaire qui constitue la première étape de l'élongation de la chaîne d'acides aminés par ajout de monomères ou d'oligomères directement ; (iii) former un dimère cyclique, la 2,5-diketopiperazine (DKP), composé très stable considéré comme un cul-de-sac de la réaction **(Figure 15)**.

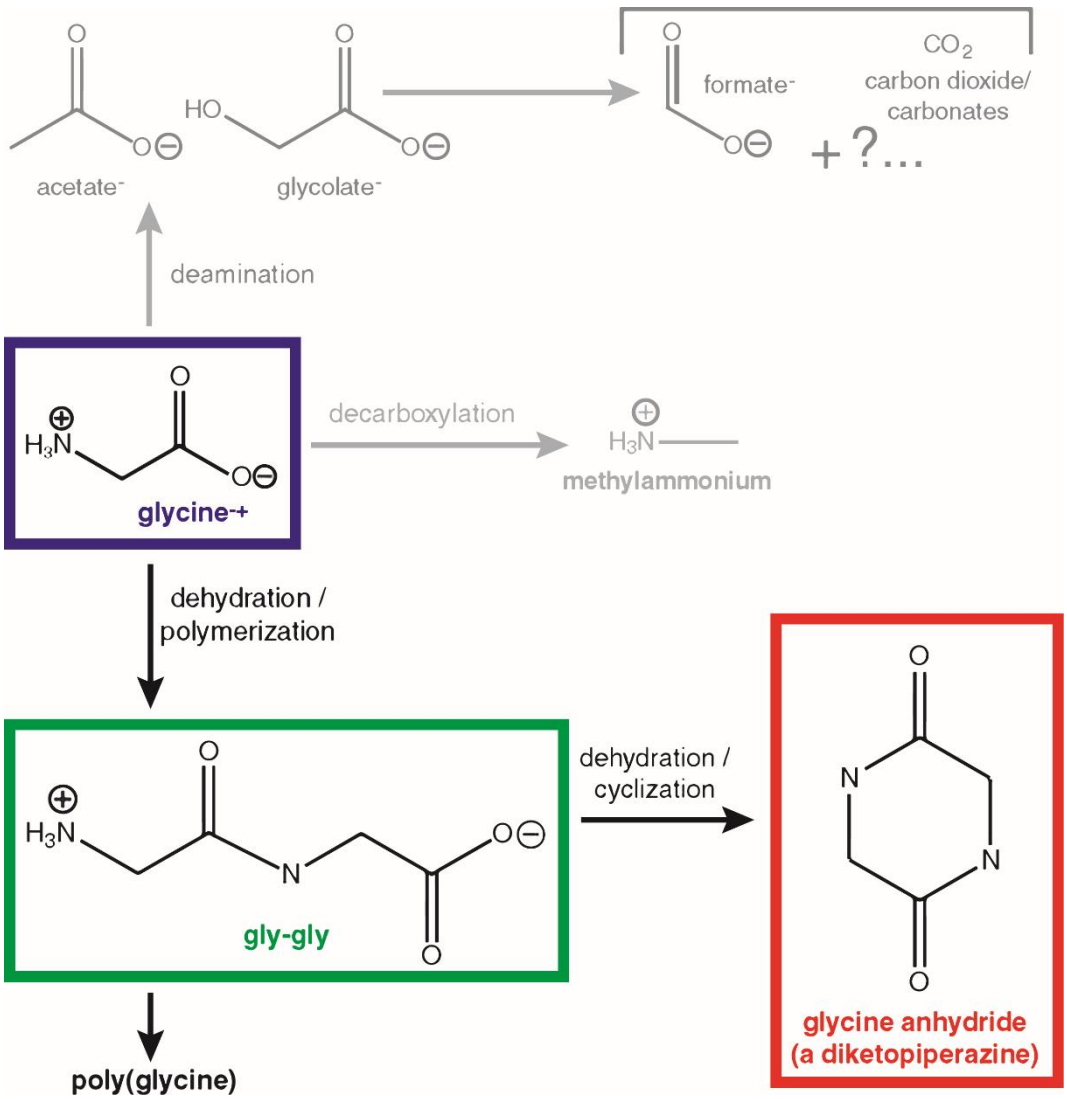


Figure 15 : Représentation schématique des chemins réactionnels potentiels de la glycine en conditons hydrothermales (d'après *Cox and Seward, 2007).*

Nous ne nous intéresserons pas ici aux propositions de réactions « alternatives » par activation préalable des acides aminés ou substitution d'acides aminés par des molécules proches (**Beaufils et al., 2015; Forsythe et al., 2015**).

A notre connaissance, la grande majorité des expériences de polymérisation d'acides aminés en conditions de haute pression et haute température sont des études *ex situ* du produit de réaction. Elles utilisent des méthodes expérimentales et analytiques variées. Les études réalisées aux plus hautes pressions ont été réalisées sur des poudres anhydres dans des capsules d'or, jusqu'à 5500 MPa, pour des températures de 100 à 400°C **(Ohara et al., 2007; Otake et al., 2011; Furukawa et al., 2012**). Quelques études s'intéressent également aux conditions anhydres à pression ambiante (**Ito et al., 1990a; Ito et al., 1990b; Kitadai et al., 2011**). En conditions hydrothermales à proprement parler, et donc en présence d'eau, les expériences sont soit

réalisées en autoclaves fermés soit dans des systèmes de circulation dynamiques, cycliques, alternant des phases courtes de chauffage et des phases de trempe, le tout à des pressions plus ou moins fluctuantes (**Qian et al., 1993; Imai et al., 1999; Ogata et al., 2000; Alargov et al., 2002; Islam et al., 2003; Cox and Seward, 2007; Klingler et al., 2007; Futamura et al., 2007; H. J. Cleaves et al., 2009; Lemke et al., 2009; Chandru et al., 2013a; Chandru et al., 2013b**). Ces études en conditions hydrothermales, de par leurs volumes expérimentaux importants, ne peuvent atteindre des conditions très élevées de pressions, et se limitent à 0,2 à 40 MPa pour des températures variant de 120 à 400°C.

L'effet des surfaces minérales quant à lui a principalement été étudié en conditions anhydres ou lors de cycle d'hydratation/déshydratation, à pression atmosphérique et jusqu'à 120°C (**Lawless and Levi, 1979; Meng et al., 2004; Yamaoka et al., 2007; Kawamura et al., 2011; Shanker et al., 2012; Fuchida et al., 2014; Fuchida et al., 2016; Kitadai et al., 2016; Iqubal et al., 2017**).

La plupart de ces études ont montré que les dimères étaient les produits de réaction possédant les rendements les plus importants mais que les conditions hydrothermales avaient tendance à favoriser la formation de dimère cyclique plutôt que linéaire. Le suivi du rapport Gly_2/DKP lors de ces expériences permet de juger de la faisabilité de réactions d'élongations dans certaines conditions par rapport à la simple consommation du réactif dans des réactions « parasites ». Les rapports Gly_2/DKP atteints dans la littérature sont rarement favorables au dimère linéaire. La température favorise certes les rendements de polymérisation et la formation de composés linéaires plus longs, mais elle est souvent associée à l'augmentation de dégradation thermique très importante. Cette dégradation est de plus dépendante du matériau du réacteur (**Lemke et al., 2009**). De nombreux débats ont été soulevés par les résultats souvent peu reproductibles et contradictoires obtenus dans ces expériences (**H J Cleaves et al., 2009; Chandru et al., 2013a**). L'analyse *ex situ* rend difficile la mesure de conditions d'équilibre apparent. Celui-ci semble généralement atteint au moins en plusieurs jours. Enfin, la procédure de trempe de l'échantillon est régulièrement remise en cause dans la variabilité expérimentale observée et il semblerait que la trempe ait un effet important sur la préservation des produits de réaction (**Futamura et al., 2007**).

Dans la **partie 5**, nous avons réalisé un suivi *in situ* de la réaction de la glycine en solution aqueuse dans des conditions hydrothermales, en cellules à enclume de diamants. La détection de la glycine et de ses produits de réaction est assurée par spectrométrie Raman *in situ*.

Références

Abramov O. and Mojzsis S. J. (2009) Microbial habitability of the Hadean Earth during the late heavy bombardment. *Nature* **459**, 419–422.

Alargov D. K., Deguchi S., Tsujii K. and Horikoshi K. (2002) Reaction behaviors of glycine under super- and subcritical water conditions. *Orig. Life Evol. Biosph.* **32**, 1–12.

Albarède F. (2009) Volatile accretion history of the terrestrial planets and dynamic implications. *Nature* **461**, 1227–1233.

Alt J. C. and Honnorez J. (1984) Alteration of the upper oceanic crust, DSDP site 417: mineralogy and chemistry. *Contrib. to Mineral. Petrol.* **87**, 149–169.

Alt J. C. and Teagle D. a H. (2003) Hydrothermal alteration of upper oceanic crust formed at a fast-spreading ridge: Mineral, chemical, and isotopic evidence from ODP Site 801. *Chem. Geol.* **201**, 191–211.

Altwegg K., Balsiger H., Bar-nun A., Berthelier J., Bieler A., Bochsler P., Briois C., Calmonte U., Combi M. R., Cottin H., Keyser J. De, Dhooghe F., Fiethe B., Fuselier S. A., Gasc S., Gombosi T. I., Hansen K. C., Haessig M., Jäckel A., Kopp E., Korth A., Roy L. Le, Mall U., Marty B., Mousis O., Owen T., Rème H., Rubin M., Sémon T., Tzou C., Waite J. H. and Wurz P. (2016) Prebiotic chemicals — amino acid and phosphorus — in the coma of comet 67P / Churyumov-Gerasimenko. *Sci. Adv.* **2**, e1600285.

El Amri C., Baron M.-H. and Maurel M.-C. (2004) Adenine adsorption on and release from meteorite specimens assessed by surface-enhanced Raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.* **35**, 170–177.

Anizelli P. R., Baú J. P. T., Gomes F. P., da Costa A. C. S., Carneiro C. E. a., Zaia C. T. B. V. and Zaia D. a. M. (2015) A Prebiotic Chemistry Experiment on the Adsorption of Nucleic Acids Bases onto a Natural Zeolite. *Orig. Life Evol. Biosph.* **45**, 289–306.

Aponte J. C., McLain H. L., Dworkin J. P. and Elsila J. E. (2016) Aliphatic amines in Antarctic CR2, CM2, and CM1/2 carbonaceous chondrites. *Geochim. Cosmochim. Acta* **189**, 296–311.

Arndt N. T. and Nisbet E. G. (2012) Processes on the Young Earth and the Habitats of Early Life. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* **40**, 521–549.

Arora A. K. (2007) Interaction of ribose nucleotides with zinc oxide and relevance in chemical evolution. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **298**, 186–191.

Augustin N., Lackschewitz K. S., Kuhn T. and Devey C. W. (2008) Mineralogical and chemical mass changes in mafic and ultramafic rocks from the Logatchev hydrothermal field (MAR 15°N). *Mar. Geol.* **256**, 18–29.

Bada J. L., Chalmers J. H. and Cleaves H. J. (2016) Is formamide a geochemically plausible prebiotic solvent? *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 20085–20090.

Balint Z., Nagy K., Laczko I., Bottka S., Vegh G. A., Szegletes Z. and Varo G. (2007) Adsorption and Self-Assembly of Oligodeoxynucleotides onto a Mica Surface. *J. Phys. Chem.* **111**, 17032–17037.

Banin A., Lawless J. G., Mazzurco J., Churche F. M., Margulies L. and Orenberg J. B. (1985) pH profile of the adsorption of nucleotides onto montmorillonite. *Orig. Life* **15**, 89–101.

Barbey P. and Martin H. (1987) The role of komatiites in plate tectonics. evidence from the archaean and early proterozoic crust in the eastern baltic shield. *Precambrian Res.* **35**, 1–14.

Barboni M., Boehnke P., Keller B., Kohl I. E., Schoene B., Young E. D. and McKeegan K. D. (2017) Early formation of the Moon 4.51 billion years ago. *Sci. Adv.* **3**, e1602365.

Battistuzzi F. U., Feijao A. and Hedges S. B. (2004) A genomic timescale of prokaryote evolution: insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land. *BMC Evol. Biol.* **4**, 44.

Baú J. P. T., Carneiro C. E. a, de Souza Junior I. G., de Souza C. M. D., da Costa A. C. S., di Mauro E., Zaia C. T. B. V, Coronas J., Casado C., de Santana H. and Zaia D. a M. (2012) Adsorption of adenine and thymine on zeolites: FT-IR and EPR spectroscopy and X-ray diffractometry and SEM studies. *Orig. Life Evol. Biosph.* **42**, 19–29.

Beaufils D., Jepaul S., Liu Z., Boiteau L. and Pascal R. (2015) The Activation of Free Dipeptides Promoted by Strong Activating Agents in Water Does not Yield Diketopiperazines. *Orig. Life Evol. Biosph.* **46**, 19–30.

Bell E. A., Boehnke P., Harrison T. M. and Mao W. L. (2015) Potentially biogenic carbon preserved in a 4.1 billion-year-old zircon. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 14518–14521.

Benner S. a (2010) Defining life. *Astrobiology* **10**, 1021–30.

Benner S. A., Kim H.-J., Kim M.-J. and Ricardo A. (2010) Planetary organic chemistry and the origins of biomolecules. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2**, 1–21.

Benner S. a, Kim H.-J. and Carrigan M. a (2012a) Asphalt, water, and the prebiotic synthesis of ribose, ribonucleosides, and RNA. *Acc. Chem. Res.* **45**, 2025–34.

Benner S. a, Kim H.-J. and Yang Z. (2012b) Setting the stage: the history, chemistry, and geobiology behind RNA. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **4**, a003541.

Bernal J. D. (1951) *The Physical Basis of Life*., Routledge and Paul, London.

Bertolino V., Cavallaro G., Lazzara G., Milioto S. and Parisi F. (2017) Biopolymer-Targeted Adsorption onto Halloysite Nanotubes in Aqueous Media. *Langmuir* **33**, 3317–3323.

Bezanilla M., Manne S., Laney D. E., Lyubchenko Y. L. and Hansma H. G. (1995) Adsorption of DNA to Mica, Silylated Mica, and Minerals: Characterization by Atomic Force Microscopy. *Langmuir* **11**, 655–659.

Bhushan B., Nayak A. and Kamaluddin (2016) Catalytic Role of Manganese Oxides in Prebiotic Nucleobases Synthesis from Formamide. *Orig. Life Evol. Biosph.* **46**, 203–213.

Bhushan B., Shanker U. and Kamaluddin (2011) Adsorption of Ribose Nucleotides on Manganese Oxides with Varied Mn/O Ratio: Implications for Chemical Evolution. *Orig. Life Evol. Biosph.* **41**, 469–482.

Bouvier A. and Wadhwa M. (2010) The age of the Solar System redefined by the oldest Pb-Pb age of a meteoritic inclusion. *Nat. Geosci* **3**, 637–641.

Brasier M. D., Antcliffe J., Saunders M. and 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.* **112**, 4859–4864.

Buatier M. D., Ouyang K. and Sanchez J. P. (1993) Iron in hydrothermal clays from the Galapagos spreading centre mounds: consequences for the clay transition mechanism. *Clay Miner.* **28**, 641–655.

Bürger A., Magdans U. and Gies H. (2013) Adsorption of amino acids on the magnetite-(111)-surface: A force field study. *J. Mol. Model.* **19**, 851–857.

Burkhardt C., Kleine T., Bourdon B., Palme H., Zipfel J., Friedrich J. M. and Ebel D. S. (2008) Hf-W mineral isochron for Ca,Al-rich inclusions: Age of the solar system and the timing of core formation in planetesimals. *Geochim. Cosmochim. Acta* **72**, 6177–6197.

Cai P., Huang Q., Li M. and Liang W. (2008) Binding and degradation of DNA on montmorillonite coated by hydroxyl aluminum species. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **62**, 299–306.

Cai P., Huang Q., Zhang X. and Chen H. (2006) Adsorption of DNA on clay minerals and various colloidal particles from an Alfisol. *Soil Biol. Biochem.* **38**, 471–476.

Callahan M. P., Smith K. E., Cleaves H. J., Ruzicka J., Stern J. C., Glavin D. P., House C. H. and Dworkin J. P. (2011) Carbonaceous meteorites contain a wide range of extraterrestrial nucleobases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**, 13995–13998.

Canup R. M. (2004) Origin of Terrestrial Planets and the Earth–Moon System. *Phys. Today* **57**, 56–62.

Carneiro C. A., Berndt G., de Souza Junior I., de Souza C. D., Paesano Jr A., da Costa A. S., di Mauro E., de Santana H., Zaia C. B. V. and Zaia D. M. (2011) Adsorption of Adenine, Cytosine, Thymine, and Uracil on Sulfide-Modified Montmorillonite: FT-IR, Mössbauer and EPR Spectroscopy and X-Ray Diffractometry Studies. *Orig. Life Evol. Biosph.* **41**, 453–468.

Carneiro C. E. A., de Santana H., Casado C., Coronas J. and Zaia D. A. M. (2011) Adsorption of amino acids (Ala, Cys, His, Met) on zeolites: Fourier transform infrared and Raman spectroscopy investigations. *Astrobiology* **11**, 409–418.

Chandru K., Imai E., Kaneko T., Obayashi Y. and Kobayashi K. (2013a) Survivability and Abiotic Reactions of Selected Amino Acids in Different Hydrothermal System Simulators. *Orig. Life Evol. Biosph.* **43**, 99–108.

Chandru K., Obayashi Y., Kaneko T. and Kobayashi K. (2013b) Formation of amino acid condensates partly having peptide bonds in a simulated submarine hydrothermal environment. *Viva Orig.* **41**, 24–28.

Cleaves H. J., Aubrey A. D. and Bada J. L. (2009) An Evaluation of the Critical Parameters for Abiotic Peptide Synthesis in Submarine Hydrothermal Systems. *Orig. Life Evol. Biosph.* **39**, 109–126.

Cleaves H. J., Aubrey a D. and Bada J. L. (2009) An evaluation of the critical parameters for abiotic peptide synthesis in submarine hydrothermal systems. *Orig. Life Evol. Biosph.* **39**, 109–26.

Cleaves H. J., Crapster-Pregont E., Jonsson C. M., Jonsson C. L., Sverjensky D. A. and Hazen R. A. (2011) The adsorption of short single-stranded DNA oligomers to mineral surfaces. *Chemosphere* **83**, 1560–1567.

Cleaves H. J., Jonsson C. M., Jonsson C. L., Sverjensky D. A. and Hazen R. M. (2010) Adsorption of Nucleic Acid Components on Rutile (TiO2) Surfaces. *Astrobiology* **10**, 311–323.

Cleaves H. J., Scott A. M., Hill F. C., Leszczynski J., Sahai N. and Hazen R. (2012) Mineral-organic interfacial processes: potential roles in the origins of life. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 5502–25.

Corliss J. B., Baross J. A. and Hoffman S. E. (1981) An hypothesis concerning the relationship between submarine hot springs and the origin of life on earth. *Oceanol. Acta* **4**, 59–69.

Corliss J. B., Dymond J., Gordon L. I., Edmond J. M., von Herzen R. P., Ballard R. D., Green K., Williams D., Bainbridge A., Crane K. & and van Andel T. H. (1979) Submarine Thermal Springs on the Galápagos Rift. *Am. Assoc. Adv. Sci.* **203**, 1073–1083.

Cox J. S. and Seward T. M. (2007) The reaction kinetics of alanine and glycine under hydrothermal conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **71**, 2264–2284.

Cronin J. R. and Pizzarello S. (1983) Amino acids in meteorites. *Adv. Sp. Res.* **3**, 5–18.

Danger G., Plasson R. and Pascal R. (2012) Pathways for the formation and evolution of peptides in prebiotic environments. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 5416–29.

Dekov V. M., Kamenov G. D., Stummeyer J., Thiry M., Savelli C., Shanks W. C., Fortin D., Kuzmann E. and Vértes A. (2007) Hydrothermal nontronite formation at Eolo Seamount (Aeolian volcanic arc, Tyrrhenian Sea). *Chem. Geol.* **245**, 103–119.

Dias Á. S. and Barriga F. J. a S. (2006) Mineralogy and geochemistry of hydrothermal sediments from the serpentinite-hosted Saldanha hydrothermal field (36°34′N; 33°26′W) at MAR. *Mar. Geol.* **225**, 157–175.

Dodd M. S., Papineau D., Grenne T., Slack J. F., Rittner M., Pirajno F., O'Neil J. and Little C. T. S. (2017) Evidence for early life in Earth's oldest hydrothermal vent precipitates. *Nature* **543**, 60–64.

Domagal-Goldman S. D., Wright K. E., Adamala K., Arina de la Rubia L., Bond J., Dartnell L. R., Goldman A. D., Lynch K., Naud M.-E., Paulino-Lima I. G., Singer K., Walter-Antonio M., Abrevaya X. C., Anderson R., Arney G., Atri D., Azúa-Bustos A., Bowman J. S., Brazelton W. J., Brennecka G. A., Carns R., Chopra A., Colangelo-Lillis J., Crockett C. J., DeMarines J., Frank E. A., Frantz C., de la Fuente E., Galante D., Glass J., Gleeson D., Glein C. R., Goldblatt C., Horak R., Horodyskyj L., Kaçar B., Kereszturi A., Knowles E., Mayeur P., McGlynn S., Miguel Y., Montgomery M., Neish C., Noack L., Rugheimer S., Stüeken E. E., Tamez-Hidalgo P., Walker S. I. and Wong T. (2016) The Astrobiology Primer v2.0. *Astrobiology* **16**, 561–653.

de Duve C. and Miller S. L. (1991) Two-dimensional life? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **88**, 10014–10017.

Dworkin J. P., Lazcano A. and Miller S. L. (2003) The roads to and from the RNA world. *J. Theor. Biol.* **222**, 127–134.

Elkins-Tanton L. T. (2008) Linked magma ocean solidification and atmospheric growth for Earth and Mars. *Earth Planet. Sci. Lett.* **271**, 181–191.

Elsila J. E., Aponte J. C., Blackmond D. G., Burton A. S., Dworkin J. P. and Glavin D. P. (2016) Meteoritic Amino Acids: Diversity in Compositions Reflects Parent Body Histories. *ACS Cent. Sci.*, 370–379.

Ertem G. and Ferris J. P. (1998) Formation of RNA oligomers on montmorillonite: site of catalysis. *Orig. Life Evol. Biosph.* **28**, 485–499.

Escamilla-Roa E. and Moreno F. (2012) Adsorption of glycine by cometary dust: Astrobiological implications. *Planet. Space Sci.* **70**, 1–9.

Estrada C. F., Sverjensky D. A., Pelletier M., Razafitianamaharavo A. and Hazen R. M. (2015) Interaction between l-aspartate and the brucite [Mg(OH)2]-water interface. *Geochim. Cosmochim. Acta* **155**, 172–186.

Evans A. C., Meinert C., Giri C., Goesmann F. and Meierhenrich U. J. (2012) Chirality, photochemistry and the detection of amino acids in interstellar ice analogues and comets. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 5447–58.

Ferris J. P. (2005) Catalysis and Prebiotic Synthesis. *Rev. Mineral. Geochemistry* **59**, 187–210.

Ferris J. P. (2002) Montmorillonite catalysis of 30-50mer oligonucleotides: laboratory demonstration of potential steps in the origin of the RNA world. *Orig. Life Evol. Biosph.* **32**, 311–332.

Ferris J. P., Ertem G. and Agarwal V. K. (1989a) Mineral catalysis of the formation of dimers of 5'-AMP in aqueous solution: the possible role of montmorillonite clays in the prebiotic synthesis of RNA. *Orig. Life Evol. Biosph.* **19**, 165–178.

Ferris J. P., Ertem G. and Agarwal V. K. (1989b) The adsorption of nucleotides and polynucleotides on montmorillonite clay. *Orig. Life Evol. Biosph.* **19**, 153–164.

Feuillie C., Daniel I., Michot L. J. and Pedreira-Segade U. (2013) Adsorption of nucleotides onto Fe-Mg-Al rich swelling clays. *Geochim. Cosmochim. Acta (in Rev.* **120**, 97–108.

Feuillie C., Sverjensky D. A. and Hazen R. M. (2015) Attachment of Ribonucleotides on alpha-Alumina as a Function of pH , Ionic Strength , and Surface Loading. *Langmuir* **31**, 240–48.

Flament N., Coltice N. and Rey P. F. (2008) A case for late-Archaean continental emergence from thermal evolution models and hypsometry. *Earth Planet. Sci. Lett.* **275**, 326–336.

Forsythe J. G., Yu S.-S. S., Mamajanov I., Grover M. A., Krishnamurthy R., Fernandez F. M., Hud N. V, Fernandez F. M. and Hud N. V (2015) Ester-Mediated Amide Bond Formation Driven by Wet-Dry Cycles: A Possible Path to Polypeptides on the Prebiotic Earth. *Angew Chem Int Ed Engl* **54**, 9871–9875.

Fox S. W. and Waehneldt T. V (1968) The thermal synthesis of neutral and basic proteinoids. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct.* **160**, 246–249.

Franchi M., Bramanti E., Bonzi L. M., Orioli P. L., Vettori C. and Gallori E. (1999) Clay-nucleic acid complexes: characteristics and implications for the preservation of genetic material in primeval habitats. *Orig. life Evol. Biosph.* **29**, 297–315.

Franchi M., Ferris J. P. and Gallori E. (2003) Cations as mediators of the adsorption of nucleic acids on clay surfaces in prebiotic environments. *Orig. Life Evol. Biosph.* **33**, 1–16.

Franchi M. and Gallori E. (2004) Origin, persistence and biological activity of genetic material in prebiotic habitats. *Orig. Life Evol. Biosph.* **34**, 133–41.

Fryer P., Mottl M., Johnson L., Haggerty J., Phipps S. and Maekawa H. (1995) Serpentine bodies in the forearcs of western Pacific convergent margins: origin and associated fluids. *Act. margins Marg. basins West. Pacific*, 259–279.

Fuchida S., Masuda H. and Shinoda K. (2014) Peptide formation mechanism on montmorillonite under thermal conditions. *Orig. Life Evol. Biosph.* **44**, 13–28.

Fuchida S., Naraoka H. and Masuda H. (2016) Formation of Diastereoisomeric Piperazine-2,5-dione from dl-Alanine in the Presence of Olivine and Water. *Orig. Life Evol. Biosph.* **47**, 83–92.

Furukawa Y., Nakazawa H., Sekine T., Kobayashi T. and Kakegawa T. (2015) Nucleobase and amino acid formation through impacts of meteorites on the early ocean. *Earth Planet. Sci. Lett.* **429**, 216–222.

Furukawa Y., Otake T., Ishiguro T., Nakazawa H. and Kakegawa T. (2012) Abiotic formation of valine peptides under conditions of high temperature and high pressure. *Orig. Life Evol. Biosph.* **42**, 519–31.

Futamura Y., Fujioka K. and Yamamoto K. (2007) Hydrothermal treatment of glycine and adiabatic expansion cooling: implications for prebiotic synthesis of biopolymers. *J. Mater. Sci.* **43**, 2442–2446.

Gayon J. (2010) Defining life: synthesis and conclusions. *Orig. Life Evol. Biosph.* **40**, 231–44.

Gilbert W. (1986) Origin of life: The RNA world. *Nature* **319**.

Di Giulio M. (2003) The Universal Ancestor was a Thermophile or a Hyperthermophile: Tests and Further Evidence. *J. Theor. Biol.* **221**, 425–436.

Gogarten J. P. and Deamer D. (2016) Is LUCA a thermophilic progenote? *Nat. Microbiol.* **1**, 16229.

Gogarten J. P. and Taiz L. (1992) Evolution of proton pumping ATPases: rooting the tree of life. *Photosynth. Res.* **33**, 137–146.

Goldford J. E., Hartman H., Smith T. F. and Segrè D. (2017) Remnants of an Ancient Metabolism without Phosphate. *Cell* **168**, 1126–1134.e9.

Goldman N., Reed E. J., Fried L. E., Kuo I.-F. W. and Maiti A. (2010) Synthesis of glycine-containing complexes in impacts of comets on early Earth. *Nat. Chem.* **2**, 949–954.

Gomes R., Levison H. F., Tsiganis K. and Morbidelli A. (2005) Origin of the cataclysmic Late Heavy Bombardment period of the terrestrial planets. *Nature* **435**, 466–469.

Greenland D. J., Laby R. H. and Quirk J. P. (1962) Adsorption of glycine and its di-, tri-, and tetra-peptides by montmorillonite. *Trans. Faraday Soc.* **58**, 829–841.

Grégoire B., Erastova V., Geatches D. L., Clark S. J., Greenwell H. C. and Fraser D. G. (2016) Insights into the behaviour of biomolecules on the early Earth: The concentration of aspartate by layered double hydroxide minerals. *Geochim. Cosmochim. Acta* **176**, 239–258.

Gysi A. P. and Stefánsson A. (2012) CO2-water–basalt interaction. Low temperature experiments and implications for CO2 sequestration into basalts. *Geochim. Cosmochim. Acta* **81**, 129–152.

Haldane J. B. S. (1929) The origin of life, rationalist annual (reprinted in Haldane, JBS, science and life, with an introduction by Maynard Smith, J (1968)).

Halliday A. N. (2006) The Origin of the Earth What's New ? *Elements* **2**, 205–210.

Harrison T. M. (2009) The Hadean Crust: Evidence from >4 Ga Zircons. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* **37**, 479–505.

Harrison T. M., Bell E. A. and Boehnke P. (2016) Hadean Zircon Petrochronology. *Rev. Mineral. Geochemistry* **83**, 329–363.

Hashizume H. (2012) Role of Clay Minerals in Chemical Evolution and the Origins of Life. In *Clay Minerals in Nature - Their Characterization, Modification and Application* pp. 191–208.

Hashizume H., van der Gaast S. and Theng B. K. G. (2010) Adsorption of adenine, cytosine, uracil, ribose, and phosphate by Mg-exchanged montmorillonite. *Clay Miner.* **45**, 469–475.

Hastie A. R., Fitton J. G., Bromiley G. D., Butler I. B. and Odling N. W. A. (2016) The origin of Earth's first continents and the onset of plate tectonics. *Geology* **44**, 855–858.

Hazen R. M., Filley T. R. and Goodfriend G. A. (2001) Selective adsorption of L- and D-amino acids on calcite: Implications for biochemical homochirality. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 5487–5490.

Hedges S. B. and Kumar S. (2009) *The timetree of life*., OUP Oxford.

Hennet R. J. C., Holm N. G. and Engel M. H. (1992) Abiotic synthesis of amino acids under hydrothermal conditions and the origin of life: A perpetual phenomenon? *Naturwissenschaften* **79**, 361–365.

Hicks L. J., Bridges J. C. and Gurman S. J. (2014) Ferric saponite and serpentine in the nakhlite martian meteorites. *Geochim. Cosmochim. Acta* **136**, 194–210.

Holm N. G., Ertem G. and Ferris J. P. (1993) The Binding and Reactions of Nucleotides and Polynucleotides on Iron-Oxide Hydroxide Polymorphs. *Orig. Life Evol. Biosph.* **23**, 195–215.

Huang W. and Ferris J. P. (2006) One-step, regioselective synthesis of up to 50-mers of RNA oligomers by montmorillonite catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 8914–8919.

Hud N. V. (2017) Our Odyssey to Find a Plausible Prebiotic Path to RNA: The First Twenty Years. *Synlett* **28**, 36–55.

Humphris S. E. (1978) Hydrothermal alteration of oceanic basalts by seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**, 107–125.

Hunter A. G., Kempton P. D. and Greenwood P. (1999) Low-temperature fluid-rock interaction-an isotopic and mineralogical perspective of upper crustal evolution, eastern flank of the Juan de Fuca Ridge (JdFR), ODP Leg 168. *Chem. Geol.* **155**, 3–28.

Imai E., Honda H., Hatori K., Brack A. and Matsuno K. (1999) Elongation of oligopeptides in a simulated submarine hydrothermal system. *Science (80-.).* **283**, 831–833.

Iqubal M., Sharma R., Jheeta S. and Kamaluddin (2017) Thermal Condensation of Glycine and Alanine on Metal Ferrite Surface: Primitive Peptide Bond Formation Scenario. *Life* **7**, 15.

Islam N., Kaneko T. and Kobayashi K. (2003) Reaction of Amino Acids in a Supercritical Water-Flow Reactor Simulating Submarine Hydrothermal Systems. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **76**, 1171–1178.

Ito E. and Anderson a. T. (1983) Submarine metamorphism of gabbros from the Mid-Cayman Rise: Petrographic and mineralogic constraints on hydrothermal processes at slow-spreading ridges. *Contrib. to Mineral. Petrol.* **82**, 371–388.

Ito M., Handa N. and Yanagawa H. (1990a) Synthesis of polypeptides by microwave heating I. Formation of polypeptides during repeated hydration-dehydration cycles and their characterization. *J. Mol. Evol.* **31**, 180–186.

Ito M., Handa N. and Yanagawa H. (1990b) Synthesis of polypeptides by microwave heating II. Function of polypeptides synthesized during repeated hydration-dehydration cycles. *J. Mol. Evol.* **31**, 187–194.

James R. H., Green D. R. H., Stock M. J., Alker B. J., Banerjee N. R., Cole C., German C. R., Huvenne V. a I., Powell A. M. and Connelly D. P. (2014) Composition of hydrothermal fluids and mineralogy of associated chimney material on the East Scotia Ridge back-arc spreading centre. *Geochim. Cosmochim. Acta* **139**, 47–71.

Jheeta S. and Joshi P. (2014) Prebiotic RNA Synthesis by Montmorillonite Catalysis. *Life* **4**, 318–330.

Jonsson C. M., Jonsson C. L., Sverjensky D. a., Cleaves H. J. and Hazen R. M. (2009) Attachment of L-glutamate to rutile (alpha-TiO 2): A Potentiometric, adsorption, and surface complexation study. *Langmuir* **25**, 12127–12135.

Joshi P. C., Aldersley M. F., Delano J. W. and Ferris J. P. (2009) Mechanism of montmorillonite catalysis in the formation of RNA oligomers. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 13369–74.

Kalra S., Pant C. K., Pathak H. D. and Mehata M. S. (2003) Studies on the adsorption of peptides of glycine / alanine on montmorillonite clay with or without co-ordinated divalent cations. *Colloids and Surfaces* **212**, 43–50.

Kasting J. F. (2014) Atmospheric composition of Hadean – early Archean Earth : The importance of CO. In *Earth's Early Atmosphere and Surface Environment: Geological Society of America Special Paper 504* (ed. G. H. Shaw). pp. 19–28.

Kasting J. F. (1990) Bolide impacts and the oxidation state of carbon in the Earth's early atmosphere. *Orig. Life Evol. Biosph.* **20**, 199–231.

Kauffman S. A. (1991) The Sciences of Complexity and "Origins of Order" *Proc. Bienn. Meet. Philos. Sci. Assoc.* **1990**, 299–322.

Kawamura K., Takeya H., Kushibe T. and Koizumi Y. (2011) Mineral-enhanced hydrothermal oligopeptide formation at the second time scale. *Astrobiology* **11**, 461–9.

Kelley D. S., Karson J. a, Früh-Green G. L., Yoerger D. R., Shank T. M., Butterfield D. a, Hayes J. M., Schrenk M. O., Olson E. J., Proskurowski G., Jakuba M., Bradley A., Larson B., Ludwig K., Glickson D., Buckman K., Bradley A. S., Brazelton W. J., Roe K., Elend M. J., Delacour A., Bernasconi S. M., Lilley M. D., Baross J. a, Summons R. E. and Sylva S. P. (2005) A serpentinite-hosted ecosystem: the Lost City hydrothermal field. *Science (80-.).* **307**, 1428–34.

Kitadai N., Oonishi H., Umemoto K., Usui T., Fukushi K. and Nakashima S. (2016) Glycine Polymerization on Oxide Minerals. *Orig. Life Evol. Biosph.* **47**, 123–143.

Kitadai N., Yokoyama T. and Nakashima S. (2011) Hydration-dehydration interactions between glycine and anhydrous salts: Implications for a chemical evolution of life. *Geochim. Cosmochim. Acta* **75**, 6285–6299.

Klingler D., Berg J. and Vogel H. (2007) Hydrothermal reactions of alanine and glycine in sub- and supercritical water. *J. Supercrit. Fluids* **43**, 112–119.

Knauth L. P. (1998) Salinity history of the Earth's early ocean. *Nature* **395**, 554–555.

Kollár T., Pálinkó I., Kónya Z. and Kiricsi I. (2003) Intercalating amino acid guests into montmorillonite host. *J. Mol. Struct.* **651**–**653**, 335–340.

Koziol L. and Goldman N. (2015) Prebiotic Hydrocarbon Synthesis in Impacting Reduced Astrophysical Icy Mixtures. *Astrophys. J.* **803**, 91.

Kruger K., Grabowski P. J. and Zaug A. J. (1982a) RNA can be a catalyst. *Science (80-.).* **218**, 872.

Kruger K., Grabowski P. J., Zaug A. J., Sands J., Gottschling D. E. and Cech T. R. (1982b) Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of Tetrahymena. *Cell* **31**, 147–157.

Labrosse S., Hernlund J. W. and Coltice N. (2007) A crystallizing dense magma ocean at the base of the Earth's mantle. *Nature* **450**, 866–869.

Lackschewitz K. S., Botz R., Garbe-Schönberg D., Scholten J. and Stoffers P. (2006) Mineralogy and geochemistry of clay samples from active hydrothermal vents off the north coast of Iceland. *Mar. Geol.* **225**, 177–190.

Lawless J. G. and Levi N. (1979) The role of metal ions in chemical evolution: Polymerization of alanine and glycine in a cation-exchanged clay environment. *J. Mol. Evol.* **13**, 281–286.

Lazcano A. (2008) What Is Life? *Chem. Biodivers.* **5**, 1–15.

Lebrun T., Massol H., Chassefière E., Davaille A., Marcq E., Sarda P., Leblanc F. and Brandeis G. (2013) Thermal evolution of an early magma ocean in interaction with the atmosphere. *J. Geophys. Res. E Planets* **118**, 1155–1176.

Lécuyer C. (2016) Seawater residence times of some elements of geochemical interest and the salinity of the oceans. *Bull. la Société Géologique Fr.* **187**, 245–259.

Lee N., Sverjensky D. A. and Hazen R. M. (2014) Cooperative and Competitive Adsorption of Amino Acids with Ca 2 + on Rutile (α -TiO 2). *Environ. Sci. Technol.* **48**, 9358–65.

Lemke K. H., Rosenbauer R. J. and Bird D. K. (2009) Peptide synthesis in early Earth hydrothermal systems. *Astrobiology* **9**, 141–6.

Lindhal T. (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. Nature 362, 709–715.

Lorenz M. G. and Wackernagel W. (1987) Adsorption of DNA to sand and variable degradation rates of adsorbed DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 2948–2952.

Marcaillou C. (2011) Serpentinisation et production d'hydrogène en contexte de dorsale lente: approche expérimentale et numérique. Université de Grenoble.

de Marcellus P., Meinert C., Myrgorodska I., Nahon L., Buhse T., d'Hendecourt L. L. S. and Meierhenrich U. J. (2015) Aldehydes and sugars from evolved precometary ice analogs: Importance of ices in astrochemical and prebiotic evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 965–970.

Marchi S., Bottke W. F., Elkins-Tanton L. T., Bierhaus M., Wuennemann K., Morbidelli a. and Kring D. a. (2014) Widespread mixing and burial of Earth's Hadean crust by asteroid impacts. *Nature* **511**, 578–582.

Marshall W. L. (1994) Hydrothermal synthesis of amino acids. *Geochim. Cosmochim. Acta* **58**, 2099–2106.

Martin H. (2005) Genesis and Evolution of the Primitive Earth Continental Crust. In *Lectures in Astrobiology: Volume I* (eds. M. Gargaud, B. Barbier, H. Martin, and J. Reisse). Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. pp. 113–163.

Martínez J. C., Dristas J. a., Massonne H.-J. and Theye T. (2010) A hydrothermal clay mineral assemblage at the Late Proterozoic unconformity in the Buenos Aires Complex – La Tinta Formation, Barker area, Tandilia Ranges (Argentina). *Clay Miner.* **45**, 209–224.

Martins Z., Botta O., Fogel M. L., Sephton M. a., Glavin D. P., Watson J. S., Dworkin J. P., Schwartz A. W. and Ehrenfreund P. (2008) Extraterrestrial nucleobases in the Murchison meteorite. *Earth Planet. Sci. Lett.* **270**, 130–136.

Mas A., Meunier A., Beaufort D., Patrier P. and Dudoignon P. (2008) Clay minerals in basalt-hawaiite rocks from mururoa atoll (French polynesia). I. mineralogy. *Clays Clay Miner.* **56**, 711–729.

Massol H., Hamano K., Tian F., Ikoma M., Abe Y., Chassefière E., Davaille A., Genda H., Güdel M., Hori Y., Leblanc F., Marcq E., Sarda P., Shematovich V. I., Stökl A. and Lammer H. (2016) Formation and Evolution of Protoatmospheres. *Space Sci. Rev.* **205**, 153–211.

Meng M., Stievano L. and Lambert J. F. (2004) Adsorption and thermal condensation mechanisms of amino acids on oxide supports. 1. Glycine on silica. *Langmuir* **20**, 914–923.

Meunier A., Petit S., Cockell C. S., El Albani A. and Beaufort D. (2010) The Fe-rich clay microsystems in basalt-komatiite lavas: importance of Fe-smectites for pre-biotic molecule catalysis during the Hadean eon. *Orig. Life Evol. Biosph.* **40**, 253–72.

Mével C. (2003) Serpentinization of abyssal peridotites at mid-ocean ridges. *Comptes Rendus Geosci.* **335**, 825–852.

Michalkova A., Robinson T. L. and Leszczynski J. (2011) Adsorption of thymine and uracil on 1:1 clay mineral surfaces: comprehensive ab initio study on influence of sodium cation and water. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13**, 7862–81.

Miller S. L. (1953) A production of amino acids under possible primitive earth conditions. *Science (80-.).* **117**, 528–529.

Miller S. L. and Urey H. C. (1959) Organic compound synthesis on the Primitive Earth. *Science (80-.).* **130**, 245–251.

Mojzsis S. J., Arrhenius G., McKeegan K. D., Harrison T. M., Nutman A. P. and Friend C. R. L. (1996) Evidence for life on Earth before 3,800 million years ago. *Nature* **384**, 55.

Mojzsis S. J., Harrison T. M. and Pidgeon R. T. (2001) Oxygen-isotope evidence from ancient zircons for liquid water at the Earth's surface 4,300 Myr ago. *Nature* **409**, 178–181.

Montgomery W., Tuff J., Kohn S. C. and Jones R. L. (2011) Reactions between organic acids and montmorillonite clay under Earth-forming conditions. *Chem. Geol.* **283**, 171–176.

Mottl M. J. and Holland H. D. (1978) Chemical exchange during hydrothermal alteration of basalt by seawater-I . Experimental results for major and minor components of seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**, 1103–1115.

Mottl M. J., Holland H. D. and Corr R. F. (1979) Chemical exchange during hydrothermal alteration of basalt by seawater-II , Experimental results for Fe , Mn , and sulfur species. *Geochim. Cosmochim. Acta* **43**, 869–884.

Mottl M. J., Komor S. C., Fryer P. and Moyer C. L. (2003) Deep-slab fluids fuel extremophilic Archaea on a Mariana forearc serpentinite mud volcano: Ocean Drilling Program Leg 195. *Geochemistry, Geophys. Geosystems* **4**.

Nitta S., Furukawa Y. and Kakegawa T. (2016) Effects of Silicate, Phosphate, and Calcium on the Stability of Aldopentoses. *Orig. Life Evol. Biosph.* **46**, 189–202.

Novoselov A. A., Silva D., Schneider J., Abrevaya X. C., Chaffin M. S., Serrano P., Navarro M. S., Conti M. J. and Souza Filho C. R. de (2017) Geochemical constraints on the Hadean environment from mineral fingerprints of prokaryotes. *Sci. Rep.* **7**, 4008.

Nutman A. P., Bennett V. C., Friend C. R. L., Van Kranendonk M. J. and Chivas A. R. (2016) Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures. *Nature* **537**, 535–538.

Odom D. G., Rao M., Lawless J. G. and Oro J. (1979) Association of nucleotides with homoionic clays. *J. Mol. Evol.* **12**, 365–367.

Ogata Y., Imai E., Honda H., Hatori K. and Matsuno K. (2000) Hydrothermal circulation of seawater through hot vents and contribution of interface chemistry to prebiotic synthesis. *Orig. Life Evol. Biosph.* **30**, 527–537.

Ohara S., Kakegawa T. and Nakazawa H. (2007) Pressure effects on the abiotic polymerization of glycine. *Orig. Life Evol. Biosph.* **37**, 215–23.

Oparin A. (1924) Proiskhozhedenie Zhizni. Moscow: Mosckovskii Rabochii. *Repr. Transl. Bernal JD (ed). Orig. life.*

Orgel L. E. (1998) Polymerization on the rocks: theoretical introduction. *Orig. Life Evol. Biosph.* **28**, 227–234.

Otake T., Taniguchi T., Furukawa Y., Kawamura F., Nakazawa H. and Kakegawa T. (2011) Stability of amino acids and their oligomerization under high-pressure conditions: implications for prebiotic chemistry. *Astrobiology* **11**, 799–813.

Pandey P., Pant C. K., Gururani K., Arora P., Pandey N., Bhatt P., Sharma Y., Negi J. S. and Mehata M. S. (2015) Affinity of Smectite and Divalent Metal Ions (Mg(2+), Ca (2+), Cu (2+)) with L-leucine: An Experimental and Theoretical Approach Relevant to Astrobiology. *Orig. Life Evol. Biosph.* **45**, 411–426.

Pasek M. A. (2017) Schreibersite on the early Earth: Scenarios for prebiotic phosphorylation. *Geosci. Front.* **8**, 329–335.

Pasek M., Herschy B. and Kee T. P. (2015) Phosphorus: a Case for Mineral-Organic Reactions in Prebiotic Chemistry. *Orig. Life Evol. Biosph.* **45**, 207–218.

Pons M.-L., Quitté G., Fujii T., Rosing M. T., Reynard B., Moynier F., Douchet C. and Albarède F. (2011) Early Archean serpentine mud volcanoes at Isua, Greenland, as a niche for early life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**, 17639–43.

Pontes-Buarques M., Tessis A. C., Bonapace J. A. P., Monte M. B. M., Cortés-Lopez G., de Souza-Barros F. and Vieyra A. (2001) Modulation of Adenosine 5 -Monophosphate Adsorption Onto Aqueous Resident Pyrite : Potential Mechanisms For Prebiotic Reactions. *Orig. Life Evol. Biosph.* **31**, 343–362.

Pope E. C., Bird D. K. and Rosing M. T. (2012) Isotope composition and volume of Earth's early oceans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **109**, 4371–4376.

Powner M. W., Gerland B. and Sutherland J. D. (2009) Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions. *Nature* **459**, 239–42.

Qian Y., Engel M. H., Macko S. A., Carpenter S. and Deming J. W. (1993) Kinetics of peptide hydrolysis and amino acid decomposition at high temperature. *Geochim. Cosmochim. Acta* **57**, 3281–3293.

Ramos M. E. and Huertas F. J. (2013) Adsorption of glycine on montmorillonite in aqueous solutions. *Appl. Clay Sci.* **80**–**81**, 10–17.

Rao M., Odom D. G. and Oro J. (1980) Clays in prebiological chemistry. *J. Mol. Evol.* **15**, 317–331.

Raymann K., Brochier-Armanet C. and Gribaldo S. (2015) The two-domain tree of life is linked to a new root for the Archaea. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 6670–6675.

Reimink J. R., Davies J. H. F. L., Chacko T., Stern R. A., Heaman L. M., Sarkar C., Schaltegger U., Creaser R. A. and Pearson D. G. (2016) No evidence for Hadean continental crust within Earth's oldest evolved rock unit. *Nat. Geosci.* **9**, 777–780.

Ricardo A., Carrigan M. A., Olcott A. N. and Benner S. A. (2004) Borate minerals stabilize ribose. *Science (80-.).* **303**, 196.

Rich A. (1962) Horizons in biochemistry.

Rollinson H. (2017) There were no large volumes of felsic continental crust in the early Earth. *Geosphere* **13**, 235–246.

Russell M., Daniel R., Hall A. and Sherringham J. (1994) A hydrothermally precipitated catalytic iron sulphide membrane as a first step toward life. *J. Mol. Evol.* **39**, 231–243.

Russell M. J. (2007) The alkaline solution to the emergence of life: energy, entropy and early evolution. *Acta Biotheor.* **55**, 133–179.

Russell M. J. and Hall A. J. (1997) The emergence of life from iron monosulphide bubbles at a submarine hydrothermal redox and pH front. *J. Geol. Soc. London.* **154**, 377–402.

Russell M. J., Hall A. J. and Martin W. (2010) Serpentinization as a source of energy at the origin of life. *Geobiology* **8**, 355–371.

Saito T. (2015) Estimate of secular change in seawater salinity through Earth history. *Ph.D. Thesis*, 243.

Saito T., Shibuya T., Komiya T., Kitajima K., Yamamoto S., Nishizawa M., Ueno Y., Kurosawa M. and Maruyama S. (2016) PIXE and microthermometric analyses of fluid inclusions in hydrothermal quartz from the 2.2 Ga Ongeluk Formation, South Africa: implications for ancient seawater salinity. *Precambrian Res.* **286**, 337–351.

Saladino R., Carota E., Botta G., Kapralov M., Timoshenko G. N., Rozanov A. Y., Krasavin E. and Di Mauro E. (2015) Meteorite-catalyzed syntheses of nucleosides and of other prebiotic compounds from formamide under proton irradiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, E2746-2755.

Santosh M., Arai T. and Maruyama S. (2017) Hadean Earth and primordial continents: The cradle of prebiotic life. *Geosci. Front.* **8**, 309–327.

Schoonen M. and Smirnov A. (2016) Staging life in an early warm "seltzer" ocean. *Elements* **12**, 395–400.

Schopf J. W. and Kudryavtsev A. B. (2012) Biogenicity of earth's earliest fossils: a resolution of the controversy. *Gondwana Res.* **22**, 761–771.

Schopf J. W. and Packer B. M. (1987) Early Archean (3.3-Billion to 3.5-Billion-Year-Old) Microfossils from Warrawoona Group, Australia. *Science (80-.).* **237**, 70–73.

Schreiber U., Mayer C., Schmitz O. J., Rosendahl P., Bronja A., Greule M., Keppler F., Mulder I., Sattler T. and Schöler H. F. (2017) Organic compounds in fluid inclusions of Archean quartz—Analogues of prebiotic chemistry on early Earth. *PLoS One* **12**, e0177570.

Schwaminger S. P., Garcia P. F., Merck G. K., Bodensteiner F. A., Heissler S., Günther S. and Berensmeier S. (2015) Nature of Interactions of Amino Acids with Bare Magnetite Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **119**, 23032–23041.

Seyfried W. E. J. and Bischoff J. L. (1981) Experimental seawater-basalt interaction at 300°C, 500 bars, chemical exchange, secondary mineral formation and implications for the transport of heavy metals. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 135–147.

Seyfried W. E. J. and Bischoff J. L. (1979) Low temperature basalt alteration by seawater : an experimental study at 70°C and 150°C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **43**, 1937–1947.

Seyfried W. E. J. and Dibble W. E. J. (1980) Seawater-peridotite interaction at 300°C and 500 bars : implications for the origin of oceanic serpentinites. *Geochim. Cosmochim. Acta* **44**, 309–321.

Seyfried W. E. J. and Mottl M. J. (1982) Hydrothermal alteration of basalt by seawater under seawater-dominated conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **46**, 985–1002.

Shanker U., Bhushan B., Bhattacharjee G. and Kamaluddin (2012) Oligomerization of glycine and alanine catalyzed by iron oxides: implications for prebiotic chemistry. *Orig. Life Evol. Biosph.* **42**, 31–45.

Shibuya T., Yoshizaki M., Masaki Y., Suzuki K., Takai K. and Russell M. J. (2013) Reactions between basalt and CO2-rich seawater at 250 and 350°C, 500bars: Implications for the CO2 sequestration into the modern oceanic crust and the composition of hydrothermal vent fluid in the CO2-rich early ocean. *Chem. Geol.* **359**, 1–9.

Shock E. and Canovas P. (2010) The potential for abiotic organic synthesis and biosynthesis at seafloor hydrothermal systems. *Geofluids* **10**, 161–192.

Sowerby S. J., Cohn C. a, Heckl W. M. and Holm N. G. (2001) Differential adsorption of nucleic acid bases: Relevance to the origin of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 820–822.

Sutherland J. D. (2016) The Origin of Life - Out of the Blue. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **55**, 104–121.

Swadling J. B., Coveney P. V. and Greenwell H. (2012) Stability of free and mineral-protected nucleic acids: Implications for the RNA world. *Geochim. Cosmochim. Acta* **83**, 360–378.

Swadling J. B., Coveney P. V and Greenwell H. C. (2010) Clay Minerals Mediate Folding and Regioselective Interactions of RNA: A Large-Scale Atomistic Simulation Study. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 13750–13764.

Swadling J. B., Suter J. L., Greenwell H. C. and Coveney P. V (2013) Influence of surface chemistry and charge on mineral-RNA interactions. *Langmuir* **29**, 1573–83.

Tajika E. (2003) Faint young Sun and the carbon cycle: implication for the Proterozoic global glaciations. *Earth Planet. Sci. Lett.* **214**, 443–453.

Tsiganis K., Gomes R., Morbidelli A. and Levison H. F. (2005) Origin of the orbital architecture of the giant planets of the Solar System. *Nature* **435**, 459–461.

Umeda Y., Fukunaga N., Sekine T., Furukawa Y., Kakegawa T., Kobayashi T. and Nakazawa H. (2016) Survivability and reactivity of glycine and alanine in early oceans: effects of meteorite impacts. *J. Biol. Phys.* **42**, 177–198.

Wacey D., Saunders M., Kong C., Brasier A. and Brasier M. (2016) 3.46 Ga Apex chert "microfossils" reinterpreted as mineral artefacts produced during phyllosilicate exfoliation. *Gondwana Res.* **36**, 296–313.

Wächtershäuser G. (1988) Before Enzymes and Templates: Theory of Surface Metabolism. *Microbiol. Rev.* **52**, 452–484.

Walter M. R., Buick R. and Dunlop J. S. R. (1980) Stromatolites 3,400–3,500 Myr old from the North Pole area, Western Australia. *Nature* **284**, 443–445.

Watson E. B. and Harrison T. M. (2006) Zircon Thermometer Reveals Minimum Melting Conditions on Earliest Earth. *Science (80-.).* **308**, 841–844.

Weiss M. C., Sousa F. L., Mrnjavac N., Neukirchen S., Roettger M., Nelson-Sathi S. and Martin W. F. (2016) The physiology and habitat of the last universal common ancestor. *Nat. Microbiol.* **1**, 16116.

Wilde S. A., Valley J. W., Peck W. H. and Graham C. M. (2001) Evidence from detrital zircons for the existence of continental crust and oceans on the Earth 4.4 Gyr ago. *Nature* **409**, 175–178.

Williams L. B., Canfield B., Voglesonger K. M. and Holloway J. R. (2005) Organic molecules formed in a "primordial womb." *Geology* **33**, 913–916.

Williams T. A., Foster P. G., Cox C. J. and Embley T. M. (2013) An archaeal origin of eukaryotes supports only two primary domains of life. *Nature* **504**, 231–236.

de Wit M. J. and Furnes H. (2016) 3.5-Ga hydrothermal fields and diamictites in the Barberton Greenstone Belt--Paleoarchean crust in cold environments. *Sci. Adv.* **2**, e1500368–e1500368.

Woese C. R. and Fox G. E. (1977) The concept of cellular evolution. *J. Mol. Evol.* **10**, 1–6.

Wollrab E., Scherer S., Aubriet F., Carré V., Carlomagno T., Codutti L. and Ott A. (2015) Chemical Analysis of a "Miller-Type" Complex Prebiotic Broth. *Orig. Life Evol. Biosph.* **46**, 149–169.

Wood J. A., Dickey Jr J. S., Marvin U. B. and Powell B. N. (1970) Lunar anorthosites and a geophysical model of the moon. *Geochim. Cosmochim. Acta Suppl.* **1**, 965.

Yamaoka K., Kawahata H., Gupta L. P., Ito M. and Masuda H. (2007) Thermal stability of amino acids in siliceous ooze under alkaline hydrothermal conditions. *Org. Geochem.* **38**, 1897–1909.

Yang Y., Wang S., Liu J., Xu Y. and Zhou X. (2016) Adsorption of Lysine on Na-Montmorillonite and Competition with Ca2+: A Combined XRD and ATR-FTIR Study. *Langmuir* **32**, 4746–4754.

Young E. D., Kohl I. E., Warren P. H., Rubie D. C., Jacobson S. A. and Morbidelli A. (2016) Oxygen isotopic evidence for vigorous mixing during the Moon-forming giant impact. *Science* **351**, 493–496.

Yu W. H., Li N., Tong D. S., Zhou C. H., Lin C. X. and Xu C. Y. (2013) Adsorption of proteins and nucleic acids on clay minerals and their interactions: A review. *Appl. Clay Sci.* **80**, 443–452.

Zahnle K., Arndt N., Cockell C., Halliday A., Nisbet E., Selsis F. and Sleep N. H. (2007) Emergence of a habitable planet. *Space Sci. Rev.* **129**, 35–78.

Zhang X., Tian G., Gao J., Han M., Su R., Wang Y. and Feng S. (2016) Prebiotic Synthesis of Glycine from Ethanolamine in Simulated Archean Alkaline Hydrothermal Vents. *Orig. Life Evol. Biosph.*, 1–13.

Zhang X., Wang F., Liu B., Kelly E. Y., Servos M. R. and Liu J. (2014) Adsorption of DNA oligonucleotides by titanium dioxide nanoparticles. *Langmuir* **30**, 839–45.

PARTIE 2 - METHODES EXPERIMENTALES ET ANALYTIQUES

1 / Caractéristiques et structures des phyllosilicates : de l'intérêt des minéraux en feuillets comme adsorbants

Les phyllosilicates sont des minéraux structurés en feuillets. Le motif de base de ces feuillets est la superposition de couches tétraédriques et octaédriques formées par l'empilement de plans d'atomes d'oxygène. On distingue ainsi (i) les phyllosilicates 1:1 dont les feuillets correspondent à la superposition d'une couche tétraédrique et d'une couche octaédrique ; (ii) les phyllosilicates 2:1 dont les feuillets sont formés par deux couches tétraédriques séparées par une couche octaédrique ; (iii) les phyllosilicates 2:1:1, composés d'un feuillet 2:1 alternant avec une couche octaédrique isolée (**Figure 1A**). Des cations stabilisent ces couches et assurent l'équilibre des charges des feuillets. Le silicium Si^{4+} occupe classiquement les sites tétraédriques et l'aluminium Al^{3+} ou le fer Fe^{3+} remplissent les sites octaédriques. Des substitutions par des cations de moindre charge sont possibles dans la structure du feuillet, entraînant l'accumulation de charges négatives. Dans le cas des phyllosilicates non gonflants, les substitutions sont peu nombreuses et c'est la présence d'hydroxyles qui assure l'équilibre des charges. Dans le cas des argiles gonflantes, ou smectites, le feuillet possède une charge négative permanente, compensée par la présence de cations échangeables organisés sur ses surfaces basales. Cette charge négative permanente confère aux smectites une capacité de rétention d'eau.

A cette structure de base s'ajoute une organisation à plus grande échelle (**Figure 1B**). Les phyllosilicates forment des particules par empilement plus ou moins ordonné des feuillets et ne se présentent que rarement sous forme exfoliée, *i.e.* en feuillets isolés. La formation des particules résulte généralement de contacts face-face des feuillets, mais ceux-ci peuvent également établir des interactions bord-face ou bord-bord en fonction des paramètres physico-chimiques du milieu. Dans certaines conditions environnementales, les particules peuvent former des agrégats désordonnés, et une porosité à plusieurs échelles. La structure des particules de smectites est très sensible aux paramètres environnementaux. Le nombre de feuillets empilés, leur ordre et leur espacement, la nature et la structure de l'espace interfoliaire sont contrôlés fortement par les paramètres physico-chimiques du milieu, comme par exemple le pH, la force ionique, la nature des électrolytes en solution, la concentration solide…

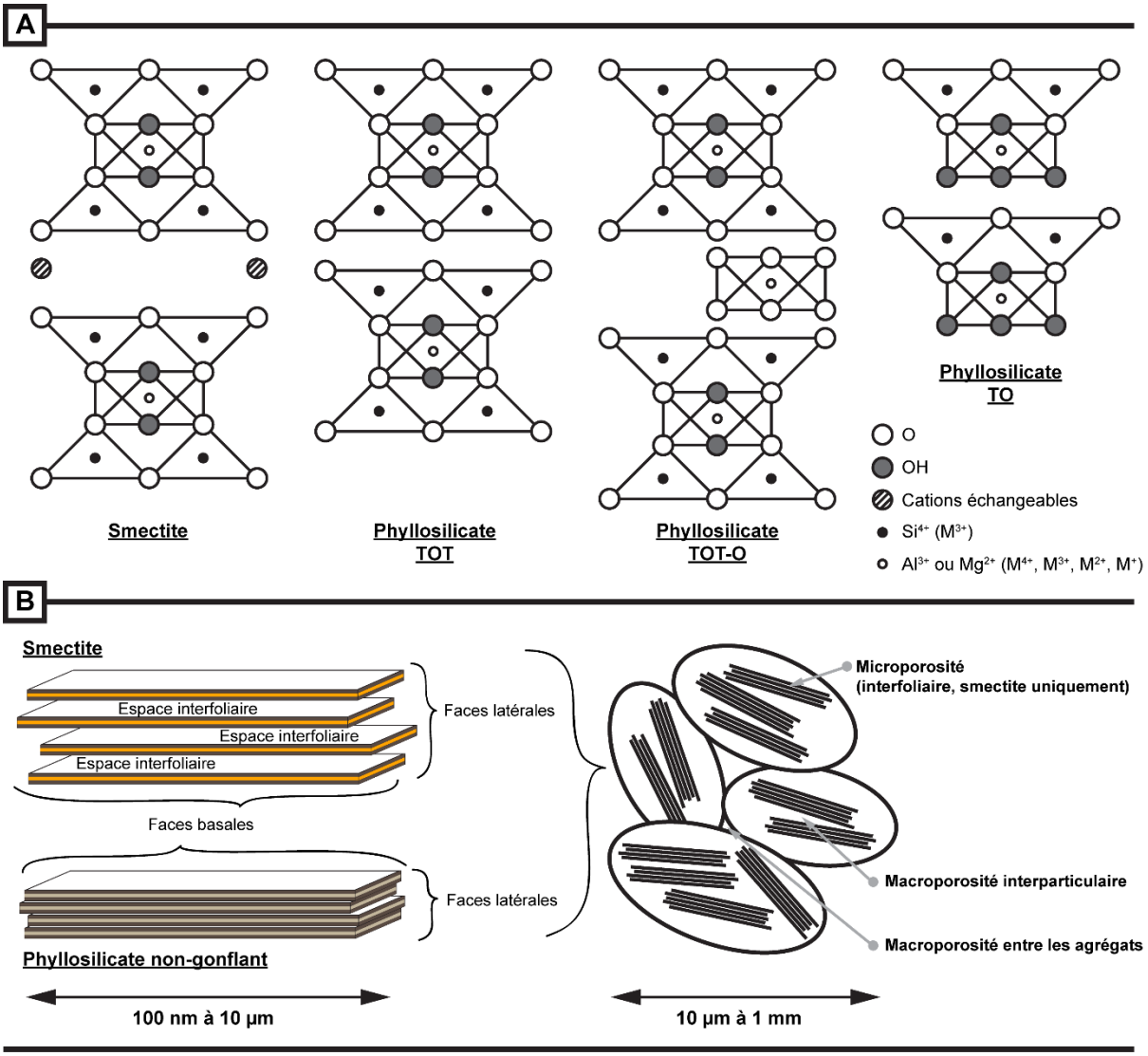


Figure 1 : A) Représentation de la cristallographie des différents types de phyllosilicates étudiés. B) Structure et organisation des phyllosilicates à plusieurs échelles (d'après *Sedighi and Thomas, 2014*).

Une fois le phyllosilicate en solution aqueuse, l'interface minéral-eau aura des propriétés différentes selon que l'on considère les faces ou les bords des feuillets. Le fort rapport d'aspect des feuillets et leur cristallographie induisent une différenciation très forte des surfaces basales et latérales. Cette démarcation impacte le comportement des adsorbats, i.e. les molécules pouvant s'adsorber sur le minéral, à l'interface minéral-eau.

La surface basale peut être très hydrophobe dans le cas de phyllosilicates ne présentant pas ou peu de substitutions et donc de défauts de charge. La surface s'apparente alors à celle d'une silice amorphe (silanols et siloxanes), avec laquelle les interactions majoritaires de l'adsorbat, qualifiées de physisorption, sont faibles et réversibles comme dans le cas des forces de Van der Waals ou des complexations de sphère externe. Dans le cas de substitutions importantes et donc de charges négatives permanentes, la présence de cations compensateurs échangeables au

niveau de régions à forte électronégativité ouvre des possibilités de réactions ou de complexations de sphère interne. Cette adsorption peut devenir irréversible par chimisorption. Par ailleurs, la présence de plusieurs couches d'eau dans l'espace interfoliaire des particules de smectites rend celui-ci accessible à certains adsorbats. Concernant les nucléotides, les résultats de la littérature font état d'observations contradictoires qui seront traitées dans les chapitres suivants de cette thèse.

La surface latérale correspond au bord du feuillet, c'est une interruption des chaînes de tétraèdres et d'octaèdres. Les cations de la maille cristalline ainsi rompue possèdent des groupements hydroxyles amphotères. Leur charge dépend des paramètres physicochimiques de l'environnement et la surface latérale s'apparente plutôt à la surface des oxy-hydroxydes. Les métaux hydroxylés sont des centres réactifs pouvant favoriser les réactions acido-basiques, la physisorption et la chimisorption sous forme de complexes mono- ou multidentates.

2 / Etudes des minéraux et des molécules organiques

Choix des minéraux, provenance

Table 1 : Nom, type et formule structurale des minéraux étudiés.

Name	Abr.	Type	Structural formula
Pyrophyllite	Pyr	2:1 (TOT)	$Al_2Si_4O_{10}(OH)_2$
Chlorite	Chl	2:1:1 (TOT-O)	$(Si_{4.51}Al_{13.49})(Ca_{0.05})(Mg_{4.44}Al_{0.60}Fe^{3+}_{3.47}$ $Fe^{2+}_{3.02}Mn_{0.01}Ti_{0.06})O_{20}(OH)_{16}$
Lizardite	Liz	1:1 (TO)	$Mg_{2.74}Fe_{0.16}Al_{0.09}Si_{1.93}Al_{0.07}O_5(OH)_4$
Chrysotile	Chrys	1:1 (TO)	$(Mg,Fe)_3Si_2O_5(OH)_4$
Nontronite	NAu1	2:1 (TOT)	$(Si_{6.98}Al_{0.95}Fe_{0.07})(Al_{0.36}Fe_{3.61}Mg_{0.04})O_{20}(OH)_4Na_{1.05}$
Nontronite	NAu2	2:1 (TOT)	$(Si_{7.55}Al_{0.16}Fe_{0.29})(Al_{0.34}Fe_{3.54}Mg_{0.05})O_{20}(OH)_4Na_{0.72}$
Montmorillonite	SWy2	2:1 (TOT)	$(Si_{7.74}Al_{0.26})(Al_{3.06}Fe^{3+}_{0.03}$ $Fe^{2+}_{0.03}Mg_{0.48})O_{20}(OH)_4Na_{0.77}$
Magnétite	Mgt	Oxyde fer	$Fe^{2+}Fe^{3+}_2O_4$

La **Table 1** liste les minéraux sélectionnés pour l'étude d'adsorption des nucléotides et de polymérisation de la glycine ainsi que leur type et formule structurale.

Pour l'étude d'adsorption des nucléotides, nous avons sélectionné des phyllosilicates ferromagnésiens géochimiquement plausibles avec une hypothèse hydrothermale prébiotique et deux phyllosilicates alumineux comme références, permettant une comparaison avec les études d'adsorption antérieures. Ont été étudiés quatre argiles gonflantes, *i.e.* deux nontronites et deux montorillonites ; deux serpentines, *i.e.* une lizardite et un chrysotile ; et deux phyllosilcates non gonflants, *i.e.* une chlorite et une pyrophyllite.

Les argiles gonflantes ont été achetées sous forme de poudres au Source Clay Minerals Repository de la Clay Mineral Society (Purdue University, Etats-Unis, http://www.clays.org/Sourceclays.html). Les nontronites NAu1 et NAu2 proviennent de la mine de graphite de Uley, au sud de l'Australie ; la montmorillonite SWy2 a été extraite de la formation Crétacé Newcastle du Wyoming aux Etats-Unis ; et la montmorillonite SAz1 provient de la formation Pliocène Bidahochi d'Arizona aux Etats-Unis. La chlorite a également été achetée au Source Clay Minerals Repository, sous la forme d'un échantillon de roche de ripidolite (CCa2-ripidolite, une chlorite riche en fer), provenant de Californie aux Etats-Unis. La pyrophyllite a été achetée à la société Stumat® sous forme d'un bloc de roche monominérale. Le chrysotile a été acheté sous forme d'un échantillon de serpentinite riche en veines fibreuses provenant du site de référence de Thetford Mines au Canada. La lizardite nous a été donnée par le Prof. M. Mellini et provient d'une serpentinite de l'île d'Elbe en Italie.

Pour l'étude de polymérisation de la glycine, nous nous sommes focalisés sur la magnétite, un oxyde de fer abondant dans le contexte de serpentinisation de la croûte océanique. La magnétite a été achetée à Sigma Aldrich ® sous forme de poudre d'oxydes de fer (II, III) puis préparé par le Dr. J. Hao à la Carnegie Institute de Washington (Etats-Unis).

Traitement hydrothermal de la magnétite

La préparation de la magnétite a été réalisée au Département des Sciences de la Terre de la Johns Hopkins University et la Carnegie Institute de Washington (Etats-Unis).

Afin d'éliminer l'oxydation de surface de la poudre de magnétite, celle-ci a subi un traitement hydrothermal. Environ 1 g de poudre est versé dans un réacteur en Téflon de 20 mL avec 10 mL d'eau ultrapure puis la suspension est rendue anoxique par bullage d'argon. Le réacteur scellé est placé dans un autoclave (Col-Int-Tech HTC-230) à 150°C pendant trois jours. La suspension ainsi traitée est séchée sous vide dans un dessiccateur.

Analyses physico-chimiques de la magnétite

La pureté, la chimie, la structure et la surface spécifique de la magnétite ont été analysées avant et après vieillissement hydrothermal. La diffraction de rayons-X (Bruker D2 Phaser), la microscopie électrique à balayage couplée à la spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie (JEOL 8500E) et la microscopie électronique en transmission couplée à la spectroscopie de perte d'énergie des électrons transmis (Philips EM 420) confirme la pureté de la magnétite et l'absence de phases oxydées après traitement. L'analyse texturale a été réalisée par la société

Micromeritics Analytical Services (Norcross, Etats-Unis) par adsorption d'azote à basse pression à 77 K. Une surface spécifique de 5,8 m^2/g a été calculée par la méthode BET sur le logiciel constructeur MicroActive pour TriStar II Plus (v2.02).

Préparation des suspensions de smectites

Les smectites ont été préparées et conditionnées dans l'eau déionisée sous forme de suspensions colloïdales (**Figure 2**). Elles ont été rendues homoioniques au sodium (ou au lithium), triées en taille par centrifugations successives et stockées en concentrations solides contrôlées au Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux de Nancy (LIEC, UMR 7360, Université de Lorraine/CNRS). Le protocole exact est détaillé dans d'autres travaux (**Michot et al., 2008; Paineau et al., 2011; Michot et al., 2013**). Les suspensions sont stockées dans le noir à température ambiante et utilisées sans préparation supplémentaire.

Broyage sous 100 µm des phyllosilicates non-gonflants

Nous avons préparé, conservé et utilisé deux stocks de poudres de nos échantillons de phyllosilicates non-gonflants. Le premier stock, correspond à des tailles grossières de poudre. La pyrophyllite et la chlorite étant relativement pures, les échantillons ont été réduits en taille au marteau puis nettoyés au bain à ultrason dans l'eau ultrapure. Ils ont ensuite été broyés au mortier en agate et tamisés sous 50 µm. Les veines de chrysotile de l'échantillon macroscopique ont été récupérées par broyage grossier au marteau et tri à la pince sous hotte aspirante. Les fibres ainsi isolées ont ensuite été réduites en particules de tailles centimétriques par découpe au scalpel. La lizardite a été broyée sous 100 µm comme expliqué ci-après.

Cette lizardite provient de veines de serpentinites échantillonnées dans les carrières de Monte Fico, sur l'île d'Elbe en Italie. Cette serpentinite a été minutieusement étudiée par le groupe de M. Mellini (**Mellini and Viti, 1994; Viti and Mellini, 1997; Fuchs et al., 1998**). Dans ces veines ont été observées des cristaux automorphes de lizardite quasi millimétriques qui en font une très bonne source pour ce minéral. Ceux-ci sont occasionnellement emballés dans une matrice de chrysotile et de serpentine polygonale, deux polytypes de la serpentine. Ces polytypes ont une chimie similaire à la lizardite mais une structure différente (fibrique ou sub-sphérique) des feuillets de la lizardite ce qui fait de ces phases minoritaires des impuretés dans le cas d'une étude d'adsorption.

L'analyse au microspectromètre Raman d'échantillons d'aspects variés de cette lizardite a permis de mettre en évidence la présence de chrysotile et de serpentine polygonale à la fois

comme matrice diffuse et comme veines plus concentrées, ainsi que la présence de veines de carbonate riche en magnésium (magnésite ou dolomite $Ca,Mg(CO_3)_2$).

La roche a été réduite en taille au marteau puis lavée dans un bain à ultrason à l'eau ultrapure. L'échantillon a d'abord été broyé grossièrement au mortier en agate puis trié à la pince sous loupe binoculaire afin d'éliminer l'essentiel des résidus fibreux, facilement reconnaissables, et de sélectionner les grains de lizardite. Cette poudre triée a ensuite subi un lessivage acide pour éliminer les carbonates dans un bain d'acide acétique tamponné (CH_3COOH ; pH = 4,8 à 25°C) sous hotte aspirante, à 80°C pendant 12 h, puis un lavage répété à l'eau ultrapure avec décantation et élimination du surnageant. Le dernier lavage est effectué par centrifugation à 4680 rpm pendant 15 min de la poudre en suspension dans tubes coniques Falcon ® 50 mL. Le surnageant est éliminé et la poudre est séchée dans un cristallisoir à 80°C à l'étuve pendant 12 h. La poudre sèche est broyée finement au mortier en agate puis tamisée pour conserver uniquement la fraction sous 100 µm.

Des échantillons de cette poudre et du résidu ont été suspendus dans l'eau ultrapure et déposés sur film de carbone de plots de microscopies électroniques puis observés par microscopie électronique à balayage (MEB). Les observations MEB de l'échantillon et du résidu > 100 µm montrent que la lizardite est le minéral majoritaire en masse mais le chrysotile est malgré tout encore présent sous forme de fines particules qui recouvrent les surfaces des feuillets de lizardite. On pourrait être tenté de purifier un peu plus l'échantillon et d'éliminer uniquement le chrysotile, mais celui-ci a une densité très proche de la lizardite. Nous avons réalisé un cycle de dix mises en suspension d'une aliquote de poudre, avec élimination rapide du surnageant. Les observations MEB montrent que cette procédure élimine bien quasiment uniquement le chrysotile, mais en très faible quantité. Au vu des quantités de poudres à traiter, et du rendement de la procédure, nous avons arrêté. La lizardite est donc utilisée telle quelle. Les analyses physiques en masse et les analyses texturales présentées plus loin laissent à penser que la pureté et la spécificité des propriétés physicochimiques de notre échantillon sont amplement suffisantes pour notre étude et pour considérer la lizardite comme radicalement différente de l'échantillon de chrysotile pur.

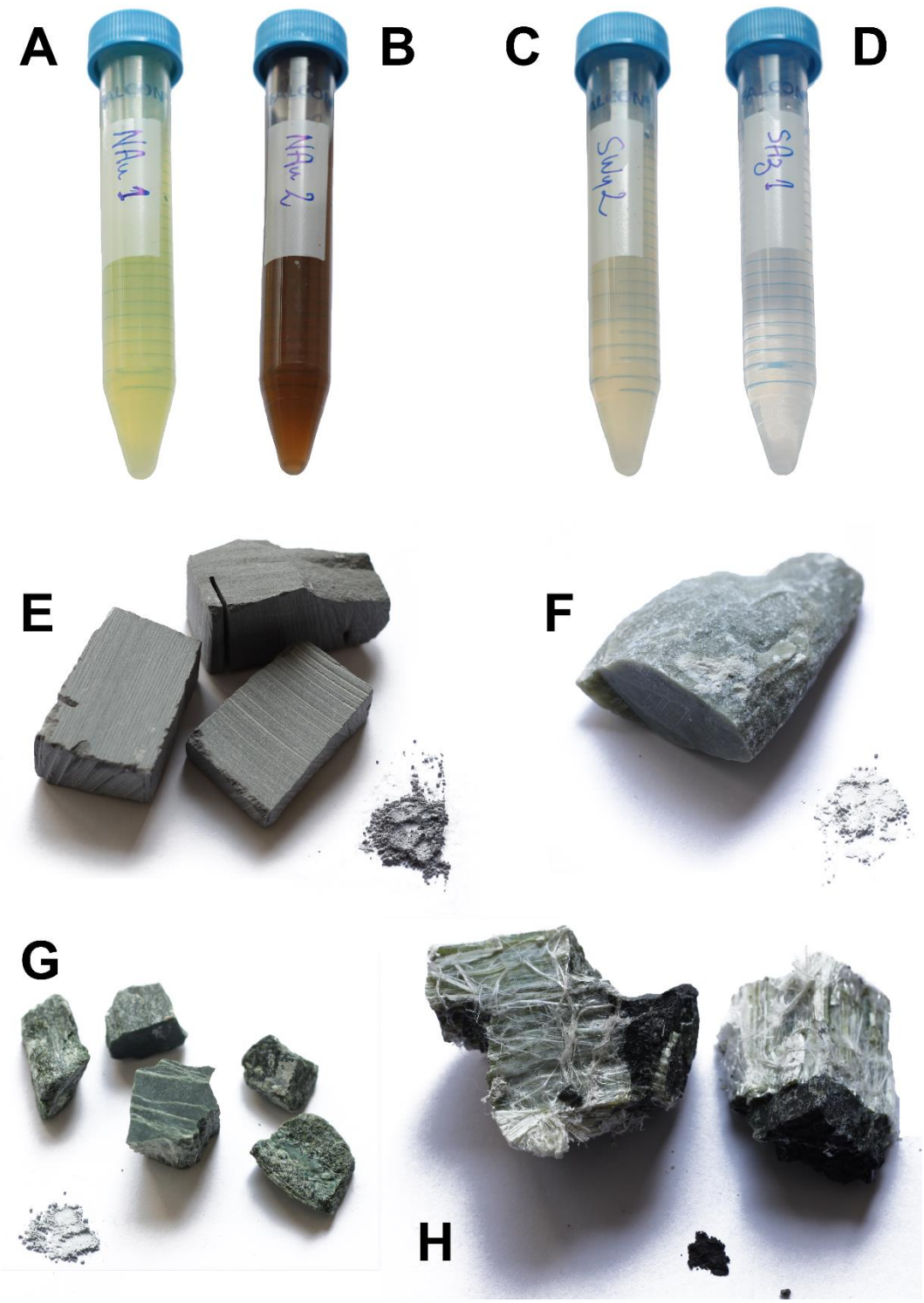


Figure 2 : Photographies des échantillons de phyllosilicates utilisés pour l'étude d'adsorption des nucléotides. Les argiles gonflantes (A-D) sont en suspension, les phyllosilicates non-gonflants sont sous forme de roche et réduits en poudre (E-H). A) NAu1, B) NAu2, C) SWy2, D) SAz1, E) Pyr, F) Chl, G) liz, H) Chrys.

Broyage sous 10 µm des phyllosilicates non-gonflants

Pour le deuxième stock, une partie des échantillons du stock 1 a été broyée sous 10 µm au broyeur automatique Planetary Ball Mill PM 100 de Retsch^{TM} par broyage colloïdal en suivant la procédure expliquée ci-après.

Pour chaque échantillon, le broyage se fait en plusieurs fois du fait du faible volume du bol du broyeur. Environ 10 mL de poudre du stock 1 et 10 mL d'eau ultrapure sont versées dans le bol en carbure de tungstène de 50 mL du broyeur automatique. Celui-ci est préalablement rempli au tiers de billes en carbure de tungstène de 3 mm de diamètre. Le chrysotile, minéral fibreux, est soumis à deux cycles de broyage successifs. D'abord 30 min à 450 rpm puis 10 min à 600 rpm. Pour chaque cycle, des inversions de rotations sont programmées toutes les 5 min avec des pauses de 30 secondes entre chaque inversion. Les minéraux en feuillets sont soumis à un cycle d'une heure à 500 rpm, avec inversions de rotation toutes les 5 min entrecoupées de pauses de 30 secondes.

La pâte broyée est récupérée à la spatule et déposée dans un bécher préalablement nettoyée pour séchage à 150°C sur plaque chauffante et sous hotte à flux laminaire. L'échantillon sec est dispersé au mortier en agate et stocké dans des tubes coniques Falcon® de 50 mL.

Entre chaque minéral, les billes sont nettoyées à l'eau distillée et à l'éthanol. Le bol est nettoyé par abrasion en utilisant une poudre de silice selon la même procédure de broyage que les poudres de feuillets. On finit de nettoyer le bol avec de l'eau ultrapure et de l'éthanol. La contamination par les matériaux du broyeur automatique (carbure de tungstène) est considérée comme négligeable au vu de la faible dureté des échantillons à broyer. Une étude du fabricant donne une pollution en W de 5 ppm, et en Co < 1ppm lors du broyage d'un échantillon de calcaire de référence, dont la dureté sur l'échelle de Mohs est supérieure à celle de nos échantillons.

Ont ainsi été obtenues dans le stock 2 : 40 g de pyrophyllite ; 37 g de chlorite ; 23 g de lizardite ; et 15g de chrysotile (**Figure 2**).

Après traitement et préparation de ces minéraux, la vérification de leur pureté et la caractérisation de leurs propriétés physicochimiques est essentielle à l'étude de leurs propriétés d'adsorption.

Analyses physico-chimiques des phyllosilicates

Table 2 : Caractéristiques physico-chimiques des phyllosilicates du stock 1 et du stock 2. PIE = point isoélectrique ; PCN = point de charge nulle ; CEC = capacité d'échange cationique ; SST = surface spécifique totale ; SSL = surface spécifique latérale. Les analyses de surfaces spécifiques ici présentées correspondent aux mesures à basse pression d'azote.

	Abr.	PIE/PCN	CEC (meq/100 g)	%SSL	SSL (m^2/g)	SST (m^2/g)
stock 1	Pyr	2,5	0,4	25	1,08	4,30
	Chl	2,5	2,1	32	1,82	5,69
	Liz	3	9,9	36	0,97	2,70
	Chrys	-	0,2	7	1,16	16,50
	NAu1	*none*	113,0	-	-	-
	NAu2	*none*	89,0	-	-	-
	SWy2	*none*	89,0	-	-	-
	SAz1	*none*	128,0	-	-	-
stock 2	Pyr	2,5	5,4	34,6	29,79	86,00
	Chl	7,5	5,6	23,7	14,44	61,00
	Liz	4-7	4,3	18,0	9,00	49,90
	Chrys	10,5	10,5	14,5	9,88	68

Les analyses ont été effectuées sur les stocks de poudre 1 et 2 lorsque c'était possible. Les échantillons du stock 2 ont subi le plus d'étapes de préparation pouvant entrainer la contamination d'échantillon. Les échantillons ont été analysés par microscopie électronique, spectroscopie vibrationnelle (Raman et Infrarouge) et diffraction des rayons X.

Microscopie électronique à balayage (MEB). Toutes les observations sont obtenues sur un microscope électronique à balayage Supra VP 55 (Zeiss^{TM}) sur échantillons non métallisés et sous vide poussé (environ 10^{-3} à 10^{-5} Pa). Une aliquote de chaque poudre est suspendue dans l'eau ultrapure. On récupère 20 µL de suspension, qui est déposée sur film de carbone sur un plot de microscopie électronique. Les poudres du stock 2 présentent moins de grains de grande taille et ceux-ci sont plus arrondis que les agglomérats anguleux observés dans le stock 1 (**Figure 3**). Ces grains anguleux sont le résultat de l'agglomération de particules fines autour d'un grain plus grossier. Dans l'ensemble, les particules du stock 2 ont des tailles bien inférieures à 10 µm et présentent une distribution de taille de grain beaucoup plus homogène que celle du stock 1 (dont la taille varie entre 1 et 100 µm). Aucune phase mineure n'a été détectée lors de nos observations à part le mélange lizardite-chrysotile dans les poudres des stocks 1 et 2 de la lizardite de Monte Fico (**Figure 3**).

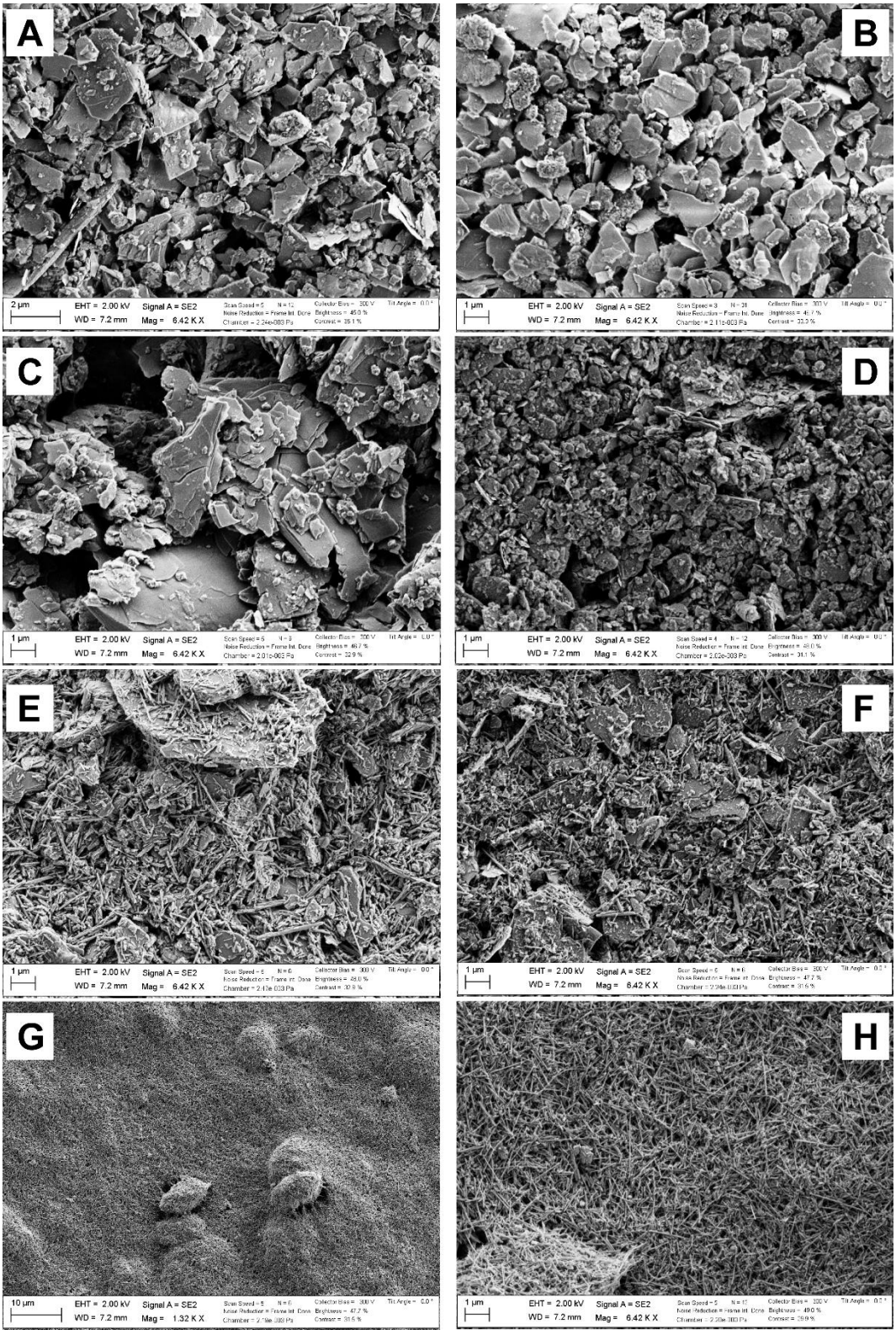


Figure 3 : Images MEB des phyllosilicates en poudre(x 6420). A) Pyr stock 1 ; B) Pyr stock 2 ; C) Chl stock 1 ; D) Chl stock 2 ; E) Liz stock 1 ; D) Liz stock 2 ; G,H) Chrys stock 2 à deux grossissements différents (x 1320 et 6420) (images :H.Pilorge, LGL). La taille des particules est bien réduite dans le stock 2 pour chaque minéral.

Raman. Les échantillons ont été analysés sur un spectromètre raman semi-confocal LabRam HR800 (Jobin Yvon Horiba^{TM}, Ens de Lyon) couplé à un microscope et une caméra, et équipé d'un laser Ar/Kr de longueur d'onde 514,532 nm. La poudre est aplatie entre deux lames de verre puis la lame de verre supérieure est enlevée et l'échantillon est placé sous le microscope. Cet environnement échantillon ne permet pas d'analyser la poudre de chrysotile pour des raisons évidentes de sécurité. Des analyses ponctuelles sont répétées pour chaque échantillon avec un réseau 600 et 1800 tr.mm^{-1}. La puissance laser est réglée à 20 mW et la densité optique des filtres est ajustée au signal de l'échantillon. Les spectres Raman de la pyrophyllite et de la chlorite sont en bon accord avec les études de références (**Prieto et al., 1991; Rinaudo et al., 2003; Auzende et al., 2004; Wang et al., 2015**). Dans les poudres de pyrophyllite une fraction de matière organique non organisée polyaromatique a été détectée au Raman grâce au doublet intense des bandes D et G centrées respectivement à 1350 et 1600 cm^{-1} (**Chen et al., 2002**). Les échantillons de lizardite ne montrent la présence de dolomite que dans les fractions analysées avant lessivage acide. Les analyses ponctuelles montrent la présence de lizardite et de chrysotile dans l'échantillon comme deux phases mélangées**.**

Infrarouge (IR). Les spectres infrarouges sont obtenus en mode transmission. Les échantillons en poudre sont mélangés à une matrice non absorbante de KBr en concentration d'environ 1%. Une pastille est fabriquée sous presse (10 tonnes) à partir d'un mélange de 200 mg de KBr préalablement séché et de 2 mg environ d'échantillon. Les mesures ont été réalisées sur la plateforme spectroscopies moléculaires du laboratoire Géoressources (UMR 7359, Université de Lorraine/CNRS). Les spectres ont été obtenus sur un spectromètre Bruker^{TM} IFS-55 équipé d'un détecteur DTGS sur la gamme 4000-400 cm^{-1} avec une résolution de 2 cm^{-1}. Un spectre est obtenu par accumulation de 200 mesures pendant environ 2 minutes. Les spectres sont présentés après corrections/soustraction des bandes de la vapeur d'eau et du CO_2 atmosphériques. Ces spectres sont en bon accord avec les données de référence (**Farmer and Russell, 1967; Post and Plummer, 1972; Shirozu, 1985; Evans and Guggenheim, 1988; Viti and Mellini, 1997; Fuchs et al., 1998**). Les bandes caractéristiques majeures de la matière organique, aromatique ou non, sont absentes de l'ensemble des spectres effectués (**Chen et al., 2002**). La pyrophyllite présente donc des quantités faibles de matière organique et n'a pas été traitée pour éliminer cette fraction.

Diffraction des rayons X (DRX). Les mesures ont été réalisées au LIEC à Nancy sur un diffractomètre de poudres D8-Advance (Brucker^{TM}) avec une anode au cobalt (raie Co Kα1, λ

= 1,78897 Å) et un détecteur linéaire. La puissance du générateur est fixée à 35 kV et 45 mA. Les poudres sont déposées sur des porte-échantillons en plexiglas standards (constructeur). Un dôme a été utilisé pour isoler l'échantillon de chyrostile par mesure de sécurité. Les diffractogrammes ont été obtenus pour un domaine de mesure en 2 thêta de 3 à 64°, avec un pas de 0,03° et une durée d'acquisition de 3 secondes par point. Les données sont traitées directement sur le logiciel constructeur et comparées dans un premier temps aux banques de données associées. Les diffractogrammes sont en bon accord avec les données de références (**Post and Plummer, 1972; Evans and Guggenheim, 1988; Wicks and O'Hanley, 1988; Viti and Mellini, 1997; Anbalagan et al., 2010**). Quelques phases mineures sont détectées dans les échantillons mais ceux-ci contiennent en grande majorité le phyllosilicate d'intérêt pour notre étude d'adsorption. Ajouter des étapes de purification supplémentaires pour éliminer les phases minérales mineures s'avérerait coûteux en temps et en énergie et pas forcément utile, dans la mesure où les analyses physicochimiques et texturales permettent de caractériser les surfaces et l'interface minéral-eau.

Les mesures du potentiel zêta et les analyses texturales ont été réalisées au LIEC de Nancy sur les échantillons des stocks 1 et 2 et sont résumés dans la **Table 2**.

Potentiel zêta. Les mesures de la mobilité électrophorétique des échantillons en fonction du pH et de la force ionique ont été effectuées sur un Zetaphoremeter IV (CAD instrumentation^{TM}). La mobilité électrophorétique, qui rend compte de la charge résiduelle de particules dans un environnement donné, est ensuite convertie en potentiel zêta en utilisant l'équation de Smoluchowski (**Van Olphen, 1977**) sur le logiciel d'acquisition et de traitement de données ZetaCompact®. On prépare un volume d'eau salée en NaCl à 10^{-1}, 10^{-2} et 10^{-3} M. La poudre est ajoutée et suspendue dans cette solution, puis injectée par tranche de 20 mL avec ajustement du pH à l'aide d'HCl ou NaOH afin de mesurer la mobilité électrophorétique sur la gamme de pH de 2 à 13 pour chaque force ionique. La cellule de mesure à électrodes de palladium est équipée d'un laser rouge pour illumination des particules dans son plan stationnaire et la mesure de la diffusion des particules est automatisée grâce à un microscope couplé à une caméra CCD.

Analyses texturales. La surface spécifique et le rapport d'aspect (surface basale et surface latérale) des échantillons ont été mesurés par adsorption/désorption d'azote en volumétrie point par point et adsorption basse pression d'azote et d'argon respectivement. Dans les deux cas, une prise d'essai de quelques grammes de poudres est d'abord dégazée sous vide (10^{-5}Pa) à

110°C pendant 18 h. La mesure de la surface spécifique par volumétrie point par point a été effectuée sur un instrument Belsorp II mini (BEL^{TM}). Les isothermes d'adsorption à 77 K ont été traitées par les méthodes BET, t-plot et BJH (**Brunauer et al., 1938; Barrett et al., 1951; De Boer et al., 1966; Sing, 1985**) afin d'obtenir la surface spécifique totale, la micro- et la mésoporosité des échantillons. L'adsorption basse pression, ou volumétrie continue d'adsorption d'azote et d'argon, a été mesurée sur un appareil développé et construit au sein du laboratoire LIEC qui assure le quasi-équilibre de l'adsorption. Le rapport d'aspect est obtenu en analysant par méthode DIS (**Villiéras et al., 1992; Villiéras et al., 1997; Michot and Villiéras, 2002**) les isothermes à basse pression d'adsorption d'azote et d'argon, qui sondent différemment les surfaces en fonction de leurs propriétés chimiques et leur section spécifique.

Capacité d'échange cationique (CEC). La CEC est une mesure de la charge structurale des minéraux d'intérêt par échange total de leurs cations compensateurs. La CEC théorique des phyllosilicates non gonflants étant faible, quelques grammes d'échantillons sont utilisés pour permettre une mesure précise. Les échantillons sont mis en contact avec une solution de cobaltihexamine ($Co(NH_3)_6^{3+}$) de concentration initiale connue. La suspension est agitée pendant deux heures à 35°C pour assurer l'échange des cations puis centrifugée. La concentration restante en ion cobaltihexamine est ensuite déterminée par dosage colorimétrique (λ=475nm) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible Shimadzu^{TM} UV2501-PC préalablement calibré. La CEC est obtenue par le calcul de la différence entre la concentration avant et après échange. Cette mesure a été vérifiée et confirmée par analyse chimique des surnageants obtenus après échange avec la cobaltihexamine au LGL. La mesure des cations majeurs de la solution (Na, K, Ca, Mg, Al, Fe, Si) a été effectuée par spectrométrie d'émission atomique à couplage à plasma inductif (ICP-AES) sur un iCAP 6000 series^{TM}. Une calibration préliminaire est effectuée par dilutions d'une solution multiélémentaire. Les échantillons sont dilués dix fois dans HNO_3 2% et dopés en Scandium, utilisé comme standard interne.

Chimie des solutions

Les expériences d'adsorption ont été réalisées dans une solution salée contenant 0,5 M de NaCl et 0,05 M de $MgCl_2$, analogue au premier ordre de l'eau de mer moderne. Plusieurs autres solutions salées ont été testées, à des concentrations variant de 0,05 à 1 M. Les sels NaCl, $MgCl_2.6H_2O$, $CaCl_2.2H_2O$, LiCl, $Li_2SO_4.H_2O$, $MgSO_4$, $NaH_2PO_4.2H_2O$, et $LaCl_3.7H_2O$, ont été achetés à Sigma Aldrich^{TM} à des puretés > 99%.

Certaines expériences ont été réalisées sur une gamme de pH comprise entre 2 et 13. L'ajustement du pH a été effectué par ajout goutte à goutte de solutions de HCl ou NaOH 1 M, et mesuré en routine au papier pH ou à l'aide d'un pHmètre Mettler Toledo™ Five Easy FE20 précis à ±0,01 unité pH et équipé d'une sonde en silice Inlab Micro (Mettler Toledo™) avant, pendant et après adsorption.

Nucléotides

Les nucléotides sont des molécules organiques complexes formées d'un sucre à 5 carbones – le ribose pour le monomère de l'ARN et le désoxyribose pour les monomères de l'ADN –, d'un groupement phosphate, et d'une base azotée. La base azotée possède un ou deux cycles aromatiques et sa structure définit le nucléotide qui la porte. On distingue les bases azotées A, T, C, G pour les monomères de l'ADN et U qui remplace T pour ceux de l'ARN. **(Partie 1, Figure 2B)** Les structures, pKa, et propriétés d'absorbance des UV sont connues et référencées dans la littérature. La solubilité des monomères n'a pas, à notre connaissance, fait l'objet d'études détaillées. Celle-ci a été obtenue à l'aide du réseau neuronal AlogPS développé par Tetko et al. **(2001**). L'ensembel de leurs propriétés sont résumées dans la **Table 3**. Les nucléotides ont été achetés sous forme de sels de sodium hydratés, purifiés pour utilisation en biochimie (Sigma Aldrich™).

Table 3 : Nom, formule chimique, masse molaire, pKa et sites associés, solubilité théorique, coefficient d'extinction molaire, et coefficients de corrections des nucléotides. Faverage = coefficient utilisé par le Nanophotometer ; Fspectro = coefficient de correction appliqué aux résultats du Nanodrop pour comparaison avec ceux du Nanophotometer ; Freal = coefficient réel pour chaque monomère calculé à partir des coefficients d'extinction molaire ; Fcorr = coefficient de correction appliqué aux données du Nanophotometer pour la détermination des valeurs réelles de concentration de nucléotides.

	Nom	Formule chimique	Masse molaire (g/mol)	Sites	pKa	Solublité théorique dans l'eau pure à 25°C (mM)[a]	ε à 260 nm ($*10^{-3}$)[b]	$F_{average}$	$F_{spectro}$	F_{real}	F_{corr}
NMP	AMP	$C_{10}H_{14}N_5O_7P$	347,22	N1	3,8	9,50	15,02	40	1	23,12	0,58
	GMP	$C_{10}H_{14}N_5O_8P$	363,22	N7	2,4	9,91	12,08	40	1	30,07	0,75
				N1	9,5						
	CMP	$C_9H_{14}N_3O_8P$	323,21	N3	4,4	50,43	7,07	40	1	45,71	1,14
	UMP	$C_9H_{13}N_2O_9P$	324,18	N3	9,6	37,02	9,66	40	1	33,56	0,84
dNMP	dAMP	$C_{10}H_{14}N_5O_6P$	331,22	N1	4,4	8,18	15,06	37	1,12	22	0,59
	dGMP	$C_{10}H_{14}N_5O_7P$	347,23	N7	2,9	7,78	12,18	37	1,12	28,51	0,77
				N1	9,7						
	dCMP	$C_9H_{14}N_3O_7P$	307,2	N3	4,6	35,61	7,1	37	1,12	43,27	1,17
	TMP	$C_{10}H_{15}N_2O_8P$	322,21	N3	10	21,04	8,56	37	1,12	37,64	1,02
				H_2PO4	< 1						
				$HPO4^-$	6,3						

a (**Tetko et al. 2001**)

b (**Cavaluzzi and Borer, 2004**)

Spectroscopie UV-visible des nucléotides en solution

Les nucléotides, principalement par la configuration électronique de leur base azotée, absorbent fortement les rayonnements ultraviolets dans la gamme 200-400 nm. Ces bases azotées spécifiques à chacun des nucléotides présentent un comportement acido-basique avec une ou deux constantes d'acidité. Ils possèdent un spectre d'absorption des UV caractéristique qui dépend également de leur spéciation.

Les spectrophotomètres que nous avons utilisés dans cette thèse sont le Nanodrop ND 1000 (Thermo™) et le Nanophotometer P330 (Implen™), qui sont dédiés aux applications de biologie moléculaire et calculent automatiquement la concentration en acides nucléiques d'une solution en utilisant la loi de Beer-Lamber :

$$A(\lambda) = log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon(\lambda) * l * C$$

avec λ la longueur d'onde, A l'absorbance, I_0 l'intensité initiale, I l'intensité transmise par l'échantillon, ε le coefficient d'extinction de la molécule, l la longueur du chemin optique et C la concentration de la molécule analysée.

Les coefficients d'extinction proposés par défaut dans les logiciels correspondent à des valeurs moyennes pour des polymères d'ADN ou d'ARN. Afin d'obtenir des valeurs comparables entre les deux machines, nous avons appliqué un coefficient de corrélation entre les 2 systèmes. De plus, la quantification correcte des concentrations des monomères en solution est obtenue grâce à l'application d'une correction établie à partir des valeurs exactes des coefficients d'extinctions des nucléotides à 25°C dans l'eau pure (**Table 3** et **Cavaluzzi and Borer, 2004**).

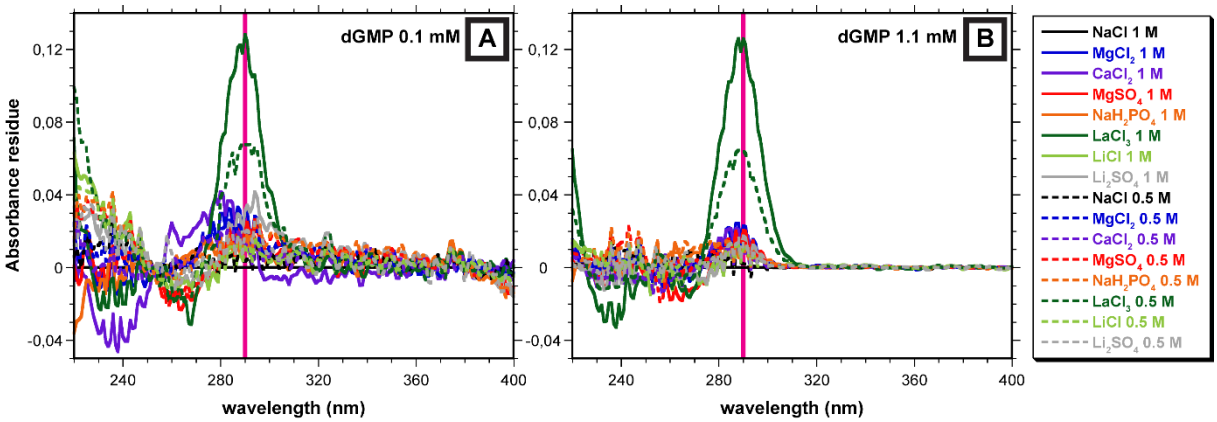


Figure 4 : Résidus des spectres d'absorbance UV en fonction des sels en solutions, normalisés au spectre d'absorbance dans NaCl 1 M. A) dGMP 0,1 mM. B) dGMP 1,1 mM.

Dans les conditions expérimentales, le spectre d'absorption UV des nucléotides peut être modifié si ces molécules sont complexées par des cations présents en solution. Nous avons

préparé des solutions de dGMP à 0,1 et 1 mM dans l'ensemble des solutions salées utilisées à 0,5 et 1 M. Nous avons analysé le résidu des spectres d'absorbance pour les différents sels par rapport au spectre obtenu dans NaCl 1 M **(Figure 4)**. Les variations de forme des spectres sont négligeables pour les sels utilisés sur la gamme 220-400 nm. Seuls les spectres résiduels obtenus dans $LaCl_3$ montrent une bande centrée à 290 nm dont l'intensité dépend de la concentration en sel. Cette modification du spectre d'absorption de dGMP dans $LaCl_3$ montre que le nucléotide est fortement complexé par les cations La^{3+}.

Les fortes concentrations en sels sont généralement utilisées pour la précipitation des acides nucléiques et des macromolécules d'ADN ou d'ARN, qui forment des agrégats ou précipitent pour des concentrations infra-molaires. Cet effet n'a pas été décrit sur les nucléotides à notre connaissance, ceux-ci étant plus solubles que leurs polymères. Nous n'avons observé aucune précipitation de nucléotide lors de l'analyse des concentrations en dGMP d'une solution de référence dans l'eau pure ou mélangée séparément à l'ensemble des sels étudiés à 1 M.

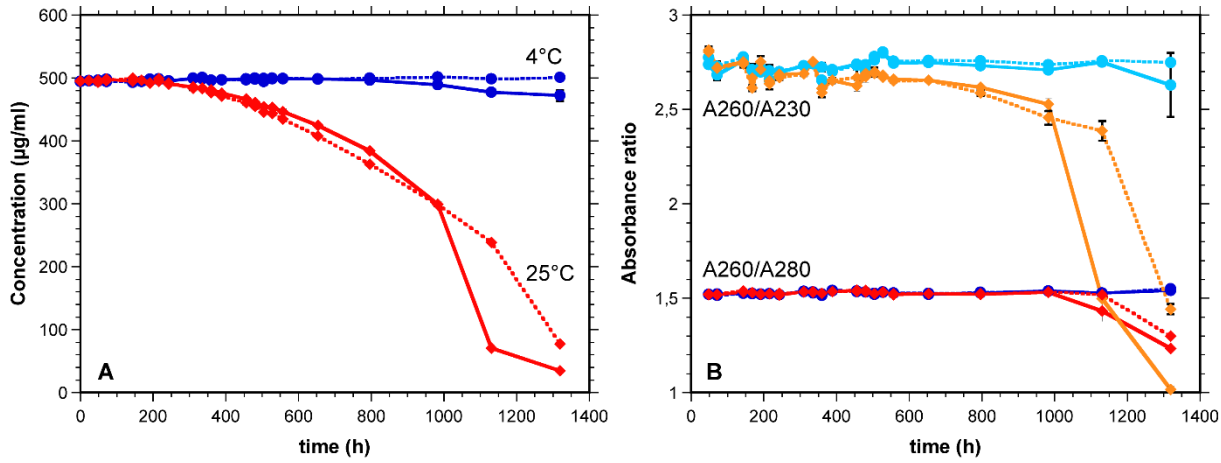


Figure 5 : Suivi de la dégradation de dGMP en solution en fonction du temps. A) Mesures de concentrations à 4°C (en bleu) et 25°C (en rouge). B) Rapports d'absorbance des spectres UV de dGMP. Bleu clair, rapport A260/A230 de dGMP à 4°C. Orange, rapport A260/A230 de dGMP à 25°C. Bleu, rapport A260/A280 de dGMP à 4°C. Rouge, rapport A260/A280 de dGMP à 4°C.

Stabilité des nucléotides sur le long terme et conservation des solutions

Les nucléotides sont des molécules complexes qui peuvent se dégrader. Les liaisons entre les différents groupes (sucre, phosphate, base azotée) s'hydrolysent en solution aqueuse. La température et la lumière sont des facteurs de dégradation avérés. Nous avons suivi la dégradation de solutions de dGMP de concentration initiale de 500 µg/mL, conservées sans précaution de stérilisation particulière dans le noir pendant 3 mois à 4 et 25°C. Des témoins

(eau ultrapure) sont conservés dans les mêmes conditions. Des mesures d'absorbance à 260 nm et de la forme des spectres (ratio 260 nm/230 nm et 260 nm/280 nm) ont été effectuées régulièrement pendant plus de 2 mois **(Figure 5)**. A 25°C, la concentration en dGMP commence à chuter vers 200 h (8 jours) alors qu'elle reste stable pendant 1200 h (20 jours) à 4°C. La concentration diminue avant les rapports d'absorbances et donc avant que la forme du spectre ne change. La dégradation de dGMP ne produit pas directement d'espèces absorbant dans l'UV. C'est donc le suivi de concentration plutôt que l'analyse de la forme du spectre UV qui est un bon indicateur du vieillissement de solutions.

Pour nos études d'adsorption, les solutions sont fraîchement préparées à chaque nouvelle expérience et conservées au réfrigérateur en cas d'éventuelle réutilisation.

Erreur standard et expérimentale en spectrophotométrie UV

Pour calculer l'erreur standard avec le spectrophotomètre en fonction de la concentration en nucléotides, nous avons analysé 20 fois sur le Nanophotometer deux échantillons uniques de solutions de dGMP à 1000, 500 et 50 µg/ml (**Table 4**). L'erreur standard calculée (sur 20 valeurs) est de l'ordre de 0,5 à 3% (2σ) de la concentration. Dans nos expériences, nous mesurons typiquement 4 fois la concentration d'un échantillon. L'erreur sur 4 valeurs successives, renseignant donc sur l'erreur commise dans les mesures de nos expériences, est comprise également entre 0,5 et 3%.

Table 4 : Résultats des 6 expériences de 20 mesures successives de concentration de dGMP. L'erreur 2 sigma sur les moyennes de 20 mesures donne une estimation de l'erreur machine. L'erreur 2 sigma sur les 4 mesures roulantes donne une estimation de l'erreur commise durant l'expérience.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
moyenne	1421,70	1418,89	499,60	498,21	52,49	52,23
ecart type	11,03	7,54	1,23	1,18	0,78	0,31
Erreur 2sigma (%)	1,55	1,06	0,49	0,47	2,99	1,18
max	1445	1441	502	500	54,8	52,6
min	1408	1412	497	495	51,9	51,5
étendue	37	29	5	5	2,9	1,1
médiane	1419	1417	499,5	499	52,2	52,2
moyenne roulante sur 4 valeurs						
Erreur 2sigma (%)	1,42	0,82	0,42	0,37	2,46	0,81
moyenne			1,05			
ecartype			0,79			

Linéarité du spectrophotomètre

Nous avons également vérifié la linéarité de réponse du spectrophotomètre dans la gamme de concentration étudiée pour tous les nucléotides utilisés au cours de cette thèse. Afin de limiter les incertitudes liées au degré d'hydratation des sels de nucléotides, nous préparons systématiquement une solution mère par dissolution de poudre, puis des solutions filles par dilutions successives. La linéarité du spectrophotomètre dans la gamme étudiée est vérifiée en représentant la concentration dans une solution donnée normalisée à la concentration de la solution mère en fonction de la fraction de dilution (X = 1/D). Nous obtenons une relation linéaire de pente 1 et d'intercepte nul pour l'ensemble des nucléotides étudiés **(Figure 6)**.

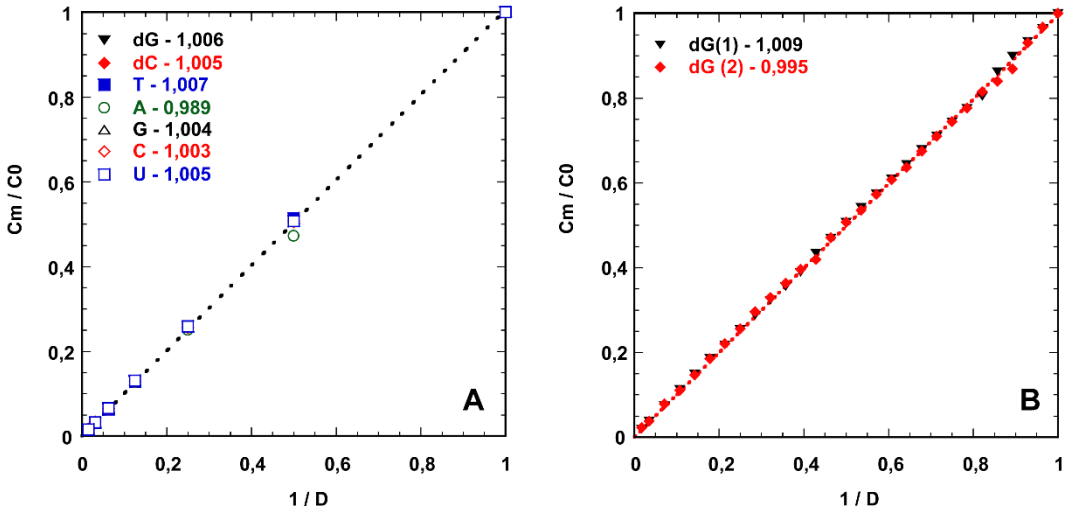


Figure 6 : Concentration mesurée normalisée à la concentration initiale en fonction de l'inverse du facteur de dilution des solutions filles. A) Linéarité du spectrophotomètre pour l'ensemble des nucléotides étudiés, sur l'étendue de concentration maximale mesurée. B) Linéarité du spectrophotomètre avant (noir) et après (rouge) changement de la cellule de mesure du Nanophotomètre.

Glycine

Nous avons acheté à Sigma Aldrich® des poudres de glycine (Gly), de ses polymères linéaires la diglycine (Gly_2) et la triglycine (Gly_3), et de son dimère cyclique la 2,5-diketopiperazine (DKP) à des puretés > 99,9%. Les poudres étant purifiées pour des applications de biochimie, elles ont été utilisées sans traitements supplémentaires et sont conservées à 4°C au réfrigérateur. Les expériences ont été effectuées sur des solutions de glycine ou des mélanges glycine-dimère. Ces solutions sont préparées par pesée et dissolution de poudres dans l'eau ultrapure (18MΩ cm) dans des tubes stériles. Les solutions sont stockées dans le noir à 4°C et utilisées pendant 2 semaines au maximum.

Spectroscopie Raman

La spectroscopie vibrationnelle Raman est une méthode non destructive basée sur l'étude des modes de vibrations des liaisons atomiques d'un échantillon et permet la détermination rapide de la composition des phases liquides, solides ou gazeuses. Cette technique analytique permet de mesurer et de discriminer les signaux de molécules proches telles que la glycine et ses polymères car les modes de vibrations dépendent du type, du nombre et de la force des liaisons entre atomes. L'effet Raman (**Raman and Nielsen, 1929**) est dû à la diffusion inélastique des photons d'une lumière monochromatique incidente par les modes de vibrations de l'échantillon analysé. Sous l'illumination d'un laser, la majorité des photons reçus par un échantillon est réfléchie, mais une très faible proportion (10^{-7} de l'intensité incidente) est diffusée de manière inélastique, et les différences d'énergie observées correspondent à des transitions vibrationnelles des liaisons analysées. Cela peut représenter l'émission d'un photon d'énergie inférieure à l'énergie incidente pour les raies Stokes, ou d'énergie supérieure pour les raies anti-Stokes (**Figure 7**).

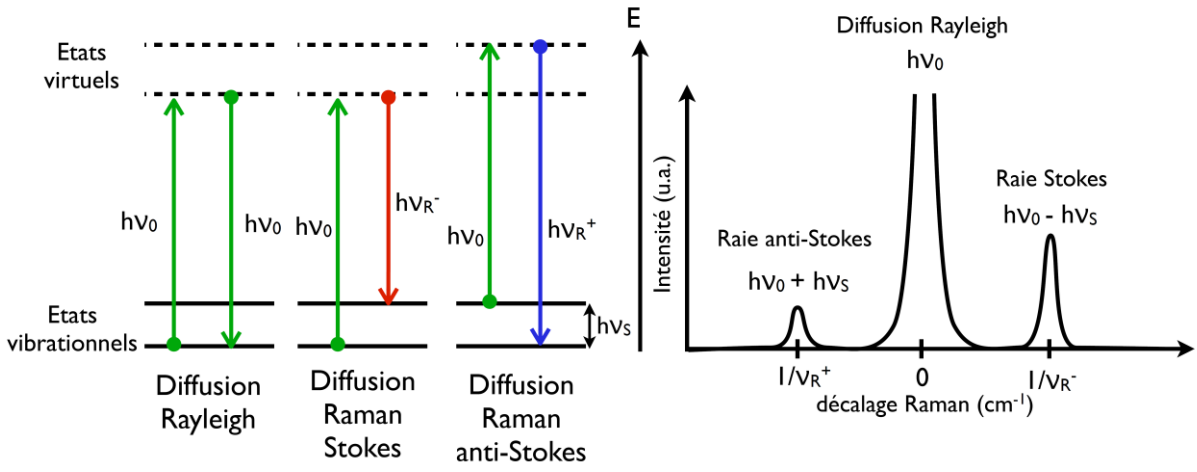


Figure 7 : Principe de l'effet Raman pour une énergie incidente hv0 (d'après *Journaux, 2013*).

La spectroscopie Raman est donc très discriminante pour l'étude de la polymérisation des acides aminés. Le monomère et ses polymères diffèrent dans leurs structures, avec notamment la formation de liaisons peptides ou de cycles non aromatiques. On peut s'attendre à ce que les spectres Raman de ces molécules soient suffisamment différents pour permettre une identification rapide des composés présents dans une solution quelconque de glycine ayant subi un traitement hydrothermal. La spectroscopie Raman est une méthode analytique non invasive et non destructrice qui s'adapte donc particulièrement bien à l'étude *in situ* de réactions ou

changements de phases en conditions de haute pression et haute température en cellule à enclumes de diamants.

Les mesures en solution à température ambiante pour les spectres de référence et de calibration ont été faites sur le Raman semiconfocal LabRam HR800 (Jobin Yvon Horiba™, Ens de Lyon) à la longueur d'onde d'excitation de 514,532 nm. La mesure est obtenue par focalisation et collecte des photons au centre du flacon en utilisant un objectif x 20 en renvoi coudé. La puissance laser maximale sur échantillon n'a pas dépassé 20 mW et a été ajustée à l'aide de filtres de densité afin d'optimiser le rapport signal/bruit.

Le suivi *in situ* de la solution de glycine aux conditions hydrothermales a été effectué grâce à un spectromètre raman confocal LabRam HR800 (Jobin Yvon Horiba™, Ens de Lyon) équipé d'un laser Quantum® Torus 400™ de longueur d'onde d'excitation 532,5 nm. La puissance laser maximale sur l'échantillon est réglée à 20 mW puis ajustée par utilisation de filtres de densité à la sortie du laser. La focalisation de la radiation incidente et la collecte des photons retrodiffusés est assurée par l'utilisation d'objectifs Mitutoyo™ à longue distance de travail de grossissements x20 et x50. Une caméra CCD permet l'observation de l'échantillon à travers le même chemin optique. La géométrie confocale et l'utilisation d'un microscope permettent d'obtenir une résolution spatiale latérale et en profondeur inférieure de quelques μm^3. Ce système permet la mesure de spectres de haute qualité et de limiter le signal de l'environnement échantillon (diamant principalement) et d'obtenir un bon rapport signal/bruit. L'utilisation d'un réseau holographique de 1800 $tr.mm^{-1}$ permet d'atteindre une résolution spectrale de 0,3 cm^{-1}.

Limite de détection et vieillissement sous laser

La glycine est détectable jusqu'à des concentrations de 0,05 M. Néanmoins, sa solubilité est suffisante pour travailler avec des solutions concentrées à 2 mol/kg. Ceci permet d'obtenir un meilleur rapport signal/bruit et d'avoir une meilleure chance d'observer la formation des produits de réaction, même si leurs rendements théoriques ne sont pas élevés.

Le laser constitue un apport d'énergie non négligeable au système. Les polymères de la glycine pourraient être dégradés par le seul effet d'une illumination prolongée. Nous avons donc suivi le vieillissement d'une solution de Gly_2 à 0,5 M sous une exposition continue au laser pendant 4 h à une puissance de 20 mW sur l'échantillon et à 25°C, avec une mesure toutes les 30 minutes

d'un spectre en 4 fois 20 s entre 300 et 3900 cm^{-1}. Nous n'avons pas observé de vieillissement dans ces conditions.

Acquisition des spectres de référence et de calibration

Les mesures de spectres de références de Gly et Gly_2 à 1 M, et de DKP à 0,125 M montrent que l'on peut facilement discriminer le monomère du dimère linéaire ou cyclique.

Le choix des bandes spécifiques des différentes molécules pour le suivi *in situ* de la réaction nécessite de faire un compromis entre la bonne individualisation de la bande d'intérêt pour une résolution spectrale donnée, son intensité et donc la sensibilité de l'expérience, et les possibles pollutions du signal par l'environnement échantillon. Les bandes spécifiques des liaisons peptides (bandes amides) ont une intensité faible et leur suivi ne permettra pas la détection de faibles quantités de polymères. La zone riche en bandes située entre 1275 et 1375 cm^{-1} ne sera pas mesurable lors de l'expérience car elle sera saturée par la bande du diamant, qui constitue l'environnement échantillon. Nous avons donc choisi de nous focaliser sur les bandes les plus intenses des différentes molécules, afin d'avoir une sensibilité suffisante : (i) la bande à 898 cm^{-1} pour Gly ; (ii) le doublet 882-918 cm^{-1} pour Gly_2 ; (iii) la bande à 798 cm^{-1} pour DKP. Le doublet de Gly_2 encadre la bande principale de Gly. La formation de Gly_2 dans la solution de Gly correspondra donc à l'apparition d'épaules sur le pic de Gly. Une solution contenant ces trois molécules permettra l'acquisition d'un spectre raman présentant une bande de DKP facilement identifiable et une ou deux épaules sur le pic de Gly caractéristiques de la présence de Gly_2. Celles-ci seront facilement mesurables par déconvolution du spectre car la résolution spectrale utilisée est suffisante pour l'analyse fine du spectre.

La spectroscopie Raman n'est pas une méthode quantitative, mais peut être semi-quantitative par l'utilisation de standards internes ou la comparaison des paramètres de bandes d'intérêts sur un même spectre. Afin de mesurer la quantité de polymères formés lors de la réaction de la glycine en conditions hydrothermales, nous avons mis au point une calibration permettant de calculer les fractions molaires des différents polymères par rapport à la glycine restante en solution (**Figures 8 et 9**).

Nous avons préparé des solutions de Gly à 1,5 M, Gly_2 à 1,5 M, et DKP à 0,125 M dans l'eau ultrapure. Ces solutions mères ont ensuite été mélangées dans des flacons en verre transparents et préalablement lavés pour obtenir 1 mL de solutions filles aux concentrations de mélanges voulues. Les solutions filles du mélange Gly-Gly_2 ont été préparées en concentration croissante en Gly_2 à un pas de 10%mol. Les solutions filles du mélange Gly-DKP ont été préparées en

concentration croissante en DKP à un pas de 1%mol jusqu'à 10%mol de DKP, puis à un pas de 10%mol. Les spectres de ces échantillons ont tous été mesurés avec des paramètres d'acquisition identiques : trois fenêtres à basse fréquence entre 300 et 1800 cm^{-1} et une fenêtre à haute fréquence entre 2750 et 3100 cm^{-1}, pour un temps d'exposition de 2 fois 20 s (**Figure 8**).

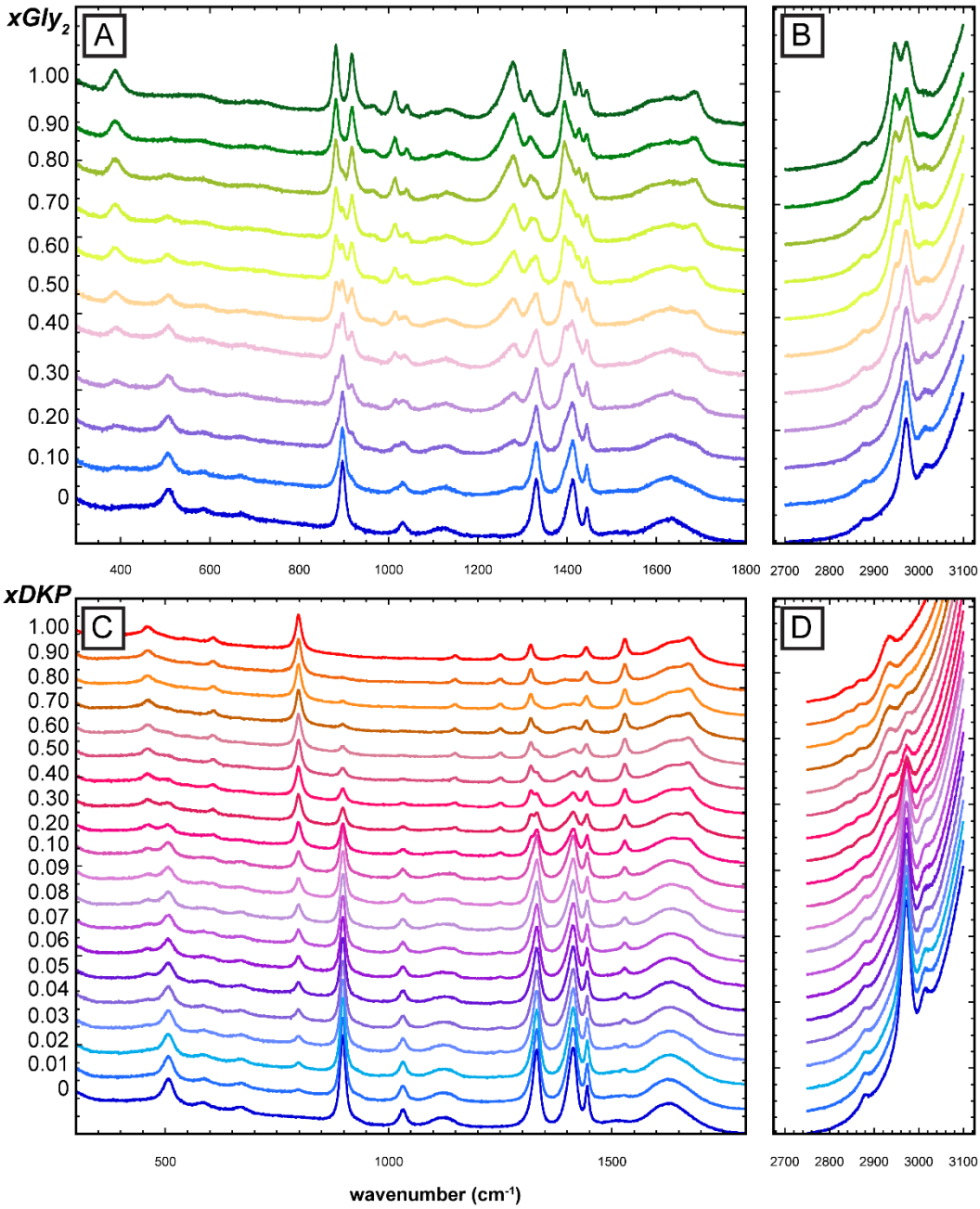


Figure 8 : Spectres de calibration mesurés pour les mélanges Gly-Gly_2 à basse (A) et haute (B) fréquence, et pour les mélanges Gly-DKP à basse (C) et haute (D) fréquence. La fraction molaire de dimère en solution est notée en face de chaque spectre à gauche. Vers le haut : augmentation croissante de la proportion de dimère en solution.

Traitement de la calibration

Le traitement des spectres a été effectué sur le logiciel Peakfit (v4.12). Nous avons isolé des zones de travail autour des bandes d'intérêts des molécules en solution. Typiquement, pour le mélange Gly-Gly_2 nous avons isolé 3 fenêtres : de 330 à 560 cm^{-1} pour les bandes centrées à 389 et 506 cm^{-1} ; de 850 à 950 cm^{-1} pour les bandes centrées à 897 et le doublet à 882-918 cm^{-1} ; de 2890 à 3000 cm^{-1} pour les bandes à 2946 et 2972 cm^{-1} (**Figures 8A, B et 9**). Pour le mélange Gly-DKP, nous avons isolé 2 fenêtres : de 730 à 950 cm^{-1} pour les bandes centrées à 798 et 897 cm^{-1} ; de 2890 à 3000 cm^{-1} pour les bandes à 2927 et 2972 cm^{-1} (**Figures 8C, D et 9**).

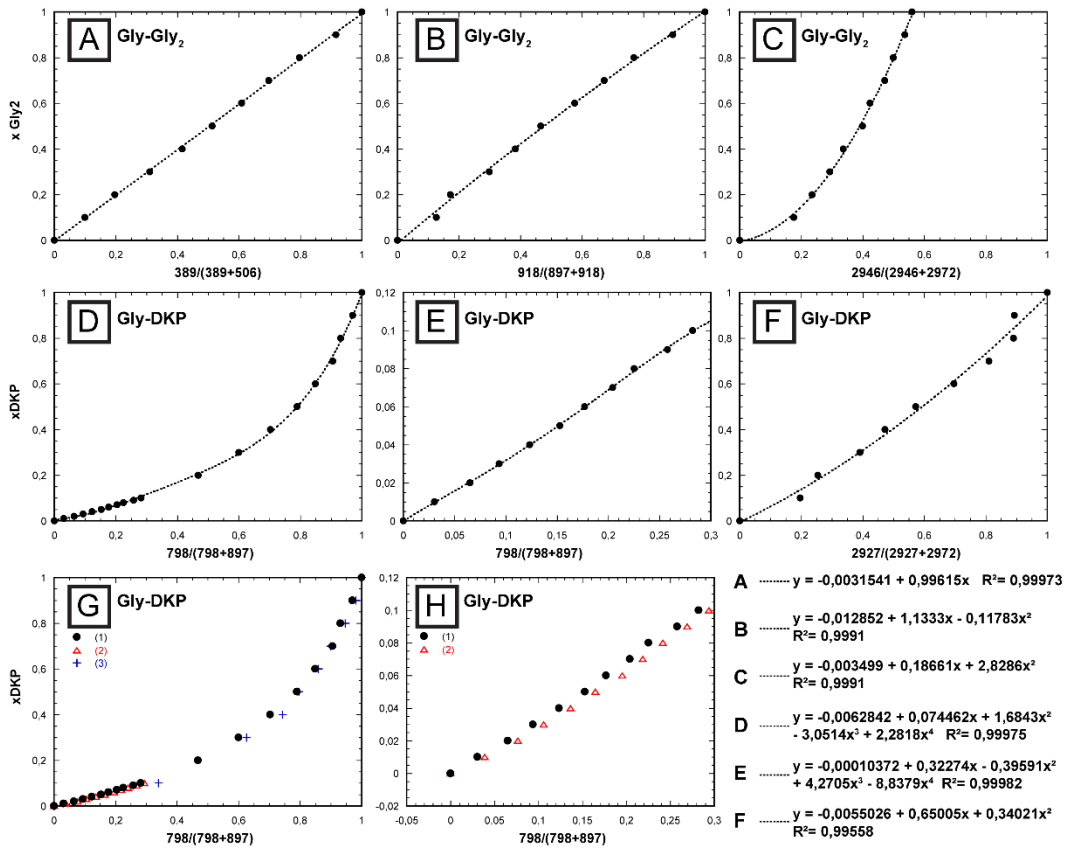


Figure 9 : Courbes de calibration de la fraction molaire de dimère en fonction des rapports d'intensités des bandes caractéristiques de Gly, Gly_2 et DKP. Calibration pour le mélange Gly-Gly_2 (A) dans la région 300-500 cm^{-1}, (B) dans la région des bandes intenses 750-950 cm^{-1}, (C) à haute fréquence. Calibration pour le mélange Gly-DKP (D) dans la région des bandes intenses 750-950 cm^{-1}, (B) dans la même région mais pour une fraction molaire de DKP inférieure à 10%, (F) à haute fréquence. (G) et (H) présentent plusieurs expériences de calibrations pour le mélange Gly-DKP et montrent la bonne reproductibilité du traitement. En bas à droite sont données les modélisations des courbes de calibration de chaque figure.

Une ligne de base linéaire est utilisée afin de supprimer le fond de tous les spectres. Nous avons utilisé des bandes de type Voigt et les fonctions classiques de modélisation de Peakfit par minimisation du résidu entre les données et le modèle (algorithme intégré de minimisation non-linéaire de Levenburg-Marquardt). Ce procédé est itératif et nécessite l'estimation d'un ensemble de paramètres initiaux.

Dans un premier temps, un modèle de référence est calculé pour le mélange contenant 50%mol de polymère, permettant d'isoler facilement à la fois les bandes de la glycine et du polymère considéré. Ce premier modèle permet ensuite de fixer la position des bandes d'intérêts pour toutes les concentrations analysées.
Nous avons ensuite modélisé par des fonctions polynomiales la corrélation entre les rapports d'intensités des bandes caractéristiques du polymère et de la glycine et la fraction molaire de polymère en solution (**Figure 9**).

L'erreur totale de quantification est difficile à déterminer car elle dépend à la fois de la qualité des spectres, de la répétabilité de la modélisation et de la préparation des solutions et de leur mélange. On peut estimer une erreur de quantification en répétant plusieurs fois l'expérience de calibration. Ainsi, la calibration des mélanges Gly-DKP a été reproduite 3 fois. Nous estimons alors que l'erreur de quantification par cette méthode est proche de ± 1%mol.

3 / Adsorption des nucléotides à pression et température ambiantes

Protocole d'adsorption

L'adsorption peut être décrite comme un processus d'enrichissement de la surface d'un adsorbant (ici un minéral) en un adsorbat (un nucléotide) par rapport au milieu (la solution aqueuse).
Une des méthodes d'adsorption les plus communément employée est la méthode d'adsorption en batch (**Figure 10**). Cette méthode d'estimation classique et indirecte consiste à mesurer la différence de concentration entre la solution initiale d'adsorbat et la même solution après équilibre avec un adsorbant. Le défaut de quantité de matière d'adsorbat en solution après équilibre correspond alors à la quantité de matière adsorbée en surface du minéral.

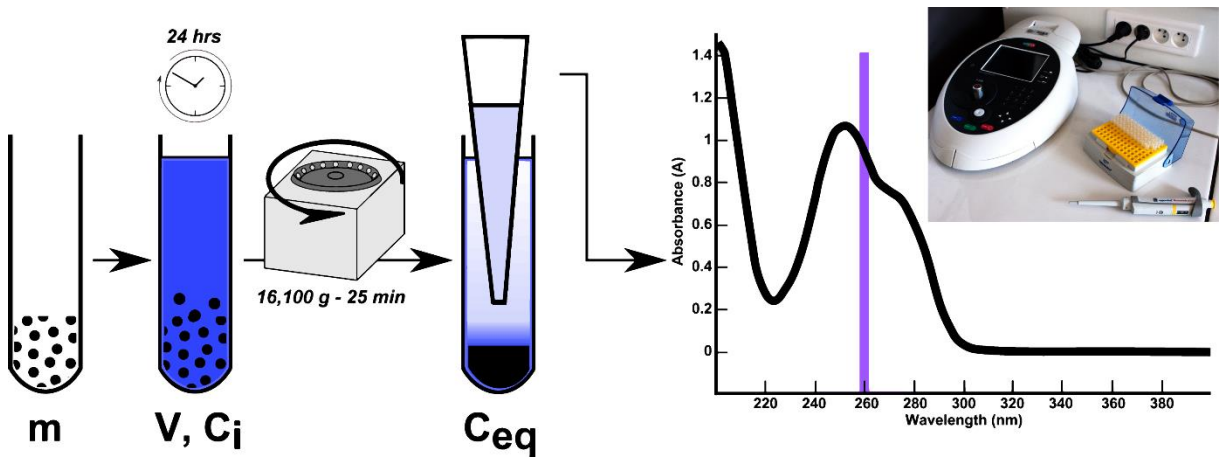


Figure 10 : Représentation schématique du protocole d'adsorption des nucléotides sur les phyllosilicates mesurée sur le Nanophotometer.

Au cours de ce travail, on prépare une solution mère par dissolution d'un nucléotide dans une solution salée d'intérêt. Par dilutions successives, on prépare les solutions de concentrations initiales désirées en nucléotide.

Pour les minéraux en poudres, on pèse précisément une aliquote dans un tube Eppendorf™ Safe-Lock® de 2 ml, pour obtenir classiquement une concentration solide d'environ 5 mg/ml. On ajoute 1 ml de la solution de nucléotide. Pour les minéraux en suspensions, on mélange dans les mêmes tubes de 2 ml un volume de 0,5 ml de suspension avec 0,5 ml de solution de nucléotide. Les suspensions ainsi formées sont agitées au vortex pendant 10 à 30 secondes puis laissées dans le noir à 25°C pendant 24 h dans un bain thermostaté HAAKE Phoenix II C50P (Thermoscientific™, stabilité ±0,01°C). Au bout de 24 h l'équilibre est atteint et les tubes sont centrifugés à 16 100 g pendant 25 min. On prélève 0,9 ml de surnageant et le culot hydraté est conservé au congélateur.

Le surnageant est ensuite analysé au spectrophotomètre UV-visible pour quantification de la concentration à l'équilibre en nucléotides à 260 nm. La concentration initiale est quant à elle mesurée grâce à des blancs, *i.e.* des tubes contenant 1 ml de la même solution de nucléotide, sans le minéral, ayant subis les mêmes étapes d'expérimentation. Les échantillons sont au moins dupliqués pour permettre la vérification des résultats et détecter l'éventuelle contamination d'un tube. Toutes les mesures d'absorption sont répétées trois à quatre fois pour chaque échantillon et de l'eau ultrapure est utilisée comme blanc.

Dans nos conditions de travail, ni le temps de centrifugation ni le volume de surnageant prélevé n'influent sur la mesure de concentration.

Dans la majorité des cas, les expériences d'adsorption sont faites au pH d'immersion du minéral, *i.e.* le pH d'équilibre entre la solution salée et le minéral en suspension. Celui-ci est proche de 7 pour la totalité des solutions utilisées sauf pour NaH_2PO_4, pour lequel le pH d'immersion est compris entre 5 et 6. Les minéraux n'ont pas d'influence sur le pH des solutions salées.

Une isotherme d'adsorption se construit par mesure à l'équilibre de la quantité d'adsorbat retenue par l'adsorbant lors de l'exploration de l'étendue des concentrations en adsorbat en solution, à une température constante. Nous avons travaillé dans une gamme allant de 0 à 3,2 mM de nucléotides (concentration au moins 10 fois plus faible que la solubilité de ces molécules à 25°C et dans l'eau pure). La solution est laissée en contact avec le minéral et on mesure la quantité de matière adsorbée pour une concentration à l'équilibre en nucléotide donnée. On construit point par point une courbe à l'équilibre entre nucléotide adsorbé et nucléotide en solution, sur la surface du minéral. Ces courbes sont construites pour une température d'équilibre donnée. On parle d'isotherme d'adsorption et on représente classiquement la quantité de matière adsorbée par gramme d'adsorbant en fonction de la concentration d'adsorbant en solution (**Figure 11**). Lorsque l'on connaît la surface réactive du minéral on peut calculer la courbe de densité d'adsorption par m² de surface minéral en fonction de la concentration du nucléotide en solution. Cette courbe permet une comparaison quantitative des comportements d'adsorption de plusieurs adsorbants pour un même adsorbat.

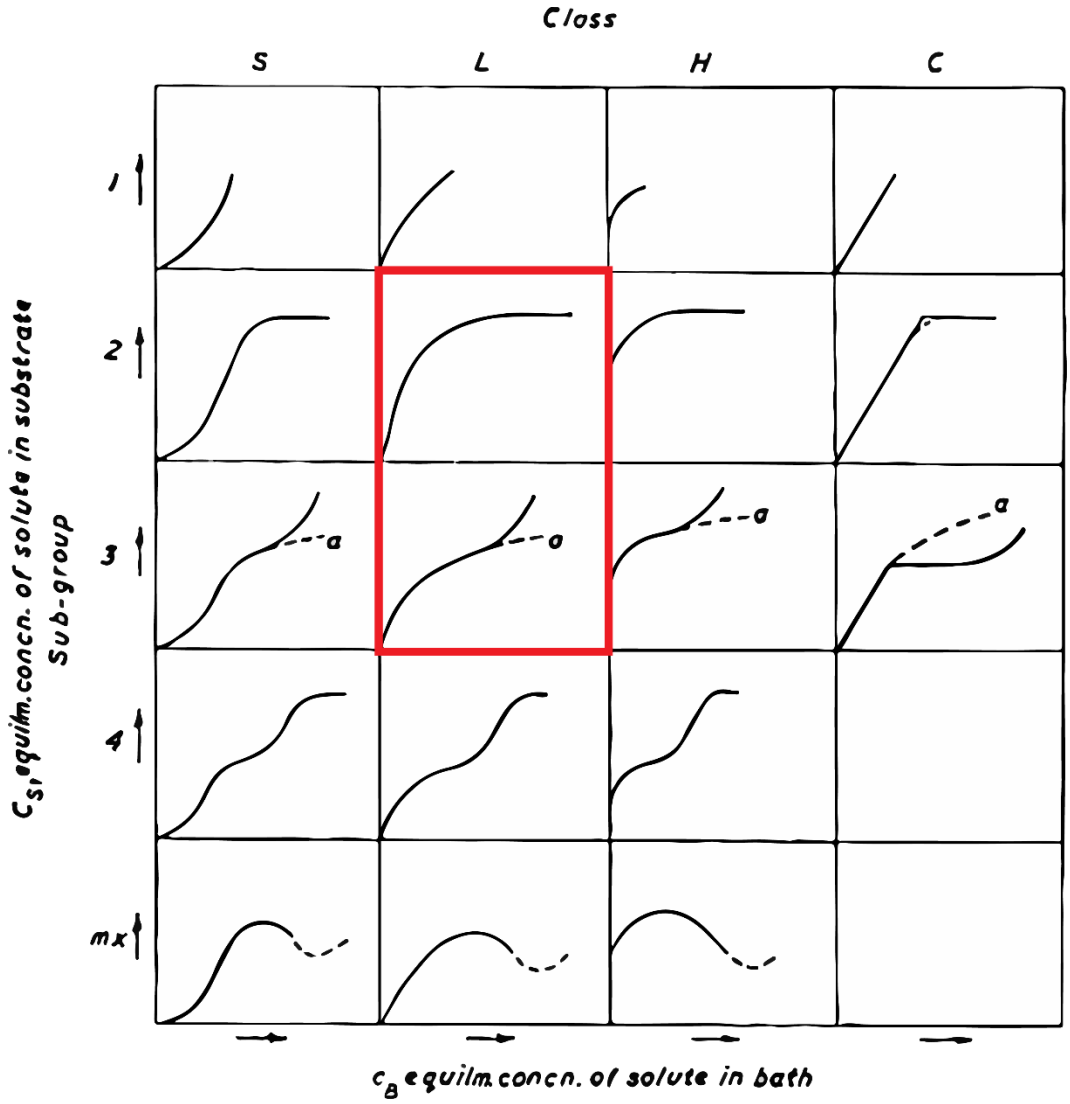


Figure 11 : Classification des isothermes d'adsorption de Giles et al. (1*960*). Les isothermes encadrées en rouge correspondent à celles observées lors de nos expériences.

Variabilité expérimentale et reproductibilité de la méthode d'adsorption en batch

Nous avons analysé la variabilité expérimentale des expériences d'adsorption. Nous avons utilisé des solutions de dGMP contenant 0,5 M de NaCl et 0,05 M de $MgCl_2$. Nous avons répété la procédure d'adsorption en batch sur 20 tubes de pyrophyllite avec 500 µg/ml de dGMP ; 20 tubes de pyrophyllite avec 50 µg/ml de dGMP ; 20 tubes de nontronite NAu1 avec 500 µg/ml de dGMP ; et 20 tubes de nontronite NAu1 avec 50 µg/ml de dGMP. Les mesures ont été effectuées 4 fois pour chaque échantillon et les valeurs moyennes et écarts types des quantités adsorbées pour la pyrophyllite et la nontronite ont été calculés pour chaque concentration de dGMP. La variabilité expérimentale est estimée par le pourcentage d'erreur sur la valeur moyenne d'adsorption dans chaque condition (**Table 5**). Cette variabilité expérimentale varie de 4 à 18% (2σ) de la quantité adsorbée mesurée. Elle est plus importante pour la nontronite

que pour la pyrophyllite. Ceci s'explique certainement par le fait que la pyrophyllite présente une plus grande surface réactive que la nontronite et que le signal d'adsorption mesuré par rapport au bruit est donc plus élevé pour la pyrophyllite.

Table 5 : Résultats des 20 mesures d'adsorption de dGMP sur la pyrophyllite et la nontronite pour deux concentrations à l'équilibre. Le calcul de l'erreur (2 sigma) permet d'estimer la variabilité expérimentale en fonction de la concentration.

					Erreur 2sigma (%)	
Adsorption	**Q ads (µg/mg)**	**ecart type**	**Ceq (µg/mL)**	**ecartype**	**%Qads**	**%Ceq**
Pyr - dGMP 500	28,55	0,68	444,59	5,11	4,75	2,30
Pyr - dGMP 50	8,49	0,30	30,84	0,96	7,02	6,25
NAu2 - dGMP 500	8,65	0,79	550,89	3,62	18,17	1,32
NAu2 - dGMP 50	3,17	0,11	44,23	0,53	7,20	2,38

Nous avons réalisé 4 fois la même expérience d'adsorption de dGMP sur la nontronite NAu2 dans une solution salée de NaCl 0,5 M et $MgCl_2$ 0,05 M. La première expérience a été analysée à la fois sur le Nanodrop et sur le Nanophotometer. Les trois autres expériences d'adsorption ont été analysées uniquement sur le Nanodrop pour vérifier la reproductibilité de cette procédure à l'échelle d'une isotherme entière et sur deux machines différentes. Les isothermes mesurées sont similaires dans tous les cas, et même si la variabilité expérimentale et la dispersion des valeurs d'adsorption semblent plus importantes à forte concentration à l'équilibre en dGMP (comme mesuré précédemment) celles-ci sont dans les barres d'erreur calculées.

Isothermes d'adsorption : gamme de concentration à l'équilibre et résolution

L'étude de l'équilibre d'adsorption peut se faire sur une gamme de concentration à l'équilibre plus ou moins étendue. Aux faibles concentrations prédominent les mécanismes d'adsorption de haute énergie. Une fois ces sites saturés, d'autres interactions de plus basse énergie peuvent entrer en jeu si la concentration à l'équilibre en adsorbat est augmentée (**Figure 11**). La gamme à considérer pour les isothermes d'adsorption dépend donc surtout de notre étude et de ses implications. Il s'agit d'un compromis entre une étude idéale de l'ensemble des interactions possibles et le contexte géochimique d'intérêt. La concentration des nucléotides dans les environnements primitifs n'a probablement pas dépassé les quelques millimolaires. Nous avons choisi de rester dans une gamme de concentration basse, d'autant plus que les isothermes d'adsorption semblent atteindre le plateau typique des isothermes de type L (**Giles et al., 1960**). Par ailleurs, pour des raisons pratiques d'économie de matériel, d'énergie et de temps, il

convient de limiter le nombre d'échantillons pour chaque isotherme et donc d'estimer la résolution : le nombre de points par isothermes.

Nous avons étudié l'adsorption du dGMP sur la montmorillonite SWy2, les deux nontronites et la pyrophylllite dans une solution salée NaCl 0,5 M et MgCl2 0,05M, sur une gamme de concentration de dGMP allant de 0 à 3,2 mM (0 à 1500 µg/ml). Toutes les isothermes ont un comportement asymptotique et atteignent un plateau entre 0,8 et 1,2 mM (**Figure 12**). Pour la pyrophyllite, phyllosilicate non gonflant, l'adsorption de dGMP n'augmente plus ou très peu après avoir atteint ce plateau. Les isothermes des argiles gonflantes présentent une augmentation linéaire de la quantité adsorbée après avoir atteint de plateau (**Figure 12**). Ce comportement, même s'il est intéressant et laisse entrevoir des capacités polyvalentes d'adsorption des argiles gonflantes, ne sera pas étudié plus en profondeur dans cette thèse. Nous nous focaliserons sur la gamme basse de concentration, limitée au comportement asymptotique des isothermes, entre 0 et 1,2 mM (0 à 600 µg/ml).

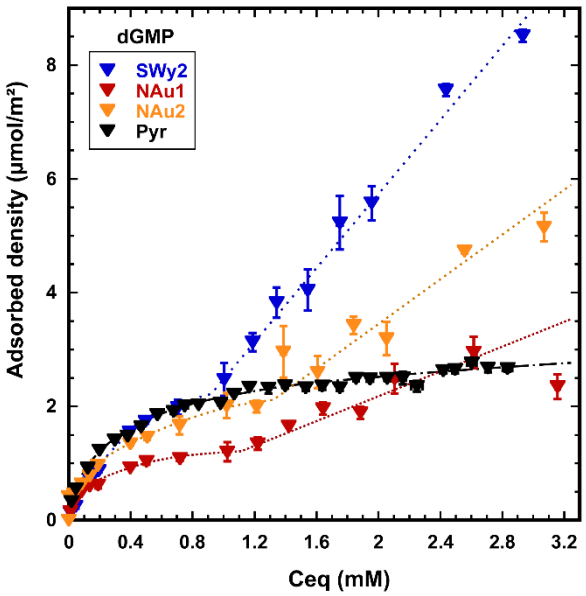


Figure 12 : Densités d'adsorption de dGMP sur une montmorillonite, deux nontronites et une pyrophyllite. Au-delà de 1,2 mM, le comportement d'adsorption des argiles gonflantes change drastiquement, contrairement à la pyrophyllite.

Analyse en spectrométrie UV des suspensions minérales et des sels

Les sels utilisés ont été analysés en solution à 0,5 et 1 M au spectrophotomètre UV. Ils n'absorbent pas dans la gamme considérée.

Les particules en suspension peuvent absorber ou disperser la lumière et donc modifier le spectre d'absorption d'une solution de nucléotide dans le cas où la séparation des phases minérale et liquide s'avérerait inopérante. Nous avons testé la séparation de phase de suspensions de nontronite NAu2 et de pyrophyllite dans 1 ml de solution salée (ou d'eau ultrapure) pour l'ensemble des sels étudiés à 0,5 et 1 M (**Figures 13**). Après 24 h dans le noir à

25°C, les suspensions sont centrifugées à 16 100 g pendant 25 min et le surnageant est analysé au spectrophotomètre à 260 nm.

Dans la majorité des cas, on n'observe pas de variations significatives du signal d'absorbance. Les suspensions de NAu2 dans l'eau pure ou dans NaH_2PO_4 constituent la seule exception. Les argiles gonflantes forment des « flocs » de tailles plus petites que dans les autres solutions salées et sédimentent partiellement lors de la centrifugation. Le résidu en suspension est responsable du signal d'absorption.

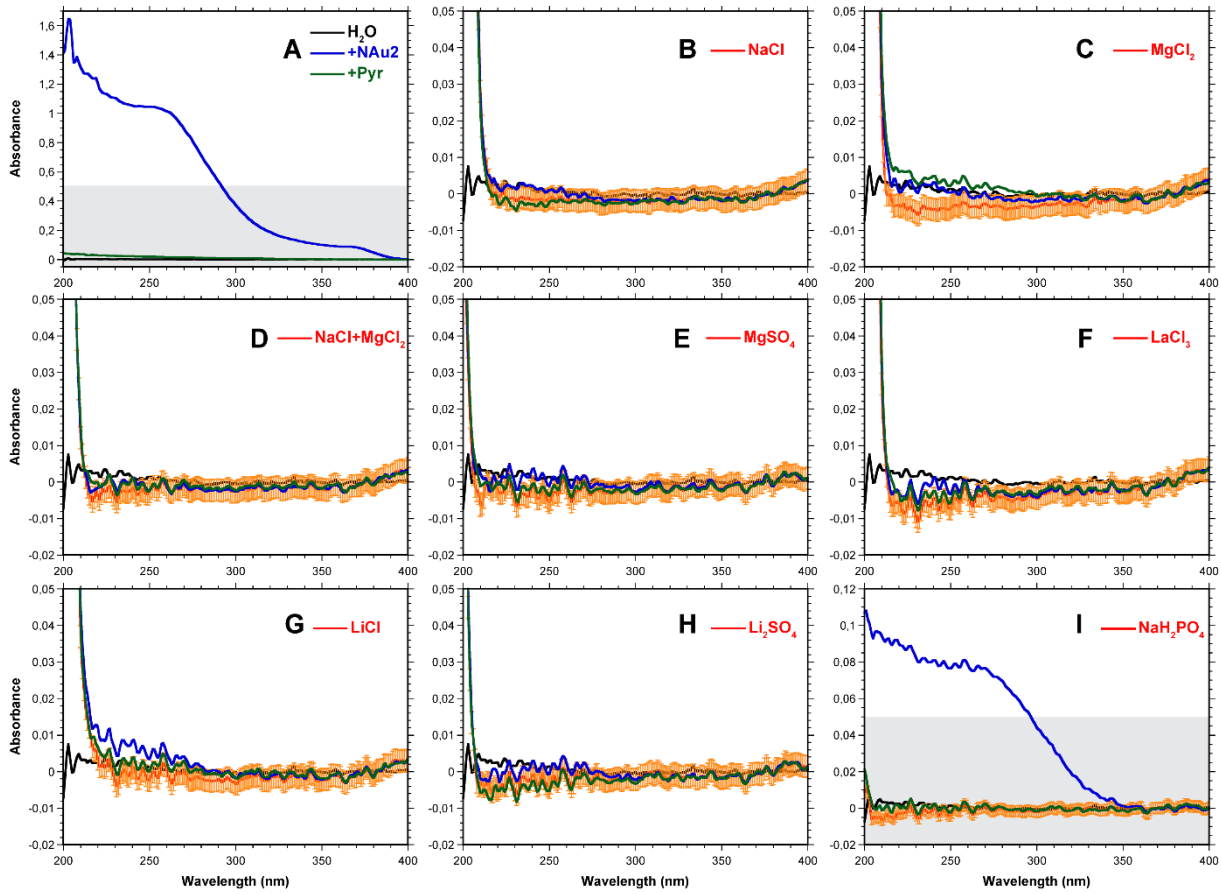


Figure 13 : Mesures des fonds d'absorbance UV des sels en solution et des surnageants de nontronite et pyrophyllite dans ces mêmes solutions salées. Une absorption significative des UV de 200 à350 nm est visible uniquement pour la nontronite dans l'eau pure ou le phosphate.

Dans le cas d'une étude d'adsorption de nucléotides dans une solution de phosphate, ou dans l'eau pure, le signal d'absorption de l'argile gonflante s'ajoute donc à celui des nucléotides dans les surnageants et fausse la mesure de la quantité à l'équilibre (et donc donne des quantités adsorbées anormalement basses ou même négatives). La concentration solide en smectite dans les suspensions peut être déterminée par mesure de l'absorbance à 600 nm, généralement utilisée pour le comptage de cellules dans des solutions turbides (OD600, pour optical density

600 nm). Nous avons calibré la valeur de l'OD600 en fonction de la concentration solide en smectite sur le Nanophotometer. L'absorbance à 600 nm correspond probablement à des effets de dispersion de la lumière et est donc très dépendante du montage optique de l'environnement échantillon. Ces courbes de calibration ne sont donc valables que pour le spectrophotomètre que nous avons utilisé. Nous avons ensuite tenté de corriger l'effet d'absorption des smectites entre 200 et 400 nm en testant la reproductibilité du fond créé dans le signal d'absorption par NAu2 et sa dépendance à la concentration solide dans l'eau pure ou avec NaH_2PO_4. La variabilité du signal étant trop importante d'une expérience à l'autre pour les mêmes conditions de salinité, nous n'avons pas réussi à déterminer un coefficient de correction des spectres d'absorption en fonction de la salinité.

Effet de la concentration solide sur l'adsorption

La concentration solide dans le tube ne devrait changer que la quantité de surface réactive disponible pour l'adsorption. Les isothermes étant normalisées à la masse de minéral, elle-même proportionnelle à la surface du minéral, une variation de concentration solide, tant qu'elle est mesurée, ne doit pas avoir d'impact sur l'isotherme. Dans la littérature, il a été suggéré que certains minéraux pouvaient posséder une structure microporeuse favorisant la rétention de solutions enrichies en adsorbant et appauvrissant d'autant plus le surnageant. Ceci entraînerait l'augmentation artificielle de l'adsorption avec l'augmentation de concentration solide.

Nous avons testé l'effet de la concentration solide sur l'adsorption de dGMP en solution salée NaCl 0,5 M et $MgCl_2$ 0,05 M pour la montmorillonite SWy2, et la pyrophyllite des stocks 1 et 2 (même minéral mais deux surfaces spécifiques différentes) et fait varier la concentration solide en montmorillonite de 2 à 10 g/L, et celle de la pyrophyllite de 4 à 40 g/L (**Figure 14**).

Aucun effet de la concentration solide n'a été observé. Le choix de la concentration solide dépend de la quantité de surface réactive du minéral permettant l'adsorption plus ou moins importante de nucléotide et donc un bon rapport signal sur bruit. Nous avons utilisé des concentrations solides comprises entre 5 et 10 g/L afin d'avoir de bon compromis entre une adsorption importante et une construction facile de l'isotherme sur une gamme de concentration à l'équilibre étendue (plus l'adsorption est importante et plus il faudra augmenter la concentration initiale en nucléotide pour atteindre des concentrations à l'équilibre similaires).

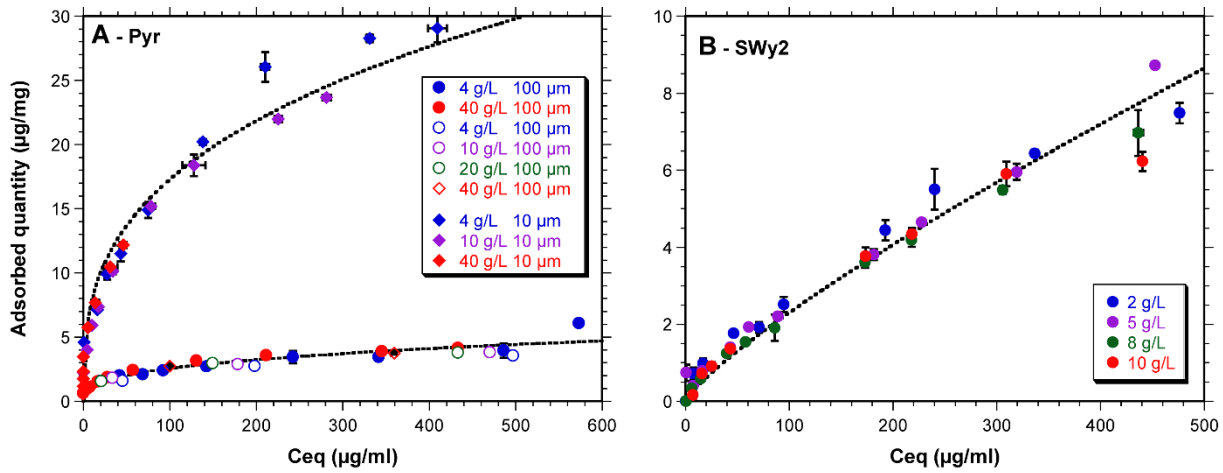


Figure 14 : Isothermes d'adsorption de dGMP sur (A) la pyrophyllite et (B) une montmorillonite, en fonction de la taille de grain et de la concentration solide.

Désorption

Le phénomène d'adsorption peut faire intervenir des liaisons faibles et labiles (physisorption) ou fortes voire irréversibles (chimisorption).

Nous avons étudié la désorption de dGMP de la surface de la nontronite et la pyrophyllite par dilutions successives des surnageants après équilibre. Nous avons suivi le protocole d'adsorption en batch dans NaCl 0,5 M, et $MgCl_2$ 0,05M, mais nous n'avons prélevé qu'une partie du surnageant puis ajouté un volume de solution salée sans nucléotides afin de rééquilibrer le système avec une solution appauvrie en nucléotides. La répétition de ces opérations permet de comparer la concentration à l'équilibre dans le surnageant à chaque étape et de la représenter en fonction du facteur de dilution D (**Figure 15**). Pour les témoins (sans minéral), la concentration varie en fonction de l'inverse du facteur de dilution. On peut calculer la concentration théorique après dilution comme étant $C = C_0/D$. On observe que les solutions en contact avec les minéraux suivent la même loi puissance (**Figure 15**). Ceci indique que la désorption par simple dilution est négligeable voire inexistante et les liaisons d'adsorption fortes. On peut donc si besoin laver les résidus organo-minéraux à l'eau salée sans toutefois désorber les molécules adsorbées sur le minéral.

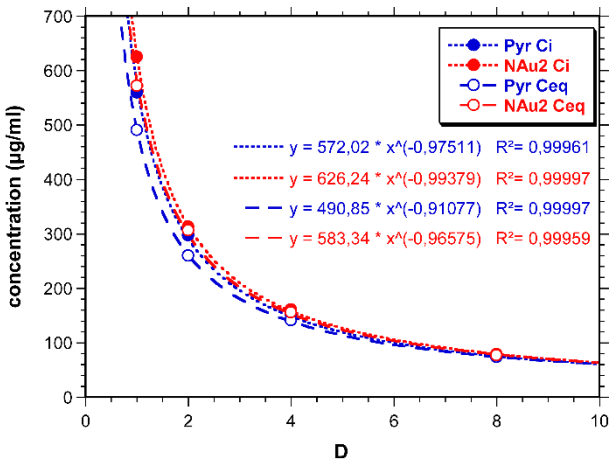


Figure 15 : Concentration en dGMP dans les témoins (Ci) et les surnageants d'adsorption (Ceq) en fonction du facteur de dilution de la solution pour la pyrophyllite et la nontronite. Il n'y a pas de rééquilibration des complexes nucléotides-minéraux avec la dilution progressive du surnageant.

4 / Adsorption des nucléotides en conditions hydrothermales

Technique expérimentale pour l'adsorption à haute pression et haute température

Nous avons conçu et assemblé des incubateurs au sein du LGL, sous la direction d'Hervé Cardon, afin d'étudier l'effet de la pression et de la température sur l'adsorption des nucléotides sur les phyllosilicates en conditions hydrothermales (**Figure 16**). Les incubateurs ont un grand volume qui permet de mesurer une isotherme d'adsorption complète en une seule expérience. Ils permettent d'atteindre une pression de 1400 bar par compression d'eau liquide à l'aide d'une pompe à cabestan et une température maximale de 120°C avec un chauffage résistif externe. Un système de vanne permet d'isoler l'incubateur du système de mise en pression, et permet de travailler en même temps sur plusieurs incubateurs. Un disque de rupture assure la sécurité du système (1500 bar). Nous avons confectionné des isolants thermiques en laine de roche pour stabiliser la température du système. Les tubes Eppendorf n'étant pas étanches sous pression, nous avons utilisé des tubes Beckman-Coultar QuickSeal® en polyallomere. Ces tubes sont scellés en faisant fondre leur gorge après les avoir chargés (**Figure 16A**). Leur résistance et l'absence de fuite ont été vérifiées pour les conditions maximales de pression et de température visées.

Nous avons également vérifié la stabilité de pression et de température des incubateurs et mesuré la dépendance de la pression à la variation de température (**Figure 17**).

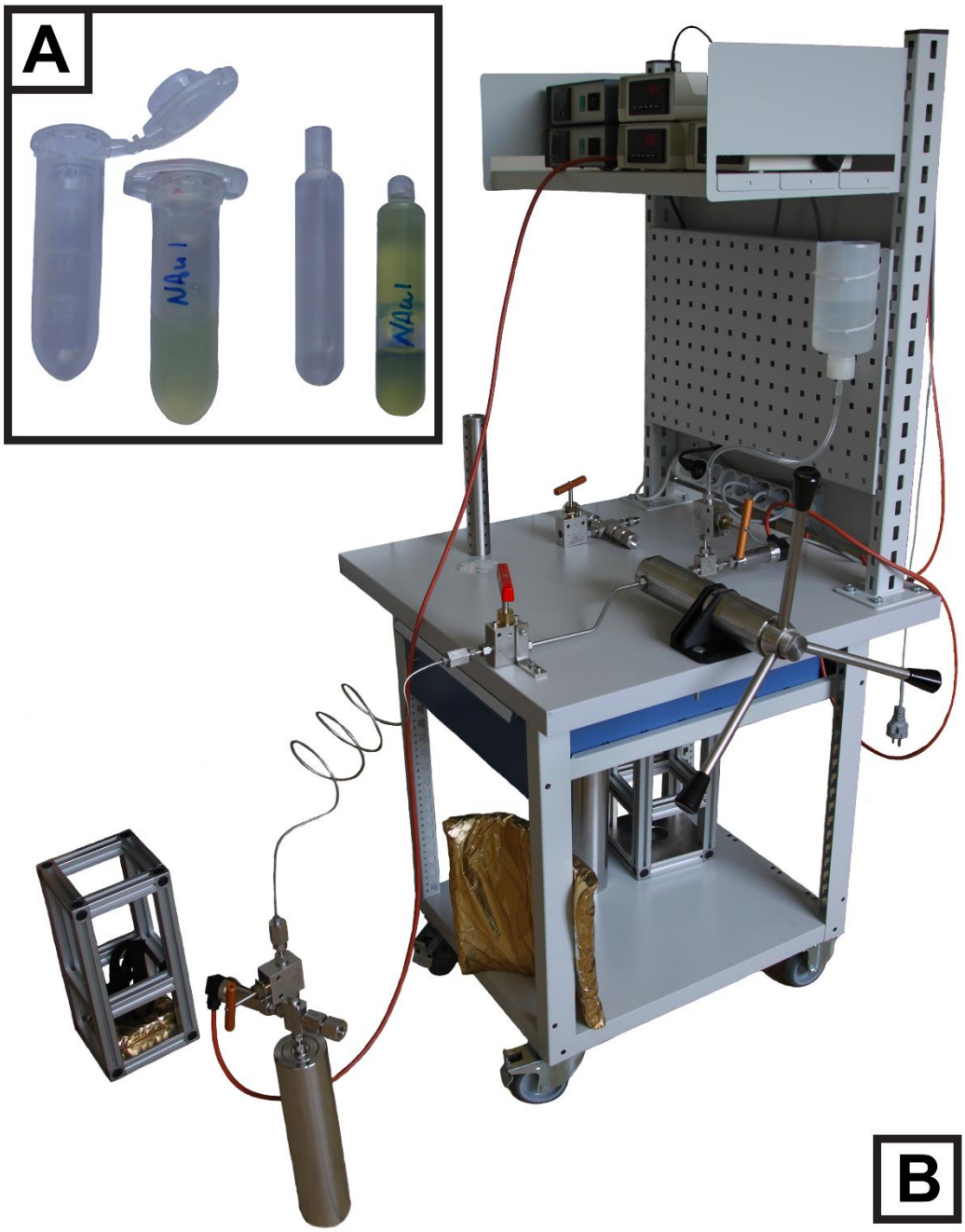


Figure 16 : A) Photographies des tubes Eppendorf (gauche) et Beckman (droite) ouverts et fermés. B) Photographie de l'incubateur haute pression-haute température utilisé pour l'étude d'adsorption en conditions hydrothermales.

Protocole d'adsorption à haute pression et haute température

Nous employons le même protocole d'adsorption en batch à 25°C et pression ambiante avec les tubes Beckman. Ceux-ci ayant une capacité de 1,1 mL, nous nous assurons de leur remplissage quasi complet afin d'éviter une trop grosse déformation lors de la mise en pression et un risque de fuite. Les tubes, une fois chargés, sont scellés et déposés dans le panier de l'incubateur. Celui-ci est refermé et la pression est montée légèrement dans un premier temps,

puis la température ajustée. Les conditions PT sont atteintes et stables au bout de 30 min environ.

Au bout de 24 h, le four est enlevé autour de l'incubateur, et la pression est réduite jusqu'à l'ambiante. Les tubes sont récupérés et centrifugés comme tel. Le surnageant est récupéré et analysé, les résidus sont conservés au congélateur.

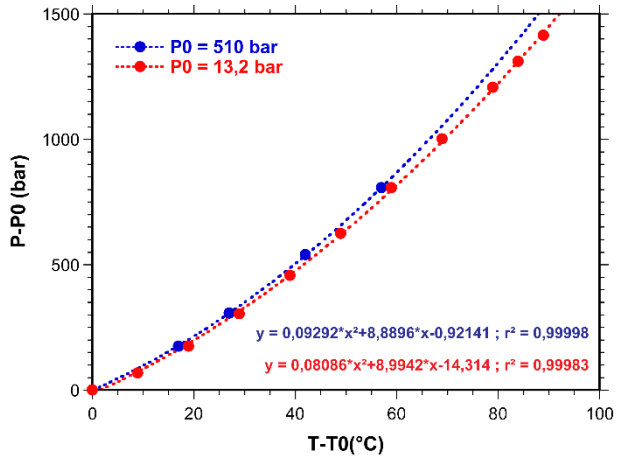


Figure 17 : Augmentation de pression en fonction de l'augmentation de température appliquée au système fermé pour deux pressions initiales et une température initiale de 25°C.

Les premiers tests d'adsorption de dGMP sur la nontronite NAu1 en fonction de la pression et de la température sont résumés dans la **Figure 18**.

Le protocole est encore en cours d'optimisation car l'utilisation de tubes scellés implique quelques ajustements de méthode.

Tout d'abord, nous avons chargé les échantillons selon deux méthodes. Nous avons versé directement les minéraux et les solutions dans les tubes Beckman (**Figure 18A, B, C, D**). Le problème ici est que ces tubes présentent une variabilité de volume non négligeable, qui implique que parfois le remplissage est soit trop faible, soit trop fort. Dans le premier cas, le tube est déformé et risque de se rompre. Dans le deuxième cas, la solution déborde et on ne peut plus correctement analyser l'adsorption (problème de masse initiale). La deuxième façon de charger les échantillons consiste à effectuer un pré-mélange dans des tubes Eppendorf puis à prélever la suspension (homogène) et la verser dans les tubes Beckman (**Figure 18E**). Le problème de cette méthode est l'ajout d'une étape supplémentaire, qui peut augmenter les risques de contaminations et augmenter la variabilité expérimentale.

Ensuite, le prélèvement du surnageant nécessite d'ouvrir le tube Beckman. La première solution a consisté à couper la gorge du tube après centrifugation et à prélever le surnageant directement pour analyse (**Figure 18A, B**). Par la suite, nous avons utilisé des seringues stériles de 1 ml pour percer la paroi des tubes après centrifugation et récupérer le surnageant dans des tubes Eppendorf (**Figure 18C, D, E**).

Cette méthode est encore en cours d'ajustement mais les premiers résultats semblent montrer que l'adsorption est favorisée à 60°C et 350 bar.

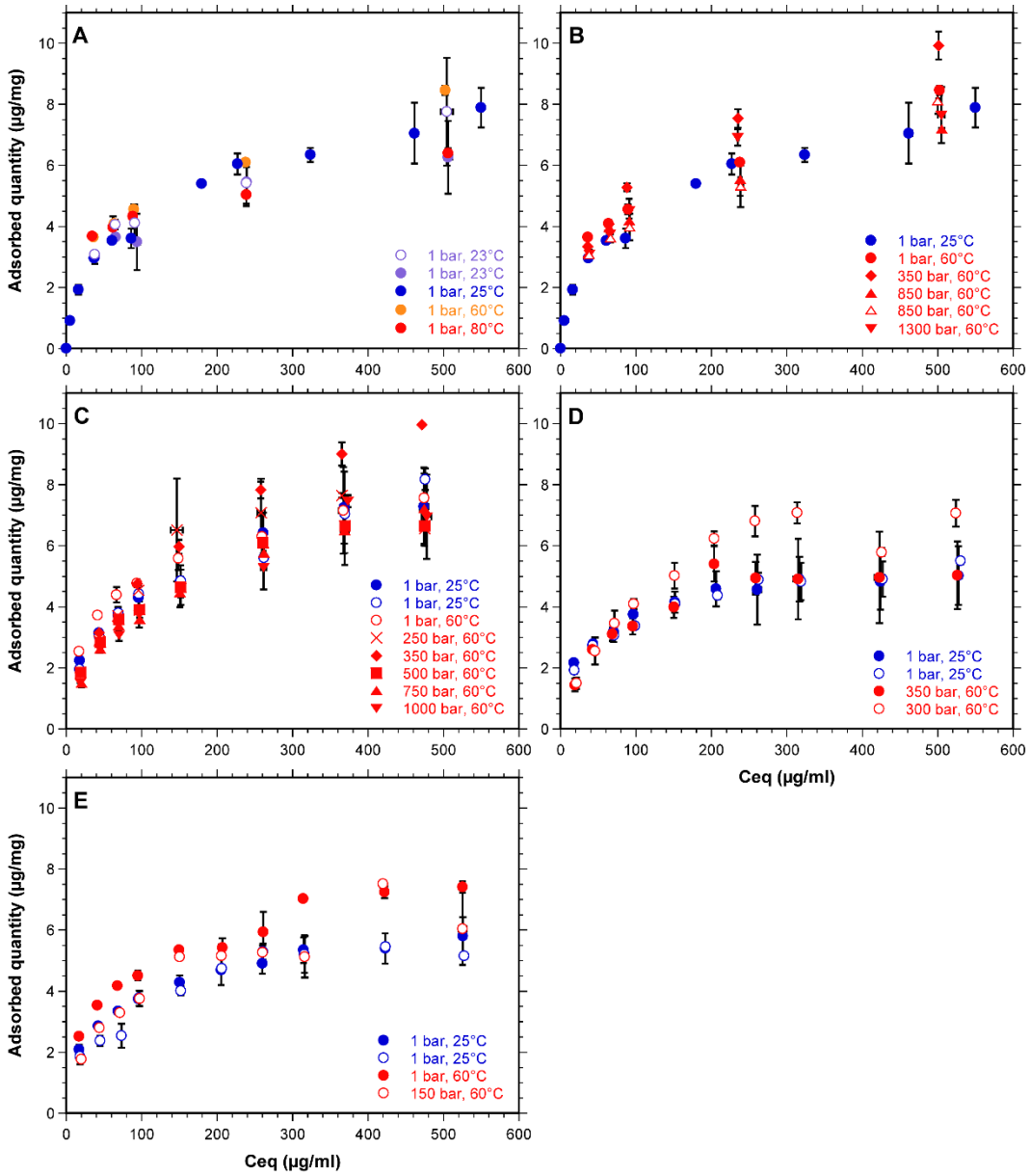


Figure 18 : Résultats préliminaires de l'adsorption de dGMP sur une nontronite en conditions de haute pression et haute température. Les isothermes d'adsorption sont regroupées en fonction de conditions expérimentales utilisées (voir le texte).

Dégradation thermique des nucléotides et dissolution des minéraux

Les nucléotides étant très sensibles à la température, nous avons testé la stabilité thermique du dGMP et du GMP de 5 à 100°C, à pression ambiante afin de s'assurer que la molécule n'est

pas dégradée pendant le temps de l'expérience. La concentration en nucléotides reste stable pendant 48 h pour des températures strictement inférieures à 100°C.

Par ailleurs, les phyllosilicates peuvent se dissoudre en conditions hydrothermales. Comme première approche, le surnageant de suspensions de nontronites laissées à 60°C et à des pressions allant de 1 à 1000 bar pendant 24 h ont été analysés par spectrométrie d'émission atomique à couplage à plasma inductif (ICP-AES). Aucun enrichissement en fer ou en silice de la solution n'a été observé.

5 / Polymérisation de la glycine en conditions hydrothermales

Cellules à enclumes de diamants (CED)

Les expériences en conditions hydrothermales nécessitent d'explorer une large gamme de pression allant de 500 bars à plusieurs dizaines de kilobars, pour des températures entre 25 et 200°C. Nous avons donc utilisé deux modèles de cellules à enclumes de diamant à membrane (**Figure 19**). L'échantillon est chargé dans un joint d'étanchéité en métal, maintenu entre deux enclumes diamants. Le diamant du piston est ensuite pressé contre l'échantillon et le diamant du siège par injection de gaz et déformation d'une membrane métallique en contact avec la partie supérieure du piston. La pression de membrane est contrôlée soit manuellement soit automatiquement.

Le modèle de cellule haute pression est du type Chervin (**Chervin et al., 1995**). Le volume expérimental est compris entre les deux culasses de diamants synthétiques à faible fluorescence de 0,5 mm de diamètre. La chambre de l'échantillon, préalablement inertée à l'or ou au platine, mesure 150 µm de diamètre pour 100 µm d'épaisseur, soit un volume d'échantillon de 1,7 nL.

Le modèle de cellule basse pression est adapté du modèle de Chervin (**Oger et al., 2006**). Le volume expérimental est compris entre la tablette d'un diamant synthétique à faible fluorescence de 1,4 mm de diamètre et une fenêtre plate de diamant synthétique à très faible fluorescence de 4 mm de diamètre et 1 mm d'épaisseur. L'échantillon est contenu dans un joint d'étanchéité en nickel de 4 mm de diamètre et la chambre de l'échantillon, préalablement inertée à l'or ou au platine, mesure 380 µm de diamètre pour 300 µm d'épaisseur, soit un volume d'échantillon de 107 nL.

Les solutions ne sont pas récupérables et analysables à la suite de l'expérience une fois la cellule ouverte. Toutes les analyses sont donc menées *in situ*, dans un système fermé délimité par deux diamants et un métal inerte, par spectroscopie Raman.

Mesure de la température

Un thermocouple de type K est fixé au contact du joint pour le suivi de température de l'échantillon. La température est maintenue à l'aide d'un four résistif externe (Watlow®). La cellule et les diamants assurent une bonne conduction de la chaleur et la différence entre la température du four et la température de contrôle au contact du joint est mesurée. La cellule chauffée est enveloppée dans un tissu en céramique pour garantir une bonne stabilité thermique (±0,5°C) lors de l'expérience.

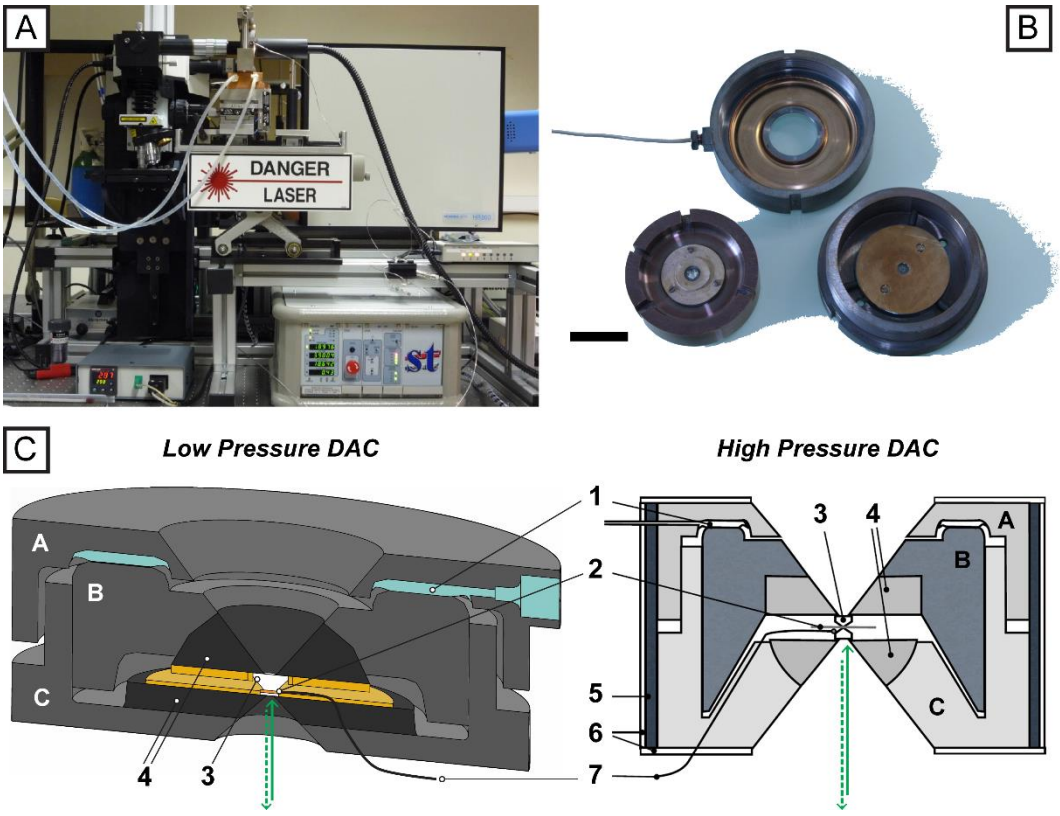


Figure 19 : A) Photographie de l'instrument Raman confocal utilisé avec une cellule à enclumes de diamants (CED) en place. B) Cellule à enclumes de diamants de basse pression ouverte avec le capot, le piston et le siège. C) Représentation schématique d'une CED basse pression. D) Représentation schématique d'une CED haute pression. Légendes : A = capot ; B = piston ; C = siège. 1 = membrane ; 2 = joint ; 3 = diamants ; 4 = sièges des diamants ; 5 = manchon chauffant ; 6 = céramique d'isolation thermique ;7 = thermocouple.

Mesure de la pression

La pression de l'échantillon, entre les diamants, est mesurée par la détermination de la position de la bande R1 du doublet de fluorescence de sphères de rubis dopées au Cr^{3+} dont la longueur d'onde d'émission dépend de la pression (**Figure20**). En dessous de 20 GPa et 400°C, on peut calculer la pression par la formule suivante (**Mao et al., 1978**) :

$$P(GPa) = 380{,}8 * \left[\left(\frac{\omega_0 - \nu_{(P0,T)}}{\omega_0 - \nu_{(P,T)}}\right)^5 - 1\right]$$

Avec ω_0 le nombre d'ondes de la source laser incidente, $\nu_{(P0,T)}$ le nombre d'onde de la raie R1 à pression ambiante et à la température de la mesure, et $\nu_{(P,T)}$ le nombre d'ondes de la raie R1 à la pression et à la température de la mesure.

La valeur de $\nu_{(P0,T)}$ a été calibrée en température entre 25 et 300°C pour le même lot de rubis synthétiques et recuits dopés à 3600 ppm de Cr^{3+} (**Journaux et al., 2013; Journaux, 2013**).

La mesure des spectres du rubis est immédiatement suivie d'une mesure des raies d'émission d'une lampe au néon, dont le pic d'intérêt est théoriquement centré à 4360 cm^{-1}. Une correction des spectres du rubis est systématiquement appliquée par mesure de la dérive spectrale grâce à cette raie d'émission.

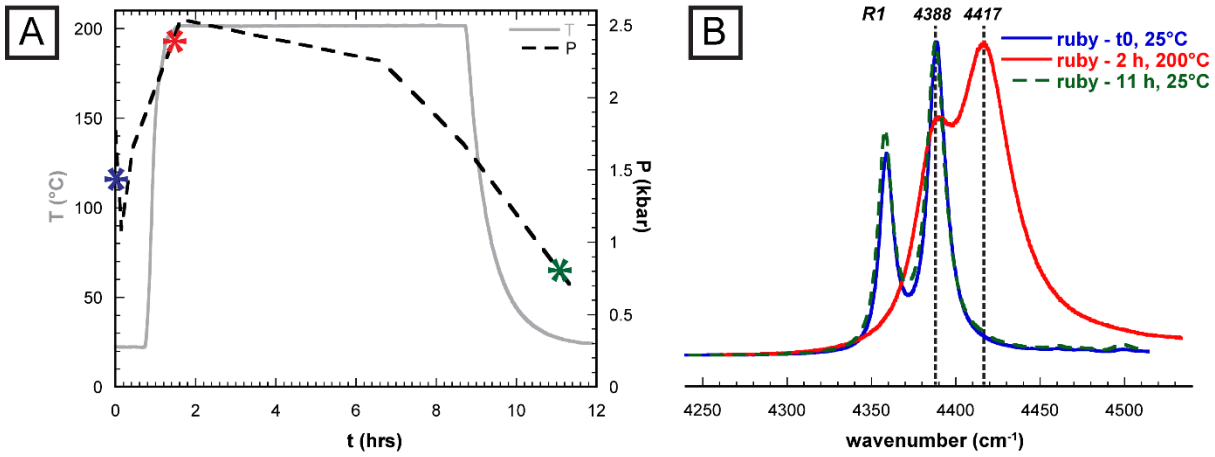


Figure 20 : A) Exemple de chemin pression-température pour une expérience en conditions hydrothermales à environ 2 kbar et 200°C. B) Spectres de fluorescence des rubis au cours de l'expérience à différentes températures. Les mesures sont représentées sous la forme d'astérisques de la même couleur en A).

Observations et mesures en conditions hydrothermales

Avant expérience, le joint inerté est nettoyé aux ultrasons dans un bain d'eau oxygénée avant utilisation afin d'éliminer les traces de carbone et de matière organique. Une fois la cellule mise en place, l'échantillon est chargé à l'aide d'une seringue stérile de 1 ml avec deux à trois rubis synthétiques.

Pour les expériences en conditions hydrothermales, bien que de nombreuses nouvelles bandes apparaissent sur les spectres de l'échantillon, seules les bandes les plus intenses des polymères, dans la région 750-950 cm^{-1}, sont facilement modélisables et assurent une bonne sensibilité de la quantification. Pour ces expériences, nous avons vérifié dans un premier temps que la trempe

n'avait pas d'effet sur le signal Raman de l'échantillon. Les quantifications ont ensuite été calculées sur les spectres acquis après trempe de l'échantillon, car à température ambiante les bandes sont moins évasées qu'à haute température et l'épaule de Gly_2 sur la bande principale de Gly est plus individualisée, et donc plus facilement modélisable. Nous avons modélisé et suivi l'évolution de l'intensité de la bande à 897 cm^{-1} de la Gly, de la bande à 918cm^{-1} de la Gly_2 et de la bande à 798 cm^{-1} du DKP lors de nos expériences (**Figure 21**).

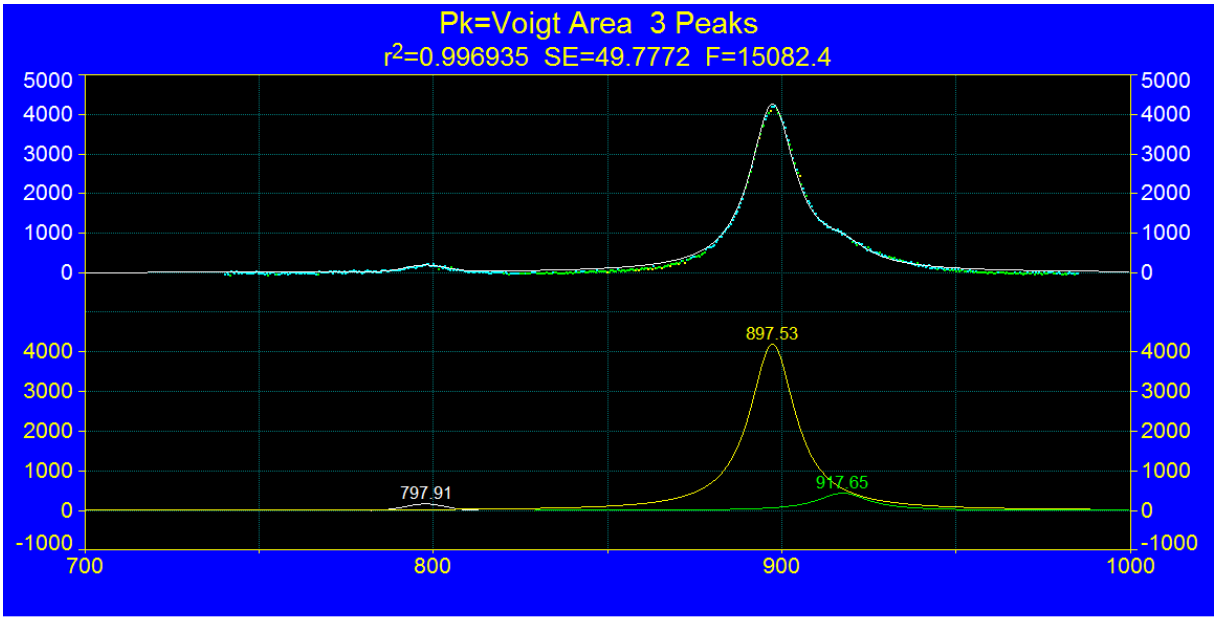


Figure 21 : Capture d'écran de la modélisation sur Peakfit du spectre Raman de l'échantillon après trempe, dans l'expérience montrée en **Figure 20**. Après soustraction de la ligne de base, on modélise trois pics correspondant au DKP (797 cm^{-1}), à Gly (897 cm^{-1}) et à Gly_2 (917 cm^{-1}). Cette modélisation donne une fraction molaire de 1,2 mol% de DKP et de 10,2 mol% de Gly_2.

Réferences

Anbalagan G., Sivakumar G., Prabakaran A. R. and Gunasekaran S. (2010) Spectroscopic characterization of natural chrysotile. *Vib. Spectrosc.* **52**, 122–127.

Auzende A.-L., Daniel I., Reynard B., Lemaire C. and Guyot F. (2004) High-pressure behaviour of serpentine minerals: a Raman spectroscopic study. *Phys. Chem. Miner.* **31**, 269–277.

Barrett E. P., Joyner L. G. and Halenda P. P. (1951) The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms. *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 373–380.

De Boer J. H., Lippens B. C., Linsen B. G., Broekhoff J. C. P., Van den Heuvel A. and Osinga T. J. (1966) The t-curve of multimolecular N2-adsorption. *J. Colloid Interface Sci.* **21**, 405–414.

Brunauer S., Emmett P. H. and Teller E. (1938) Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 309–319.

Cavaluzzi M. J. and Borer P. N. (2004) Revised UV extinction coefficients for nucleoside-5'-monophosphates and unpaired DNA and RNA. *Nucleic Acids Res.* **32**, e13.

Chen J., Gu B., LeBoeuf E. J., Pan H. and Dai S. (2002) Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere* **48**, 59–68.

Chervin J. C., Canny B., Besson J. M. and Pruzan P. (1995) A diamond anvil cell for IR microspectroscopy. *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 2595–2598.

Evans B. W. and Guggenheim S. (1988) Talc, pyrophyllite, and related minerals. Pp. 225À294 in: Hydrous Phyllosilicates (Exclusive of Micas)(SW Bailey, editor). *Rev. Mineral.* **19**.

Farmer V. C. and Russell J. D. (1967) Infrared Absorption Spectrometry in Clay Studies. *Clays Clay Miner.* **15**, 121–142.

Fuchs Y., Linares J. and Mellini M. (1998) Mossbauer and infrared spectrometry of lizardite-1T from Monte Fico, Elba. *Phys. Chem. Miner.* **26**, 111–115.

Giles C. H., MacEwan T. H., Nakhwa S. N. and Smith D. (1960) 786. Studies in Adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorptionmechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *J. Chem. Soc.*, 3973–3993.

Journaux B. (2013) Pétrologie et rhéologie des glaces planétaires de haute pression. Ecole normale supérieure de lyon-ENS LYON.

Journaux B., Daniel I., Caracas R., Montagnac G. and Cardon H. (2013) Influence of NaCl on ice VI and ice VII melting curves up to 6 GPa, implications for large icy moons. *Icarus* **226**, 355–363.

Mao H. K., Bell P. M., Shaner J. W. and Steinberg D. J. (1978) Specific volume measurements of Cu, Mo, Pd, and Ag and calibration of the ruby R1 fluorescence pressure gauge from 0.06 to 1 Mbar. *J. Appl. Phys.* **49**, 3276–3283.

Mellini M. and Viti C. (1994) Crystal structure of lizardite-1T from Elba , Italy. *Am. Mineral.* **79**, 1194–1198.

Michot L. J., Bihannic I., Maddi S., Baravian C., Levitz P. and Davidson P. (2008) Sol/Gel and Isotropic/Nematic Transitions in Aqueous Suspensions of Natural Nontronite Clay . Influence of Particle Anisotropy . 1 . Features of the I/N Transition. *Langmuir* **24**, 3127–3139.

Michot L. J., Bihannic I., Thomas F., Lartiges B. S., Waldvogel Y., Caillet C., Thieme J., Funari S. S. and Levitz P. (2013) Coagulation of Na-montmorillonite by inorganic cations at neutral pH. A combined transmission X-ray microscopy, small angle and wide angle X-ray scattering study. *Langmuir* **29**, 3500–3510.

Michot L. J. and Villiéras F. (2002) Assessment of surface energetic heterogeneity of synthetic Na-saponites. The role of layer charge. *Clay Miner.* **37**, 39–57.

Oger P. M., Daniel I. and Picard A. (2006) Development of a low-pressure diamond anvil cell and analytical tools to monitor microbial activities in situ under controlled P and T. *Biochim. Biophys. Acta* **1764**, 434–442.

Van Olphen H. (1977) *Introduction to clay colloid chemistry*., Wiley.

Paineau E., Bihannic I., Baravian C., Philippe A. M., Davidson P., Levitz P., Funari S. S., Rochas C. and Michot L. J. (2011) Aqueous suspensions of natural swelling clay minerals. 1. structure and electrostatic interactions. *Langmuir* **27**, 5562–5573.

Post J. L. and Plummer C. C. (1972) The chlorite series of Flagstaff Hill area, California: A preliminary investigation. *Clays Clay Miner.* **20**, 271–283.

Prieto A. C., Dubessy J. and Cathelineau M. (1991) Structure-composition relationships in trioctahedral chlorites: A vibrational spectroscopy study. *Clays Clay Miner.* **39**, 531–539.

Raman C. V. and Nielsen J. R. (1929) The Molecular Scattering of Light. *Science (80-.).* **69**, 267–275.

Rinaudo C., Gastaldi D. and Belluso E. (2003) Characterization of chrysotile, antigorite and lizardite by FT-Raman spectroscopy. *Can. Mineral.* **41**, 883–890.

Sedighi M. and Thomas H. R. (2014) Micro porosity evolution in compacted swelling clays — A chemical approach. Appl. Clay Sci. 101, 608–618.

Shirozu H. (1985) Infrared spectra of trioctahedral chlorites in relation to chemical composition. *Clay Sci.* **176**, 167–176.

Sing K. S. W. (1985) Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). *Pure Appl. Chem.* **57**, 603–619.

Tetko I. V, Tanchuk V. Y., Kasheva T. N. and Villa a E. (2001) Estimation of aqueous solubility of chemical compounds using E-state indices. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **41**, 1488–1493.

Villiéras F., Cases J. M., François M., Michot L. J. and Thomas F. (1992) Texture and surface energetic heterogeneity of solids from modeling of low pressure gas adsorption isotherms. *Langmuir* **8**, 1789–1795.

Villiéras F., Michot L. J., Bardot F., Cases J. M., François M. and Rudzinski W. (1997) An improved derivative isotherm summation method to study surface heterogeneity of clay minerals. *Langmuir* **13**, 1104–1117.

Viti C. and Mellini M. (1997) Contrasting chemical compositions in associated lizardite and chrysotile in veins from Elba, Italy. *Eur. J. Mineral.* **9**, 585–596.

Wang A., Freeman J. J. and Jolliff B. L. (2015) Understanding the Raman spectral features of phyllosilicates. *J. Raman Spectrosc.* **46**, 829–845.

Wicks F. J. and O'Hanley D. S. (1988) Serpentine minerals; structures and petrology. *Rev. Mineral. Geochemistry* **19**, 91–167.

PARTIE 3 - ADSORPTION (1)

Adsorption des nucléotides sur les phyllosilicates ferromagnésiens : importance pour l'origine de la vie

Adsorption des nucléotides sur les phyllosilicates ferromagnésiens : importance pour l'origine de la vie

Article publié dans Geochimica et Cosmochimica Acta, 2016 (176).

Résumé

La concentration des briques élémentaires du vivant auraient favorisé la formation de biopolymères dans l'environnement prébiotique de la Terre primitive. Nous avons donc étudié l'adsorption des monomères de l'ARN (AMP, GMP, CMP et UMP) et de l'ADN (dGMP, dCMP, TMP) sur un ensemble de minéraux abondants sur la Terre primitive, résultant de l'altération hydrothermale de la croûte océanique primitive. Notre étude se concentre sur des argiles gonflantes (nontronites et montmorillonites) et des phyllosilicates non-gonflants (pyrophyllite, chlorite, lizardite et chrysotile), en suspension dans une solution saline analogue à l'eau de mer actuelle. Dans cette étude de référence, les expériences d'adsorption ont été menées aux conditions ambiantes de pression et de température et à des pH contrôlés. Ces conditions sont également pertinentes dans l'étude de la préservation d'acides nucléiques dans des sols ferromagnésiens terrestre ou martien. Nous avons comparé (i) l'adsorption de différents monomères sur un même minéral et (ii) l'adsorption d'un unique monomère sur l'ensemble des minéraux. Nos résultats montrent que les monomères de l'ADN s'adsorbent plus fortement que ceux de l'ARN, et que les monomères possédant une nucléobase G s'adsorbent plus fortement que ceux possédant une nucléobase C. Nous avons également observé à des charges de surfaces importantes (> 1 mM en solution) un changement spectaculaire de la pente des isothermes d'adsorption sur les argiles gonflantes, induisant l'augmentation forte des quantités de nucléotides adsorbées. L'ensemble de ces données ont été traitées afin de comprendre le mécanisme d'adsorption des nucléotides sur ces surfaces minérales. Nous en déduisons que tous les nucléotides se comportent comme des molécules homologues lors de leur adsorption sur les minéraux étudiés. Pour des charges de surface faibles à modérées, leur adsorption est expliquée par un unique mécanisme d'adsorption, commun à l'ensemble des minéraux étudiés. A pH 7, l'adsorption procède probablement par échange de ligand entre le phosphate des nucléotides et les métaux hydroxylées des bords de feuillets des phyllosilicates, jusqu'à saturation de ces sites. En dessous de pH 4, les argiles gonflantes adsorbent les nucléotides par échange de cations sur leur surface basale. Ce mécanisme est inopérant pour les phyllosilicates non-gonflants. Cependant, un mécanisme d'adsorption supplémentaire est observé pour des charges de surfaces élevées. La possibilité d'une polymérisation favorable de nucléotides à l'interface minéral-eau est discutée au vu des mécanismes d'adsorption suggérés. Nous proposons que les phyllosilicates ferromagnésiens adsorbent fortement les nucléotides aux conditions ambiantes de pression et de température et les concentrent localement d'un facteur 1000 à saturation par rapport à la concentration en solution. Les nontronites possèdent les comportements les plus variés et favorables à l'adsorption, ayant ainsi pu favoriser la concentration et la polymérisation des nucléotides dans des conditions analogues à celles de la Terre primitive.

Adsorption of nucleotides onto ferromagnesian phyllosilicates: significance for the origin of Life.

Ulysse Pedreira-Segade [a]*, Cécile Feuillie [a#], Manuel Pelletier [b], Laurent J. Michot [c] and Isabelle Daniel [a].

[a] Laboratoire de Géologie de Lyon, UMR 5276 CNRS, ENS de Lyon, Université de Lyon 1, 46 allée d'Italie, F-69364 Lyon Cedex 07.

[b] LIEC, UMR 7569 CNRS, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, F-54500, France.

[c] Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Laboratoire PHENIX, Case 51, 4 place Jussieu, F-75005 Paris, France.

*Corresponding author, ulysse.pedreirasegade@ens-lyon.fr

now at Institute of Life Sciences, Catholic University of Louvain, Croix du Sud 4-5, Louvain-la-neuve, Belgium

Abstract

The concentration of prebiotic organic building blocks may have promoted the formation of biopolymers in the environment of the early Earth. We therefore studied the adsorption of RNA monomers AMP, GMP, CMP, and UMP, and DNA monomers dGMP, dCMP, and TMP, on minerals that were abundant in the early Earth environment as the result of aqueous or hydrothermal alteration of the primitive oceanic crust. We focused our study on swelling clays, *i.e.* nontronite and montmorillonite, and non-swelling phyllosilicates, *i.e.* pyrophyllite, chlorite, lizardite and chrysotile suspended in an aqueous saline solution analog to seawater. In this reference study, adsorption experiments were carried out under standard conditions of pressure and temperature and controlled pH. Under such conditions, this work is also relevant to the preservation of nucleic acids in Fe-Mg-rich terrestrial and Martian soils. We compared the adsorption of the different monomers on individual minerals, as well as the adsorption of single monomers on the whole suite of minerals. We found that DNA monomers adsorb much more strongly than RNA monomers, and that any monomer containing the G nucleobase adsorbed more strongly than one containing the C nucleobase. At high surface loadings (greater than about 1 mM monomer in aqueous solution) we also found a dramatic increase in the slope of adsorption isotherm on the swelling clays, leading to large increases in the amounts adsorbed. Data were processed in order to understand the adsorption mechanism of nucleotides onto mineral surfaces. We infer that all nucleotides behave as homologous molecules in regard to their adsorption onto the studied mineral surfaces. At low to moderate surface loadings, their adsorption is best explained by a single mechanism common to the suite of minerals of the present study. At pH 7, adsorption certainly proceeds by ligand exchange between the phosphate group and the hydroxyls of the broken edges of phyllosilicates leading to the saturation of lateral surfaces. Below pH 4, swelling clays also adsorb nucleotides through cation exchange on basal surfaces, whereas non-swelling phyllosilicates do not. However, at high surface loadings an additional mechanism stabilizing adsorption occurs. Given the proposed adsorption mechanisms, the possibility of a favorable polymerization at the mineral-water interface is discussed. We propose that Fe-Mg rich phyllosilicates tightly bind nucleotides, under ambient conditions, and concentrate them up to 1000 times the solution concentration upon saturation. Nontronites have the most diverse and favorable adsorption behaviors and could have helped to the concentration and polymerization of nucleotides under primitive Earth-like conditions.

Key words: nucleotides, AMP, GMP, CMP, UMP, dGMP, dCMP, TMP, swelling clays, phyllosilicates, adsorption, origin of life.

1. INTRODUCTION

It has now been more than sixty years since Bernal hypothesized (Bernal, 1951) that life may have originated from the interaction between simple organic compounds and mineral surfaces. Since the pioneering work of Ferris et al. (1989a), the scenario has been tested by a wide community of scientists interested in the origin of life, taking advantage of the diversity of the chemistry and physics at water-mineral interface to overcome some obstacles to the emergence of life (see also reviews by Bada, 2004; Ferris, 2005; Lambert, 2008; Cleaves et al., 2012; Hashizume, 2012; Yu et al., 2013 and references therein). In the aqueous conditions of the early ocean (i) the synthesis of the building blocks of biomolecules such as amino acids and nucleotides is sluggish; (ii) their polymerization into proteins, RNA and DNA, respectively, is thermodynamically unfavorable; (iii) these complex organic molecules are subjected to rapid hydrolysis and photolysis. Adsorption and more generally interactions between minerals and organic molecules have proved to overcome some or all of these obstacles. For instance, phosphate-bearing minerals are mandatory to the synthesis of activated ribonucleotides (Szostak, 2009; Powner et al., 2009). Ribose can be synthesized as a major product of the formose reaction in presence of a borate mineral, such as ulexite (Ricardo et al., 2004; Benner et al., 2010; Benner et al., 2012). Activated nucleotides can polymerize forming up to 50mer-long oligomers in the presence of montmorillonite clay (Ertem and Ferris, 1998; Ferris, 2002; Huang and Ferris, 2006; Joshi et al., 2009). The adsorption of nucleic acids onto clays, sand or soil particles prevents enzymatic degradation by DNase I and photolysis (Lorenz and Wackernagel, 1987; Demanèche et al., 2001; Poch et al., 2015).

From a geological perspective, life has originated in an environment that was significantly different from the Earth at present day. The primitive Earth during the Hadean eon was hotter than today, the ocean had a volume twice as large as today and exposed land may have occupied only a few percent of the Earth's surface (Flament et al., 2008; Albarède and Blichert-Toft, 2009; Arndt and Nisbet, 2012). One hypothesis is that life may have arisen in the primitive ocean near hydrothermal vents on the oceanic crust, where mineral diversity, temperature, redox and chemical gradients and supply of organic material may have been sufficient and stable long enough to allow a chemical system to gain complexity (Corliss et al., 1981; Wächtershäuser, 1988a; Wächtershäuser, 1988b; Shock, 1990; Russell et al., 1994; McCollom and Seewald, 2001; Cody, 2005; Russell, 2007; McCollom and Seewald, 2013; Barge et al., 2013).

It then clearly appears that studying adsorption on mineral surfaces is of prime relevance to the emergence of the first genetic polymers in such a geochemical setting. Whether RNA or DNA, the adsorption of their monomers on a mineral surface may have concentrated the building-blocks of nucleic acids from a dilute ocean, and allowed them to further polymerize. Previous experimental studies have focused on a variety of mineral surfaces such as alumina, calcite, goethite, mica, olivine, pyrite, rutile, silica, or zinc oxide (Lorenz and Wackernagel, 1987; Holm et al., 1993; Bezanilla et al., 1995; Cohn et al., 2001; Balint et al., 2007; Arora, 2007; Cleaves et al., 2010; Cleaves et al., 2011; Baú et al., 2012; Livi et al., 2013; Zhang et al., 2014; Saha and Sarkar, 2014; Feuillie et al., 2015). Phyllosilicates are assumed to be among the best candidates for the adsorption of nucleotides, a gram of clay can produce up to several hundreds of square meters of reactive surface in water. Hence, many studies have investigated phyllosilicates for adsorption (Banin et al., 1985; Ferris et al., 1989b; Franchi et al., 1999; Cai et al., 2006; Cai et al., 2008; Benetoli et al., 2008; Swadling et al., 2010; Hashizume et al., 2010; Carneiro et al., 2011; Michalkova et al., 2011; Swadling et al., 2013; Feuillie et al., 2013; Carneiro et al., 2013) or mineral-catalyzed polymerization (Ertem and Ferris, 1998; Ferris, 2002; Huang and Ferris, 2006; Joshi et al., 2009; Kaddour and Sahai, 2014). Most of those studies used montmorillonite and kaolinite as a reference for swelling and non-swelling clays, respectively. These phyllosilicates are aluminum-rich and unlikely to be abundant in the primitive altered oceanic crust of the Hadean. The Hadean seafloor was mainly formed of mafic and ultramafic rocks, such as basalt, komatiite and peridotite, which hydrothermal alteration has been widely studied through (i) petrological and mineralogical observations of samples collected in oceanic hydrothermal settings (Alt and Honnorez, 1984; Buatier et al., 1993; Hunter et al., 1999; Buatier et al., 2001; Alt and Teagle, 2003; Dias and Barriga, 2006; Lackschewitz et al., 2006; Mas et al., 2008); (ii) experimental alteration of bulk rocks (Humphris, 1978; Mottl and Holland, 1978; Mottl et al., 1979; Seyfried and Bischoff, 1979; Seyfried and Dibble, 1980; Seyfried and Bischoff, 1981; Seyfried and Mottl, 1982; Marcaillou, 2011; Lazar et al., 2012); and (iii) mineral evolution (Hazen et al., 2008; Hazen and Sverjensky, 2010; Hazen, 2013; Hazen et al., 2013). All above studies suggested that Fe-Mg rich phyllosilicates along with various oxides, hydroxides, anhydrites and sulfides are the major alteration minerals formed. Hydration of olivine and pyroxenes induces serpentinization, forming mostly lizardite and chrysotile and often magnetite. The circulation of hot fluids leads to primary clay precipitation and produces secondary clay minerals upon alteration of the host rock's minerals. Resulting clays are mostly Fe-Mg-rich swelling clays, *e.g.* nontronite and saponite, and non-swelling clays, *e.g.* chlorite. Geochemically relevant minerals would then include Fe-Mg-rich swelling

and non-swelling clays and serpentines, as proposed by Meunier et al. (2010). Therefore, the present study focuses on the abovementioned Fe-Mg phyllosilicates and assesses their potential as nucleotide adsorbents.

Here we present results on the adsorption of RNA monomers (5'-monophosphated ribonucleotides) and DNA monomers (5'-monophosphated 2'-deoxyribonucleotides) on swelling clays, *i.e.* one montmorillonite and two nontronites, non-swelling clays, *i.e.* pyrophyllite and chlorite, and serpentines, *i.e.* lizardite and chrysotile, in 0.5 M NaCl and 0.05 M $MgCl_2$ saline solutions at ambient pressure and temperature and controlled pH. We propose a mechanism of adsorption accounting for the behavior of nucleotides on phyllosilicate surfaces under ambient conditions.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Minerals

2.1.1. Samples preparation

Table 1 summarizes the name, type and structural formula of the samples used in the present study. Swelling clay samples were purchased from the Source Clays Minerals Repository of the Clay Mineral Society (Purdue University, USA). One montmorillonite sample SWy2 from Wyoming was used in reference to previous work. Two nontronite samples NAu1 and NAu2 from Australia were also tested. They were purified, sodium exchanged and sorted by size through successive centrifugations (see detailed protocol in Michot et al., 2008; Paineau et al., 2011; Michot et al., 2013). The clay particles were stored as suspensions in deionized water at controlled solid concentrations. Samples were prepared by using either known volumes of suspensions or dried powders.

Pyrophyllite was prepared from a pure rock sample from Stumat®. Chlorite was obtained from the Source Clays Minerals Repository of the Clay Mineral Society as a ripidolite rock (CCa-2 ripidolite, El Dorado County, California, USA). Lizardite came from a serpentinite from Monte Fico, Elba Island, Italy (courtesy Prof. Mellini, University of Sienna, Italy). Chrysotile fibers were from Thetford Mines, Canada.

A first stock of powders (stock 1) was prepared to assess the adsorbing potential of the non-swelling phyllosilicates. It was then used to study the adsorption of nucleotides under varying pH conditions. Pyrophyllite and chlorite were ground in an agate mortar and sorted by size to

use the < 50 µm fraction. Lizardite was crushed, powdered and sorted by size to use the < 100 µm fraction (Amiguet et al., 2012). Chrysotile could not be ground due to its fibrous texture. Fibers were separated and reduced to centimeter-long specimens using a sterile scalpel.

A second stock of fine powders (stock 2) was used to evaluate the adsorption of nucleotides at ambient pressure and temperature and natural pH. For each sample, the bulk rock was ground sequentially using a hammer, an agate mortar and finally a Planetary Ball Mill PM 100 automatic grinder from Retsch™ to reduce the grain size to a fraction under 10 µm. Colloidal grinding in pure water was performed to preserve the crystalline structure of the phyllosilicates in the PM 100 (Michot et al., 2002). The suspensions were dried overnight at 120°C and the resulting powders were stored in a desiccator.

Optical microscopy, Raman and infrared spectroscopy, X-Ray diffraction and scanning electron microscopy confirmed that the samples were successfully purified and that their structures and crystallographic properties were preserved.

2.1.2. Physical and chemical properties of mineral surfaces

Table 2 lists the isoelectric point or point of zero charge (IEP/PZC), cationic exchange capacity (CEC), and specific surface area (SSA) of the non-swelling phyllosilicates from stocks 1 and 2 and the swelling clays for comparison.

Textural analyses of non-swelling samples were carried out at the Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC), Nancy, France. The total specific surface area (TSA) and micro- and mesoporous surfaces of the samples were measured by N_2 gas adsorption. Powdered samples were outgassed in Pyrex cells during 18 hours at 110°C under a residual pressure of ca. 10^{-5} Pa. N_2 (Air Liquide™ Alphagaz2, > 99.995% purity) adsorption-desorption isotherms were obtained step by step at 77K using a Belsorp II mini (BEL™, Japan). TSA, microporosity and mesoporosity were calculated using the BET method, t-plot curve method and BJH formalism, respectively (Brunauer et al., 1938; Barrett et al., 1951; De Boer et al., 1966; Sing, 1985). The aspect ratio, *i.e.* the ratio between basal and lateral SSA of the minerals, was measured by low pressure N_2 and Ar adsorption through the precise study of the monolayer domain below $P/P_0 = 0.15$. It provides insights into surface heterogeneity, which may arise from differences in texture – microporosity, structure – crystallographic faces, or chemistry – specific interaction sites. Samples were outgassed at 110°C and 10^{-5} Pa and low-pressure isotherms were measured in a homemade device that ensures quasi-equilibrium (LIEC, Nancy, France).

Experimental isotherms were then processed using the Derivative Isotherm Summation (DIS) method to assign the energetic characteristics of each adsorption domain (Villiéras et al., 1992; Villiéras, Michot, Cases, et al., 1997; Villiéras, Michot, Bardot, et al., 1997; Michot and Villiéras, 2002).

The *zeta potential* that describes the electrophoretic mobility as a function of pH and ionic strength was measured on all non-swelling samples. Measurements were done at the LIEC on a Zetaphoremeter IV from CAD instrumentation™. NaCl was used as a background electrolyte at concentrations of 10^{-1}, 10^{-2} and 10^{-3} M, while the pH was adjusted between 2 and 12 using either HCl or NaOH. Electrophoretic mobilities were converted to zeta potential values using the Smoluchowski's equation (Van Olphen, 1977). The isoelectric point (IEP) corresponds to the pH for which the zeta potential is identical for all ionic strengths. In this study, it was equivalent to the point of zero charge (PZC), *i.e.* the pH at which particles are globally uncharged.

The *Cationic Exchange Capacity* (CEC) is used to evaluate the structural charge of the mineral. Measurements were carried out by suspending appropriate mineral amounts in a cobaltihexamine solution $Co(NH_3)_6^{3+}$ of known initial concentration. Exchangeable cations were totally replaced with $Co(NH_3)_6^{3+}$ when equilibrium was reached. The equilibrium concentration of cobaltihexamine was then measured by a colorimetric assay using spectrophotometry at 473 nm. The detailed protocol used at the LIEC (Nancy, France) can be found elsewhere (Mantin and Glaeser, 1960; Morel, 1967; Mantin, 1969; Orsini and Remy, 1976).

The SSA of the swelling clays was assessed by Feuillie et al. (2013) based on the average particle dimensions determined by transmission X-ray microscopy and small angle X-ray scattering (SAXS) in previous studies (Michot et al., 2008; Grybos et al., 2010; Paineau et al., 2011; Michot et al., 2013). PZC/IEP and CEC of the swelling clays are from the same study.

2.2. Nucleotides and chemical reagents

Pure (> 98%) sodium salts of mononucleotides and chemical reagents were purchased from Sigma Aldrich™. Inorganic salts and other reagents were analytical grade reagents used without further preparation. We used the four 5'-monophosphated ribonucleotides, *i.e.* adenosine (AMP), cytidine (CMP), guanosine (GMP) and uridine (UMP), and three 5'-monophosphated 2'-deoxyribonucleotides, *i.e.* cytidine (dCMP), guanosine (dGMP) and

thymidine (TMP). Deoxyadenosine 5'-monophosphate (dAMP) was not investigated, because it was not commercially available. **Table 3** lists the acidity constant values (pKa), solubility values, and UV-vis spectrophotometry correction coefficients (see **supplementary material section**) of the mononucleotides used. The 2-D structures of these molecules are reported in the **supplementary material section**. Hereafter, ribonucleotides and deoxyribonucleotides are referred to as NMP and dNMP respectively, where N can be replaced by any nucleobase's symbol (A, C, G, U, T).

Nucleic acids are optically active molecules that strongly absorb UV light at wavelengths around 260 nm. Their concentrations were calculated with the Beer-Lambert equation from the UV absorption spectra of the samples measured on either a Nanodrop ND 1000 (Thermo™) or a Nanophotometer P330 (Implen™). The treatment method we used to process UV absorption data is detailed in the **supplementary material section**.

2.3. Adsorption experiments

Adsorption of nucleotides onto phyllosilicates was measured through batch experiments under controlled conditions. Nucleotides were dissolved *i.e.*in an aqueous solution containing 0.5 M NaCl and 0.05 M $MgCl_2$ as a first order analog to seawater. Known initial nucleotide concentrations were between 0 and 1 mg/ml (0 to 4 mM). Precisely weighted mineral samples of 4.5 mg (± 10 µg) were mixed with 1 ml of the saline nucleotide solutions in 2 ml Eppendorf™ safe-lock tubes. The tubes were then vortexed for 15 s to ensure dispersion of the minerals and homogenization of the suspensions. Theses suspensions were left in the dark in a thermostated water bath at 25°C and ambient pressure for 24 hours to ensure that equilibrium was reached. The tubes were then centrifuged at 16,100 g for 25 min. The equilibrium concentration of nucleotides in supernatants was assessed by UV spectrophotometry at 260 nm. The adsorbed amount of nucleotides for a given mass of mineral was calculated from the difference between the initial known concentration C_i in the solution and the equilibrium concentration C_{eq} in the supernatant. Samples were duplicated and analyses were repeated twice for each sample.

Standard experiments were carried out at the immersion pH (*i.e.* not imposed) close to 7. The effect of pH on adsorption was studied by adjusting the pH to the desired value before mixing the solution with the mineral using HCl 0.5 N and NaOH 0.5 N. pH was measured prior and after adsorption. Changes through the experiments were limited to ± 4% and the pH reported is

the equilibrium pH after adsorption. The equilibrium concentration of nucleotides was close to 1 mM for each experiment.

3. RESULTS

3.1. Extended adsorption isotherms

We carried out dGMP adsorption experiments on nontronites, montmorillonite and pyrophyllite at 25°C, atmospheric pressure, natural pH and up to high equilibrium concentrations. **Fig. 1** shows the adsorption density isotherms for these experiments, where the adsorbed quantity is normalized to the lateral specific surface area of the samples. The adsorption isotherm on pyrophyllite rapidly reaches a plateau at an equilibrium concentration of ca. 1.2 mM and this plateau extends up to 3 mM. It corresponds to the complete coverage of the lateral surfaces of the mineral, *i.e.* the completion of one monolayer on a reactive surface. The adsorption isotherms on swelling clays reach a plateau for equilibrium concentration of ca. 1 mM, depending on the mineral and corresponding to saturation once again. Above this concentration, the logarithmic, asymptotic behavior is replaced by a quasi linear isotherm. Adsorbed density becomes higher than the one required for complete coverage of the edges.

Hence, at least two regimes can be distinguished. The high energy domain below 1 mM is assumed to be relevant to the early dilute ocean and is generally focused on in origin of life studies like in the present one. Hereafter, we focus on the description of adsorption mechanisms in this high-energy domain, corresponding to the expected concentrations for nucleotides in the primitive ocean near hydrothermal vents in the micromolar range at most (Lahav and Chang, 1976). The low energy domain between 1 and 3 mM would require further careful investigations beyond the scope of the present contribution. However, the marked increase in adsorption for swelling clays compared to non-swelling clays at low energy is worth mentioning and could be also be of potential interest for the origin of life.

3.2. Adsorption of dNMP and NMP on swelling clays

The adsorption of dNMP on the swelling clays was carried out at 25°C, atmospheric pressure and natural pH and complements the data obtained for the NMP in our previous study (Feuillie

et al., 2013). **Fig. 2a-c** show the adsorption isotherms on nontronites and montmorillonite. Classically, the adsorbed quantity of dNMP and NMP is normalized to the mass of mineral for a given equilibrium concentration. A log fit to the data was used as a guide for the eyes only; no physical adsorption model was used. The adsorption isotherms display an asymptotic behavior corresponding to a rather strong adsorption affinity leading to the saturation of the initial adsorbent's surface. It resembles more phosphate adsorption L-isotherms than nucleobases adsorption C-isotherms from Hashizume et al. (2010). dNMP and NMP show an apparent differential adsorption saturation value on swelling clays, with dGMP being the most effectively adsorbed species (with the order CMP~UMP~TMP<GMP<dCMP~AMP<dGMP). For instance, nontronite NAu2 adsorbs as much as twice more dGMP than CMP at an equilibrium concentration of 0.5 mM. Purine nucleotides are more adsorbed than pyrimidine ones, as already observed in several studies (Sowerby et al., 2001; Hashizume et al., 2010; Carneiro et al., 2011; Saha and Sarkar, 2014). In addition, deoxyribonucleotides appear to be more adsorbed than their ribonucleotides counterparts.

For a given nucleotide, adsorption isotherms show that nontronite NAu2 apparently adsorbs more than nontronite NAu1 and montmorillonite SWy2. For instance, for an equilibrium concentration of 0.5 mM, dGMP is adsorbed at a value of 17 µmol/g, 14 µmol/g and 8 µmol/g, on NAu2, NAu1 and SWy2, respectively. However, as nucleotides adsorb at the mineral-water interface, only adsorption densities normalized to the effective adsorbing surface area should be analyzed (Kulik, 2009; Cleaves et al., 2012). Hence, we used the edge specific surface area of the swelling clays listed in **Table 2** to normalize adsorption isotherms (Feuillie et al., 2013). **Fig. 3** shows the adsorption density isotherms of the dNMP and NMP on the edges of the swelling clays. The apparently large discrepancy in adsorption of one particular nucleotide on the swelling clays is reduced by this normalization. Nevertheless, for a given equilibrium concentration, nontronites still adsorb more nucleotides than montmorillonite.

3.3. Adsorption of dNMP and NMP on non-swelling phyllosilicates

Fig. 4a-d present the data for the adsorption of nucleotides on non-swelling phyllosilicates at 25°C, atmospheric pressure and natural pH. Adsorption isotherms are best described by asymptotic curves. As for swelling clays, a log fit to the data was used as a guide for the eyes. The adsorption of nucleotides seems to vary from one nucleotide to another on a given surface. Systematically, dNMP are more adsorbed than their NMP equivalent. UMP and TMP are the

less adsorbed nucleotides, less than CMP and AMP, respectively. dGMP and GMP are significantly more adsorbed than the other deoxyribo- and ribo-nucleotides, respectively. **Fig. 4a-d** also show that non-swelling minerals adsorb more nucleotides than swelling clays in µmol/g of mineral. For instance, pyrophyllite may adsorb up to 80 µmol/g of dGMP for an equilibrium concentration of 2 mM while nontronite NAu2 adsorbs only 20 µmol/g of dGMP for the same equilibrium concentration. This may result from either different adsorption mechanisms on mineral surfaces that have intrinsically different chemistry and properties, or different reactive surface areas. This has been tested by estimating the adsorption per unit of reactive surface area, considering either the total surface area (**supp Fig. S2**) or the lateral surface area (**Fig. 5**) that was considered for swelling clays (**Fig. 3**). When normalized to the lateral surface area, a given nucleotide shows similar adsorption onto all minerals surfaces investigated in the present study including swelling clays. We therefore consider that the accessible reactive surfaces of these minerals are their lateral surfaces. Only chrysotile appears to adsorb more GMP, CMP and UMP for high equilibrium concentration.

3.4. Effect of pH

Fig. 6 presents the maximum adsorption of nucleotides per gram of mineral as a function of the equilibrium pH, which value ranges from 1 to 11, at 25°C and atmospheric pressure. **Fig. 6a** displays the effect of pH on the adsorption of nucleotides on the swelling nontronite NAu1. pH has virtually no or little effect on the adsorption of TMP and UMP. The adsorption of dGMP, GMP, dCMP and CMP increases slowly as pH decreases to pH 4. At pH 4 the behavior changes radically and adsorption increases strongly and linearly as pH decreases. For instance, the adsorption of dGMP is limited to 20 µmol/g at natural pH and reaches a colossal amount of 240 µmol/g at pH 1, which represents 80% of the initial nucleotide concentration available in the solution. dCMP, GMP and CMP display similar trends and reach 55, 45 and 30 µmol/g, respectively, at pH 1. **Fig. 6b-c** show the effect of pH on the adsorption of dGMP and GMP on the non-swelling phyllosilicates, nontronite NAu1 and montmorillonite SWy2 for comparison and clearly show that the adsorption of ribo- and deoxyribo-nucleotides on non-swelling phyllosilicates is independent of pH.

4. DISCUSSION

4.1. Adsorption mechanism

The present comprehensive study of comparative adsorption shows that nucleotides are adsorbed differentially on a given mineral surface, with purine nucleotides being more adsorbed than pyrimidine ones and dNMP being more adsorbed than NMP. We suggest that the differential adsorption reflects differences in the equilibrium constants for the binding of the nucleotides to the surfaces, rather than differences in adsorption mechanisms on the mineral surface, as suggested by several authors (Sowerby et al., 2001; Hashizume et al., 2010).

To test this hypothesis, we used the method developed by Cases and Villieras (1992) for the investigation of the adsorption of surfactants on a single surface that hypothesizes that the adsorption isotherms of homologous molecules on a surface can be compared using a reference phase. As a reference phase, we used a saturated solution of nucleotides, in which the concentration of nucleotides is given by their theoretical solubility (C_{sol}) in pure water at 25°C (**Table 3**). The normalized results are displayed as a function of C_{eq}/C_{sol} in **Fig. 2d-f** and **Fig. 4e-h** for swelling clays and non-swelling phyllosilicates, respectively. It can be seen that the normalization leads to superimposed isotherms that are not significantly different from each other. This result suggests that the equilibrium constants for adsorption differ only in magnitude and correlate with nucleotide solubilities. As a consequence, we infer that there is a common adsorption mechanism for all nucleotides on a given mineral surface. This works very well for all of the phyllosilicates except for pyrophyllite and chrysotile, where presumably some variation in the adsorption mechanism occurs between the different nucleotides attached to these minerals.

This is in good agreement with previous studies (Hashizume et al., 2010; Cleaves et al., 2012; Feuillie et al., 2013; Feuillie et al., 2015) and indicates that all nucleotides, dNMP and NMP, are adsorbed as homologous molecules on a surface through a common mechanism. As noted above, the reactive surfaces are the edges of the Fe-Mg phyllosilicates of interest in the present study, whether swelling or non-swelling. We propose that the adsorption mechanism is a ligand exchange between the phosphate group of the nucleotides and the hydroxyl groups on the broken bonds of the minerals' edges. The phosphate group is the only chemical part shared by all the molecules tested and hence its interaction with the mineral-water interface can explain the similar behavior of the nucleotides upon adsorption. This proposed chemisorption is in good agreement with Feuillie et al. (2015) who showed that ribonucleotides adsorbed onto α-alumina through monodentate inner-sphere complexes or bidentate outer-sphere complexes through the phosphate group. The authors suggested that the adsorption of ribonucleotides on oxide-like

sites on the broken edges of phyllosilicates could mimic this mechanism. Several previous studies on the adsorption of dissolved phosphate, nucleic acids or organic matter on minerals also concluded that phosphate could form a covalent bond with metal-hydroxyls through ligand exchange, focusing either on the origin of life (Banin et al., 1985; Hashizume et al., 2010) or on environmental science issues (Omoike et al., 2004; Cai et al., 2006; Huang et al., 2009; Antelo et al., 2010). Our results lead to the same conclusion that nucleotides covalently bind to the hydroxyls of the broken edges of phyllosilicates through ligand exchange.

4.2. Coverage of the edges of phyllosilicates

We could also evaluate the surface coverage of the adsorption/reactive sites, which is close to 100% for every nucleotide on the edges of minerals. This does not apply when the total accessible surface area is considered. Given the 'L-shape' of the isotherms, the asymptote may represent the completion of one monolayer. Chemisorbed nucleotides would then have saturated all the reactive sites on the surface, so that the reactive surface coverage become close to 100%. Surface coverage was calculated from the cross-section of nucleotides that depends on the conformation of the molecule at the mineral-water interface, and thus on the adsorption mechanism, ionic strength and nature of the electrolytes, pH, temperature and pressure… The cross-section of the nucleotides was assumed to range between 0.3 and 0.5 $m^2/\mu mol$ using 3D structures visualized with the Jmol software®. This agrees well with the values proposed by Miller (1961) and Pauling and Corey (1953). Miller (1961) calculated a value of 0.6 $m^2/\mu mol$ for the cross-section of nucleotides at the mercury-water interface. Pauling and Corey (1953) suggested that nucleotides in their DNA triple-helix-assumed conformation should have a cross-section of 0.55 $m^2/\mu mol$. We calculated an approximate surface coverage by the adsorbed nucleotides, using the most extreme values of their cross-sections, 0.3 and 0.6 $m^2/\mu mol$, respectively. The actual cross-section of nucleotides at the mineral-water interface is of great interest since it is related to the maximum adsorbed density as allowed by steric hindrance in a monolayer. Our calculation with such a range of cross-sections leads to a maximum adsorbed density of 1.6 to 3.3 $\mu mol/m^2$, shaded in grey in **Figs. 1, 3, 5 and S2.** One can therefore directly visualize the density range that corresponds to the full coverage of the mineral surface by a monolayer of nucleotide. Similar calculations with the present measured adsorbed densities lead to an average value of 95% (±45%) maximum coverage for all nucleotides on the lateral surfaces of non-swelling phyllosilicates. The maximum coverage on lateral surfaces of swelling clays is 52% (±25%). When it is calculated for total surface area adsorption densities, coverage

is limited to 16% (±7%) and 2% (±1) for non-swelling and swelling clays, respectively. Hence, adsorption on the edges of the studied minerals leads to the completion of a monolayer, *i.e.* the saturation of all reactive sites.

Our suggested mechanism of ligand exchange does not seem apply to chrysotile and pyrophyllite that still both exhibit some variability in the adsorption of the different nucleotides after normalization for nucleotide solubility. This might be due to the specific tube-like structure of chrysotile that has defects in its 1:1 layers, and a surface that does not resemble the other phyllosilicates' surfaces investigated in the present study. Some specific structural effects might explain the relatively high adsorption of UMP and CMP onto chrysotile, *e.g.* similar dimensions between reactive groups on these nucleobases and adsorption sites or defects on the surface (Cleaves et al., 2010). Moreover, the isoelectric point of chrysotile is around 10.5, which means that chrysotile is the only positively charged adsorbent in our experimental conditions. As phosphate bears a double negative charge at pH 7, it could easily interact with the positively charged sites on the edges of chrysotile fibers. This mechanism may superimpose to the ligand exchange mechanism abovementioned and could explain the observed specific behavior of chrysotile compared to other minerals of our study. In the case of pyrophyllite, we note that this mineral is a strongly hydrophobic layered silicate due to the impossible substitutions and weak electron donor behavior of the siloxane groups on the basal surfaces of the mineral (Schrader and Yariv, 1990). We suggest that this could favor non-specific, weak interactions between nucleobases' aromatic cycles and the hydrophobic basal surface of the mineral. Adsorption onto pyrophyllite could then depend mostly on the nucleobases' chemical properties.

4.3. Effect of pH

The evolution of adsorption as a function of pH revealed clear changes in adsorption below pH 4, indicating a change in the adsorption mechanism on swelling clays. Maximum adsorption increases linearly with decreasing pH for G and C nucleobases but not for T and U. The sharp increase in adsorption is correlated to the pKa of the nucleobases, around 3-4 pH units for G and C, suggesting changes in the coulombic interactions between mineral surfaces and nucleobases, which are summarized in **Fig. 7**. As pH decreases, G and C are protonated and acquire a positive charge. These nucleobases might then behave like cation electrolytes and compete with them for exchangeable sites on the negatively charged basal surfaces of the swelling clays. Feuillie et al. (2013) established that intercalation of dGMP and GMP during

these experiments did not occur, even at low pH. Consequently, we propose here that dGMP, GMP, dCMP and CMP are adsorbed on the external basal surfaces of the particles of nontronite or montmorillonite via cation exchange and coulombic interactions when protonated. At very low pH (< 2) the affinity of the interaction is such that almost 100% of the nucleotides are adsorbed. This hypothesis is strongly supported by the absence of an adsorption increase for TMP and UMP, which do not protonate at low pH and therefore cannot bind to the negatively charged basal surfaces by cation exchange. Similar experiments were conducted on non-swelling phyllosilicates for dGMP and GMP and no pH effect was observed. This is best explained by the low structural charge on these minerals, indicated by their low CEC compared to the CEC of the swelling clays. Cation exchange should therefore be of minor importance and saturation of the cation exchange sites should be complete at low C_{eq} with a very low adsorption density. If cation exchange takes place, it would be part of the present background experimental noise. In addition, cation exchange would be restricted to a very narrow range of acidic pH conditions because for most pH values there is a global electrostatic repulsion between charged particles and nucleotides **(Fig. 7)**.

4.4. Concentration of nucleotides by mineral surfaces in the context of the origin of life

Our experiments aimed at investigating the adsorption of DNA and RNA monomers in a dilute seawater-like solution on several minerals that are relevant to the Hadean, since organic molecules could have been concentrated and could have polymerized when interacting with seafloor minerals at hydrothermal vents or subduction trenches. The adsorption isotherms were acquired in a concentration range that encompasses the values proposed for primitive oceans (Lahav and Chang, 1976) and nucleotides accumulated and covered the edges of all iron bearing swelling and non-swelling clays. As aforementioned, this corresponds to a maximum adsorbed density of 1.6 to 3.3 µmol/m² in a 1nm-thick monolayer. First order calculation leads to a local saturation concentration of 1.6 to 3.3 M at the mineral-water interface. For all minerals, saturation was reached around an equilibrium concentration of 1 mM, which corresponds to a concentration factor of 10^3. Although large, this factor is small compared to the 6 orders of magnitude accumulation set as a requirement for small proto-biomolecules to interact and polymerize (Baaske et al. 2007). Therefore one may wonder whether polymerization was catalyzed by mineral surfaces in the present experiments. Under ambient conditions of pressure and temperature, we could identify a common adsorption mechanism of nucleotides through a ligand exchange between the phosphate group of the nucleotides and the hydroxyl groups on

the broken bonds of the minerals' edges. Since polymerization proceeds through the formation of a phosphodiester bond between the 3' and 5' carbons of the sugar moieties involved, making the phosphate group part of the backbone of the polymer, neighboring nucleotides attached to a mineral surface through their phosphates with a strong covalent bond are unlikely to polymerize in the adsorbed state **(Fig. 8a)**. The interactions between chemisorbed nucleotides might be limited to nucleobases and ribose. However, a nucleotide attached to the surface through its phosphate could act as the nucleus for attachment of a second nucleotide to it, which would extend polymerization away from the surface. The 5'-end of the polymer would be adsorbed onto the mineral surface, and then elongates away from the mineral-water interface. This plausible scenario is sketched in **Fig. 8b**. Moreover, in a polynucleotide solution, template directed synthesis of oligomers on the nucleotides bound to the edges of the phyllosilicates might also be possible. Since the adsorbed nucleotides have their nitrogen bases directed away from the surface, this could favor Watson-Crick interactions with complementary nucleotides dissolved in the solution (Holm et al., 1993).

Additional adsorption mechanisms arise under low pH or high C_{eq} conditions, for swelling clays. Below pH 4, ligand exchange on the edge surfaces is certainly complemented by a cation exchange on the basal surfaces, with interactions mediated via nucleobases' positive charges. The local concentration on basal surfaces reaches the same order of magnitude as on the edges but in this case adsorbed nucleotides might interact with each other within a diffuse layer since they are only weakly bound to the surface. At high equilibrium concentration ($C_{eq} > 1$ mM) the edges of swelling clays are saturated with nucleotides but these minerals still adsorb as the equilibrium concentration increases. This adsorption proceeds through a mechanism that is as yet unestablished. Swadling et al. (2010) proposed that adsorption of RNA oligomers on montmorillonite particles happened through base-stacking on the basal surface of the swelling clay. Still, further analyses would be needed to understand how nucleotides could adsorb to the surface of swelling clays even after having saturated the lateral surfaces. For instance, high concentrations could lead to base-stacking on the lateral surfaces of swelling clays, or adsorption on the basal surfaces via weak bonds, or opening of the interlayer space, or tridimensional precipitation on the nucleotide-saturated surfaces or formation of multi-layers.

In summary, nontronites may be regarded as strong candidates for the concentration of nucleotides in the origin of life context because on the one hand, they are abundant hydrothermal alteration products developing very high specific surface area (Meunier et al., 2010); and on the other hand, they exhibit the most diverse and favorable behaviors for

adsorption of nucleotides among all the minerals we tested. Nontronites can concentrate nucleotides up to 1 M under neutral to low pH and are becoming even more efficient in adsorbing those molecules at very high equilibrium concentration.

5. CONCLUSIONS

Organic-mineral interactions at the seafloor of primitive oceans may have played a crucial role in the emergence of the first biomolecules. We studied the adsorption of ribo- and deoxyribo-nucleotides in saline solutions on Fe-Mg rich phyllosilicates, both swelling and non-swelling, at 25°C, 1 bar and controlled pH. Under ambient conditions, we showed that Fe-Mg rich phyllosilicates can concentrate nucleotides by a factor as high as 1000. Our results indicate that all nucleotides are homologous molecules, *i.e.* are adsorbed through a single main mechanism, on the phyllosilicates studied under ambient conditions. At low surface loadings, the main adsorption mechanism at neutral pH is suggested to be ligand exchange between the phosphate group of nucleotides and the metal hydroxyls of the broken edges of the phyllosilicates. Differential adsorption of nucleotides on a given surface can be linked to differences in their solubility. Below pH 4, swelling clays also adsorb nucleotides through their positively charged nucleobases by cation exchange on the basal surfaces. Other adsorption mechanisms appear to exist at high surface loadings for swelling clays. Fe-Mg rich phyllosilicates tightly bind to nucleotides under ambient conditions via ligand exchange. This could be of significant importance for understanding the preservation of genetic information in soils and their potential for horizontal gene transfer. This is also relevant to the fate of nucleic acids in Martian soils. Finally, polymerization, as a dehydration reaction, requires either intensive accumulation of nucleotides and/or favorable thermodynamic conditions like at hydrothermal vents. Nontronites having the most diverse and favorable adsorption behaviors under ambient conditions can definitively be regarded as strong candidates for the concentration and polymerization of nucleotides under primitive Earth-like conditions.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to C. Hänni and the PALGENE platform for technical assistance; D. A. Sverjensky for his thoughtful suggestions on the manuscript; the LIEC staff: C. Caillet and Y. Waldvogel for the zeta potential measurements, R. Gley for the CEC and XRD analyses, A. Razafitianamaharavo for the textural analyses; and F. Villiéras for his expertise on mineral

surfaces. This research was supported by the INTERRVIE program (INSU, CNRS) and the IUF grant to I.D.

FIGURES

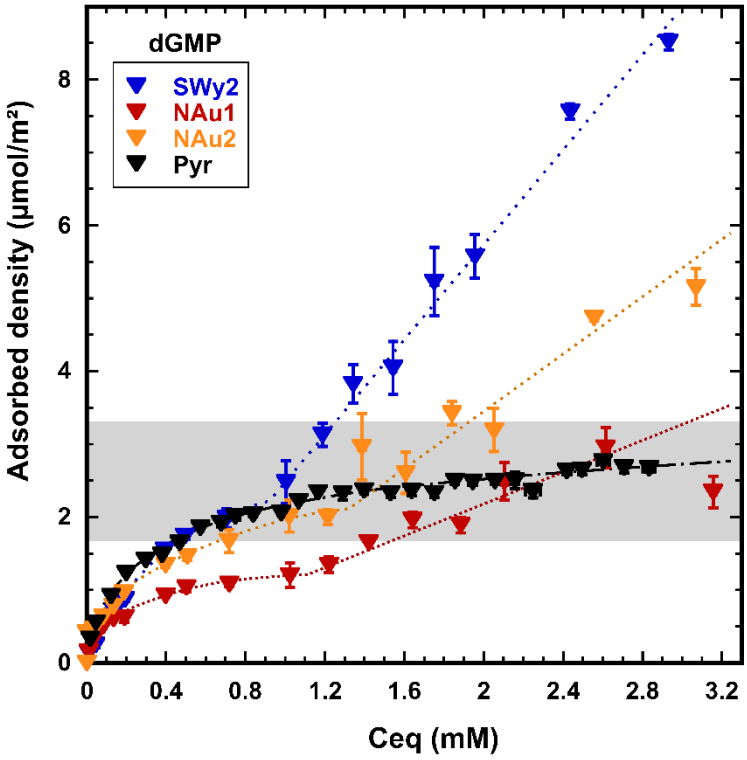


Figure 1. Lateral surface adsorption density isotherms of dGMP up to high equilibrium concentrations showing the contrasted behaviors between swelling clays (red = NAu1; orange = NAu2; blue = SWy2) and pyrophyllite (black). Dotted and dashed lines are guides for the eyes. The shaded area represents the range of values expected for the maximum nucleotide density in a saturated monolayer.

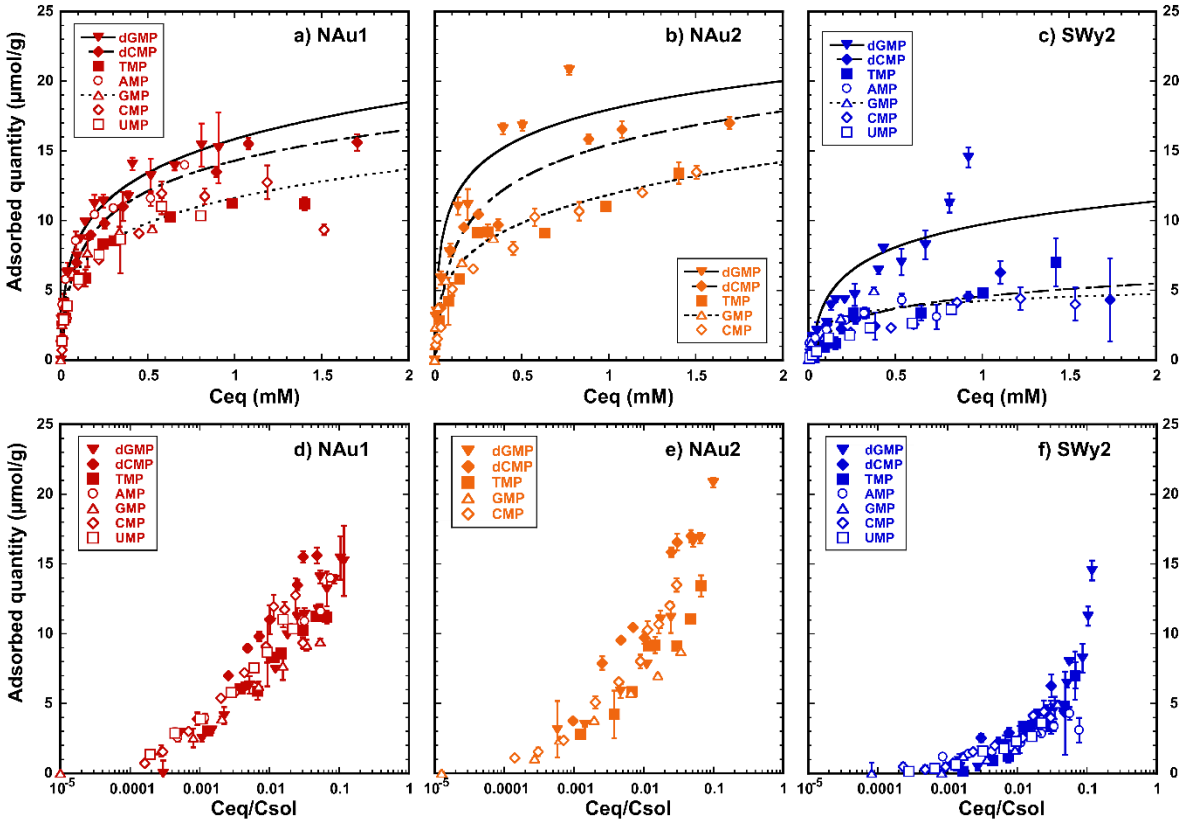


Figure 2. Adsorption isotherms of dNMP (filled symbols) and NMP (empty symbols) for NAu1 (red; a, d), NAu2 (orange; b, e) and SWy2 (blue; d, f) as a function of equilibrium concentration (a-c) and specific solubility-normalized equilibrium concentration of nucleotides C_{eq}/C_{sol} (d-f), respectively. Dark curves are guides for the eyes. The adsorption of the four NMP is from Feuillie et al. (2013). The color code for minerals and symbol code for mononucleotides are the same for all figures. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article). Adsorption experiments were carried out at 1 bar, 25°C and natural pH.

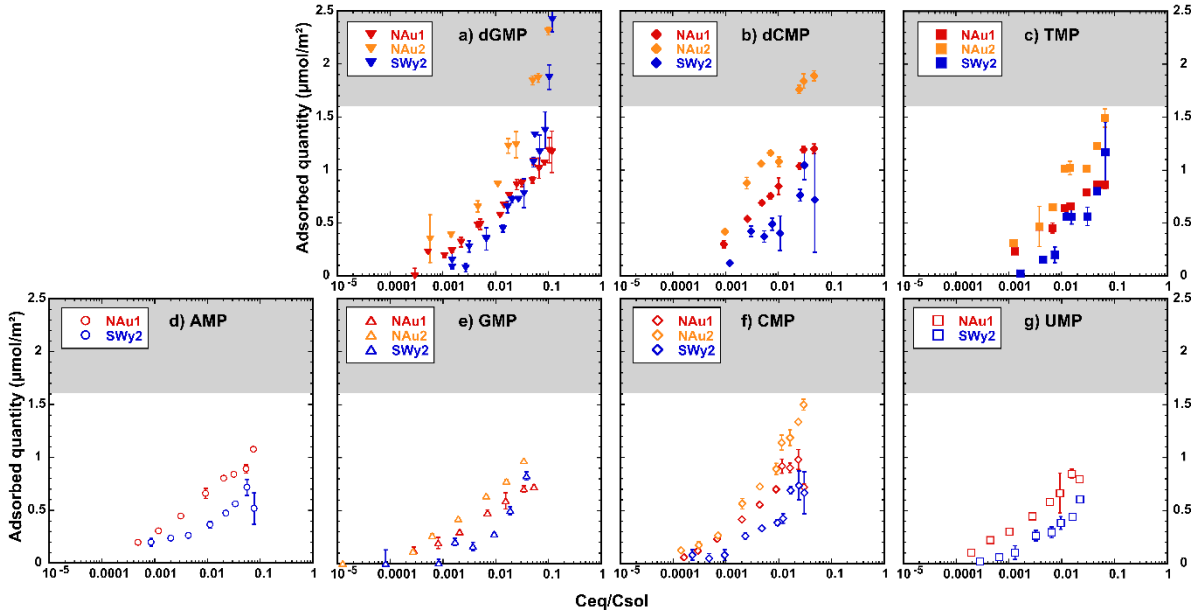


Figure 3. Lateral surface adsorption density isotherms of dNMP (a-c) and NMP (d-g) on NAu1 (red), NAu2 (orange) and SWy2 (blue). The equilibrium concentration of each nucleotide is normalized to its solubility in water at 25°C, noted C_{sol}. Adsorption experiments were carried out at 1 bar, 25°C and natural pH. The shaded area represents the range of values expected for the maximum nucleotide density in a saturated monolayer

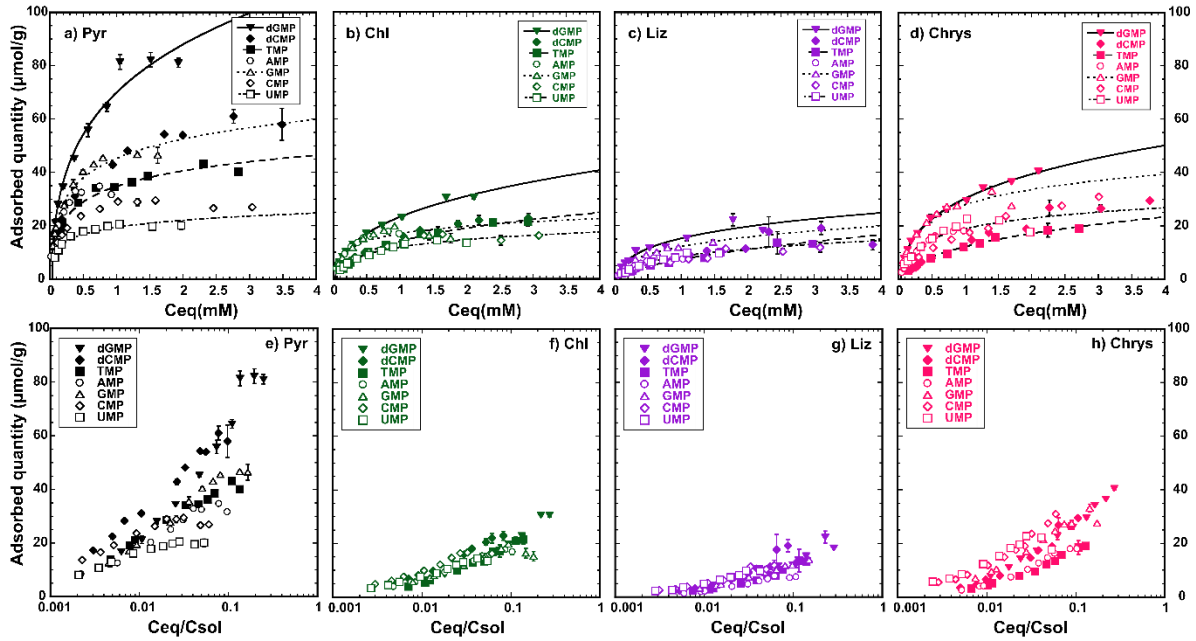


Figure 4. Adsorption isotherms of dNMP (filled symbols) and NMP (empty symbols) for non-swelling phyllosilicates (black = Pyr; green = Chl; purple = Liz; magenta = Chrys) studied as a function of the equilibrium concentration (a-d). (e-h) Specific adsorption as a function of C_{eq}/C_{sol}, the equilibrium concentration normalized to the solubility of each nucleotide. Curves are only meant as guides for the eyes. Adsorption experiments were carried out at 1 bar, 25°C and natural pH.

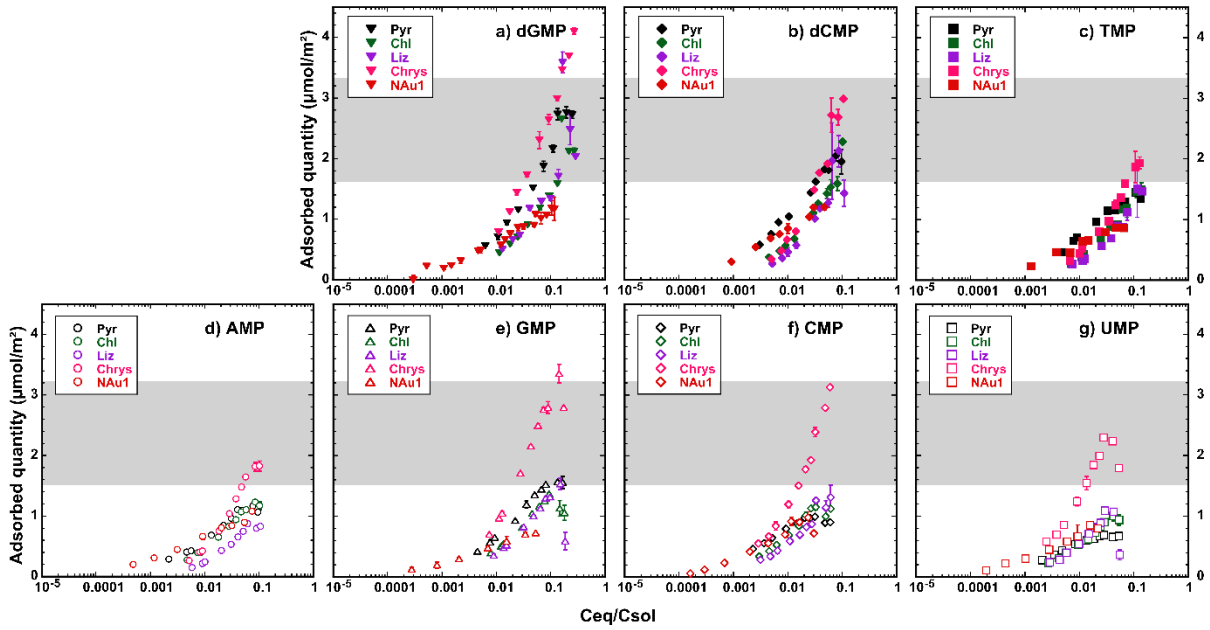


Figure 5. Lateral surface adsorption density isotherms of dNMP (a-c) and NMP (d-g) on Pyr (black), Chl (green), Liz (purple) and Chrys (magenta). Lateral surface adsorption density isotherms on the swelling clay NAu1 (red) are shown for comparison. The equilibrium concentration of each nucleotide is normalized to its solubility in water at 25°C, noted C_{sol}. Adsorption experiments were carried out at 1 bar, 25°C and natural pH. The shaded area represents the range of values expected for the maximum nucleotide density in a saturated monolayer. All minerals but chrysotile display a homogeneous adsorption mechanism on their lateral surface.

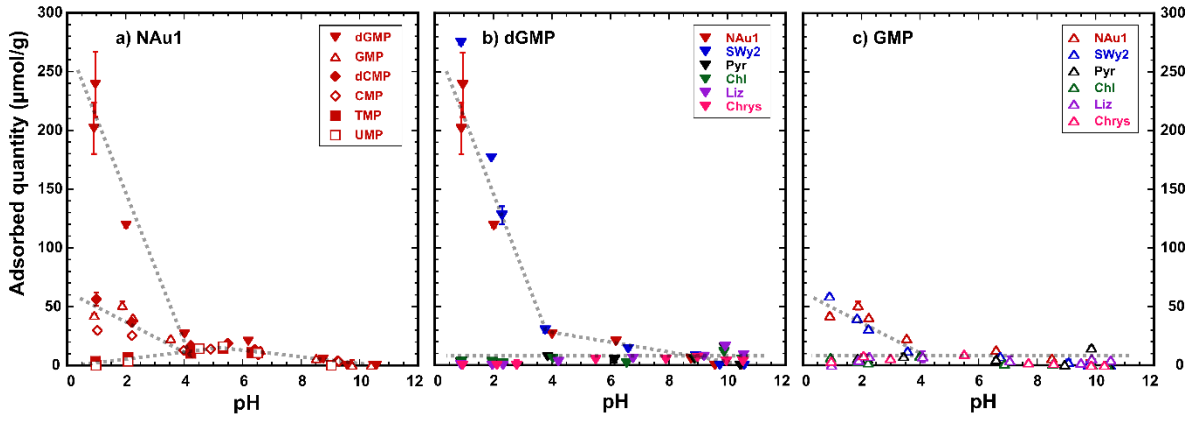


Fig. 6. Effect of pH on the maximum adsorption (a) of dNMP and NMP on NAu1, (b) of dGMP on the non-swelling phyllosilicates studied compared to NAu1 and (c) of GMP on the same set of samples. Dashed grey lines are guides for the eyes. The adsorption of dGMP and GMP on NAu1 and SWy2 is taken from Feuillie et al. (2013). The equilibrium concentration of nucleotides was close to 1 mM for each experiment.

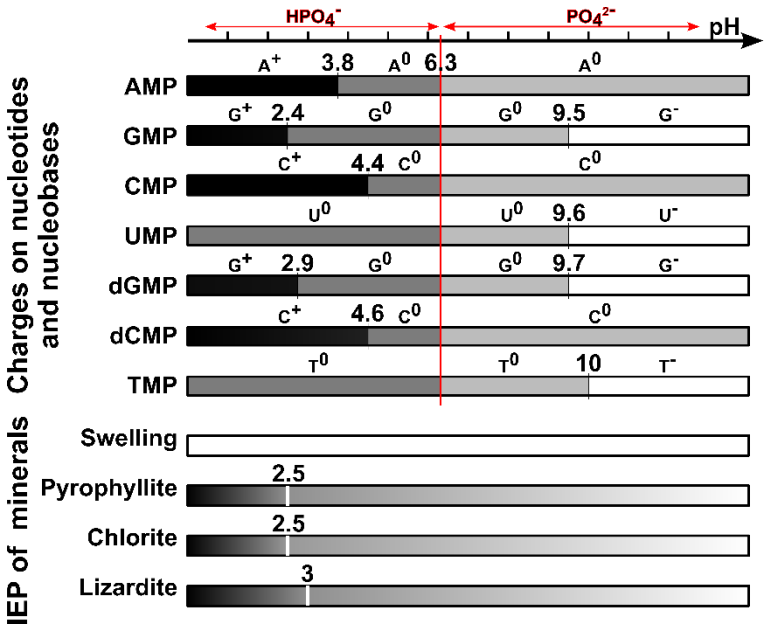


Fig. 7. Evolution of charges on nucleotides and their nucleobases, and the global charge of swelling or non-swelling phyllosilicate particles (stock 1) as a function of pH. Coulombic interactions exist when opposed charges are developed on minerals and nucleobases. The color scale gives the global charge of nucleotides: black = 0; dark grey = -1; light grey = -2; white = -3.

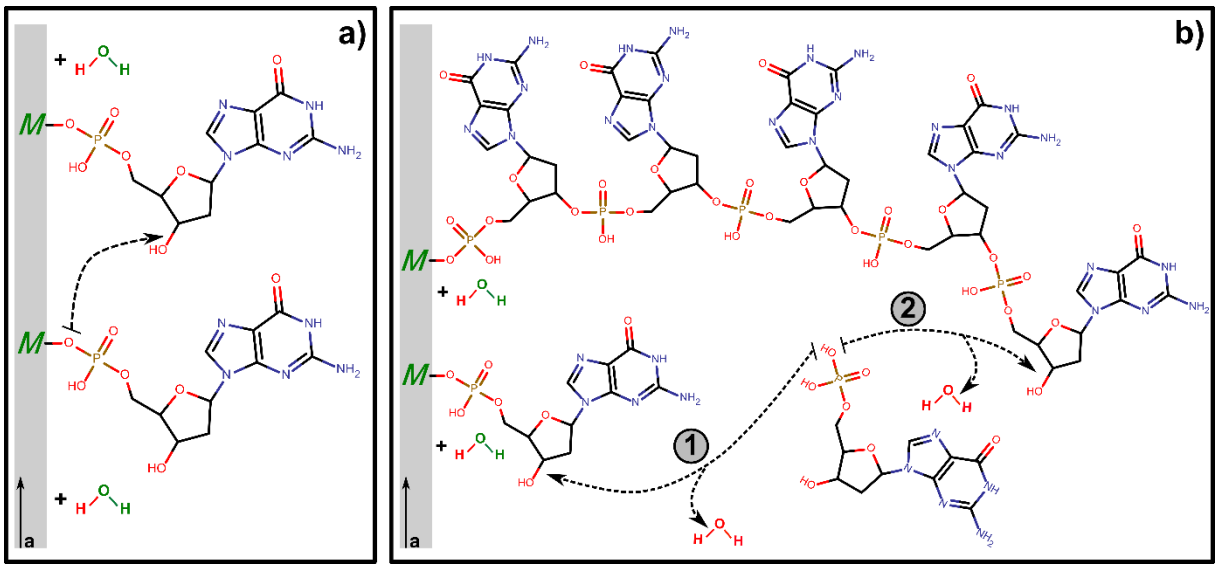


Fig. 8. Sketch for the polymerization of dGMP on the nontronite swelling clay. (a) Impossibility of polymerization of two adsorbed species. The phosphate group of the nucleotides is involved in the ligand exchange reaction with the surface. *M* stands for all metallic cations with hydroxyl group(s) on the broken edges of the clay, *e.g.* Si, Fe, Mg, Al. (b) Hypothesized polymerization pathway. The adsorbed nucleotides are acting as nuclei for the elongation of a strand in the aqueous medium. A solvated nucleotide can either (1) polymerize on an already elongated strand, or (2) start the elongation of a new strand on an adsorbed nucleotide.

TABLES

Table 1. Name, type and structural formula of the minerals.

Name	Abr.	Type	Structural formula
Pyrophyllite[a]	Pyr	2:1	$(Al_{1.88}Ti_{0.09}Fe_{0.03})(Si_{3.52}Al_{0.48})O_{10}(OH)_2$
Chlorite[b]	Chl	2:1:1	$(Si_{4.51}Al_{13.49})(Ca_{0.05})(Mg_{4.44}Al_{0.60}Fe^{3+}_{3.47}Fe^{2+}_{3.02}Mn_{0.01}Ti_{0.06})O_{20}(OH)_{16}$
Lizardite[c]	Liz	1:1	$Mg_{2.74}Fe_{0.16}Al_{0.09}Si_{1.93}Al_{0.07}O_5(OH)_4$
Chrysotile[d]	Chrys	1:1	$(Fe^{2+}_{0.016}Fe^{3+}_{0.006}Mg_{0.977})_3Si_{1.981}Fe^{3+}_{0.016}Al_{0.002}O_5(OH)_4$
Nontronite[e]	NAu1	2:1	$(Si_{6.98}Al_{0.95}Fe_{0.07})(Al_{0.36}Fe_{3.61}Mg_{0.04})O_{20}(OH)_4Na_{1.05}$
Nontronite[e]	NAu2	2:1	$(Si_{7.55}Al_{0.16}Fe_{0.29})(Al_{0.34}Fe_{3.54}Mg_{0.05})O_{20}(OH)_4Na_{0.72}$
Montmorillonite[f]	SWy2	2:1	$(Si_{7.74}Al_{0.26})(Al_{3.06}Fe^{3+}_{0.03}\ Fe^{2+}_{0.03}Mg_{0.48})O_{20}(OH)_4Na_{0.77}$

[a] from **ELIT S.A.** database

[b] from the **Source Clay Physical/Chemical Data** of the Source Clays Repository of the Clay Minerals Society (http://www.clays.org/SOURCE%20CLAYS/SCdata.html, accessed on the 11/07/2105)

[c] **Mellini and Viti (1994)**

[d] **Larachi et al. (2012)**

[e] **Gates et al. (2002)**

[f] **Paineau et al. (2011)**

Table 2. Characteristics of the minerals studied. Isoelectric point (IEP) or point of zero charge (PZC), cation exchange capacity (CEC), total specific surface area (SSA), aspect ratio of the non-swelling phyllosilicates given as the % of edge surface area and edge specific surface area (SSA). Two stocks were used and are labeled with suffix 1 and 2 respectively.

Abr.	IEP/PZC	CEC (meq/100 g)	Total SSA[b] (m^2/g)	%edge[c]	Edge SSA[c] (m^2/g)
Pyr1	2.5	0.3	4.5	25	1.1
Pyr2	2.5	5.4	93.6	34.6	29.8
Chl1	2.5	2.1	7	32	1.8
Chl2	7.5	5.6	59.4	23.7	14.4
Liz1	3	9.9	10.3	36	1
Liz2	4-7	4.3	56.1	18	9
Chrys1	n.d.	0.2	19.1	7	1.2
Chrys2	10.5	10.5	84.8	14.5	9.9
NAu1[a]	*none*	113	240	n.d.	13
NAu2[a]	*none*	89	180	n.d.	9
SWy2[a]	*none*	89	236	n.d.	6

[a] data for swelling clays from **Feuillie et al. (2013)**.

[b] data for Total SSA for non-swelling phyllosilicates from BET treatment of N_2 gas adsorption.

[c] data for %edge and Edge SSA for non-swelling phyllosilicates from low pressure Ar volumetry.

Table 3. Name, acidic constant value, solubility and UV-vis spectrophotometry correction coefficients of the ribonucleotides and deoxyribonucleotides. Acidic constant values of the phosphate group are also given.

	Name	Sites[a]	pKa[a]	Solubility (mM)[b]	$F_{spectro}$[c]	F_{corr}[c]
NMP	AMP	N1	3.8	9.5	1	0.58
	GMP	N7	2.4	9.8	1	0.75
		N1	9.5			
	CMP	N3	4.4	50.4	1	1.14
	UMP	N3	9.6	37	1	0.84
dNMP	dAMP	N1	4.4	8.2	1.12	0.59
	dGMP	N7	2.9	7.8	1.12	0.77
		N1	9.7			
	dCMP	N3	4.6	35.6	1.12	1.17
	TMP	N3	10	21	1.12	1.02
		H_2PO_4	< 1			
		HPO_4^-	6.3			

[a] **Fasman (1975)**.

[b] Theoretical solubility in pure water at 25°C obtained from AloGPS software, **Tetko et al. (2001)** and **Tetko (2005)**.

[c] See **supplementary material** for a detailed explanation of the correction method.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Correction method for UV-vis spectrophotometry. Nucleic acids are optically active molecules that strongly absorb UV light at wavelengths around 260 nm (Schmid, 2001). Their concentrations were calculated with the Beer-Lambert equation **(equation (1))** from the UV absorption spectra of the samples measured on either a Nanodrop ND 1000 (Thermo™) or a Nanophotometer P330 (Implen™).

These spectrophotometers are designed to automatically calculate the nucleic acid concentration from an absorption spectrum using the **equation (2)** derived from Beer-Lambert law.

Equation (1) – Beer-Lambert Law.

$$A(\lambda) = log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon(\lambda) * l * C$$

Equation (2) – Calculation of concentration by the spectrophotometer.

$$C = \frac{A(260\,nm) * F_{average}}{l}$$

Where *C* is the nucleic acid concentration (ng/µl); *A(260nm)* is the absorbance of the sample at 260 nm; $F_{average}$ is a substance specific factor for nucleic acids (ng.cm/µl); and *l* the optical pathlength.

The $F_{average}$ coefficient is a default parameter on spectrophotometers that depends on the molar extinction coefficient *ε(260nm)* of the molecule analyzed. This parameter is set so that 1 A(260nm) unit is equivalent to 50 µg of double-stranded DNA, or 37 µg of single-stranded DNA, or 33 µg of shorter oligomer DNA, or 40 µg of RNA, dissolved in 1mL of pure water and measured in a 1-cm cuvette (dsDNA 50, ssDNA 37, Oligo 33, RNA 40).

In this study, the *single-stranded DNA* and *RNA* coefficients were used for the measurement of deoxyribonucleotide and ribonucleotide concentrations, respectively. Data was then processed using correction coefficients to allow for proper quantification.

First, the Nanodrop ND 1000 and the Nanophotometer P330 used an $F_{average}$ value for *single-stranded DNA* of 33 and 37 respectively. Hence to compare results, a correction factor $F_{spectro}$ must be applied to one of the datasets. **Suppl. Table S1** gives the correction factor to apply to data obtained from the Nanodrop ND 1000 to be compared to results from the Nanophotometer

P330. Second, the molar extinction coefficient is dependent on the molecule considered. Although the pre-set average coefficient could be used for long oligomers and polymers, solutions containing only one species of nucleotide will have a very different absorbing behavior (Cavaluzzi and Borer, 2004; Tataurov et al., 2008). Hence, a specific correction factor F_{corr} was applied to each nucleotide measurement. We chose to use the $\varepsilon(260nm)$ values at neutral pH in pure water calculated by Cavaluzzi and Borer (2004) to derive the specific correction factors that must be applied for a measurement at 260 nm. **Suppl. Table S1** lists all the values used in this correction.

Since the extinction coefficient of these molecules changes with pH, no attempt has been made to correct the data for the differential optical activity of nucleotides when pH was not close to neutral.

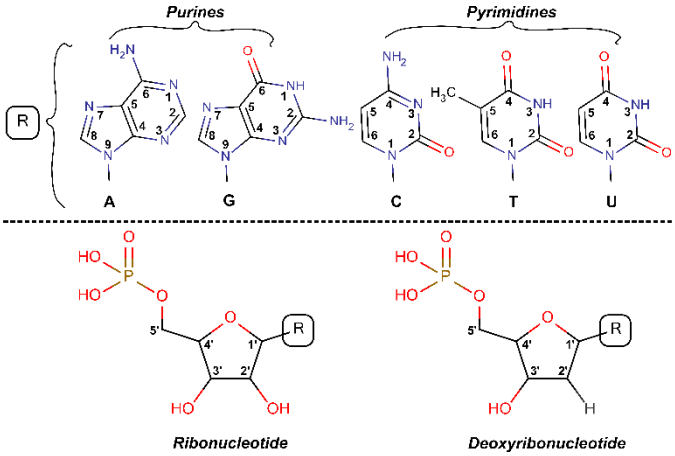
REFERENCES

Cavaluzzi M. J. and Borer P. N. (2004) Revised UV extinction coefficients for nucleoside-5'-monophosphates and unpaired DNA and RNA. *Nucleic Acids Res.* **32**, e13.

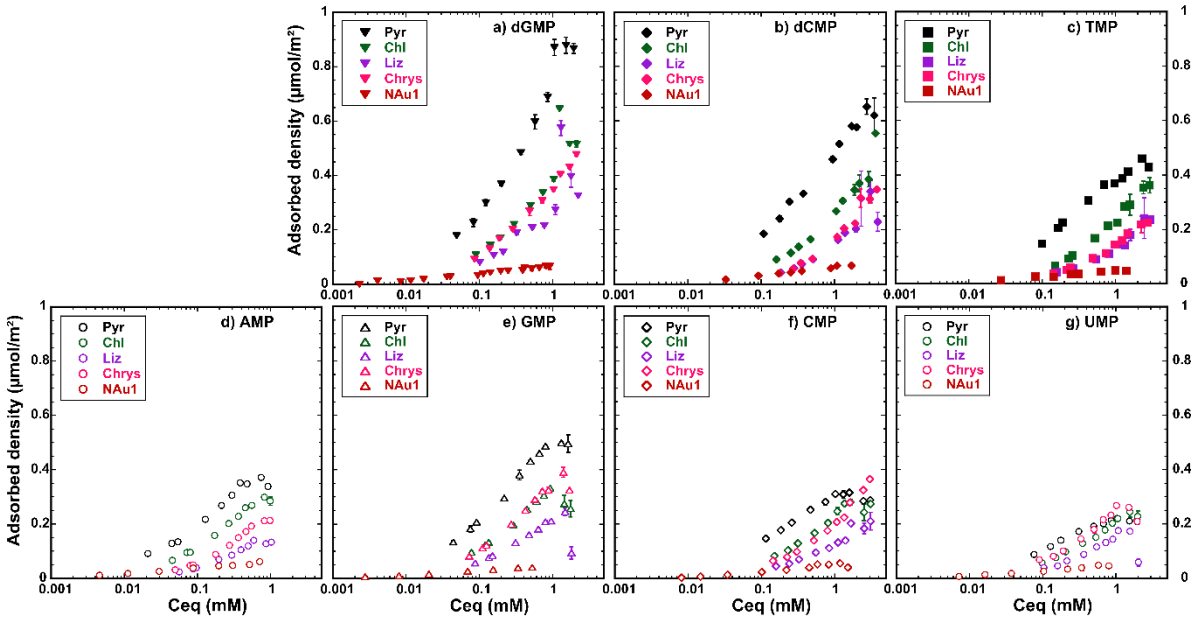
Schmid F. (2001) Biological Macromolecules : UV-visible Spectrophotometry. *Encycl. Life Sci.*, 1–4.

Tataurov A. V, You Y. and Owczarzy R. (2008) Predicting ultraviolet spectrum of single stranded and double stranded deoxyribonucleic acids. *Biophys. Chem.* **133**, 66–70.

SUPPLEMENTARY FIGURES



Supplementary Figure S1. 2-D structure of the ribonucleotides and deoxyribonucleotides used in this study. R stands for the five different nucleobases (A, G, C, T, U) that bind to the sugar moiety.



Supplementary Figure S2. Total surface adsorption density isotherms of seven dNMP and NMP for the four non-swelling phyllosilicates compared to the nontronite NAu1. Adsorption experiments were carried out at 1 bar, 25°C and natural pH.

Supplementary Table S1. Default parameters and correction coefficients applied to UV spectrophotometry quantification.

	Name	ε (260 nm)[a]	Spectrophotometry			
		(x 10^{-3})	$F_{average}$	$F_{spectro}$	F_{real}	F_{corr}
NMP	AMP	15.02	40	1	23.12	0.58
	GMP	12.08	40	1	30.07	0.75
	CMP	7.07	40	1	45.71	1.14
	UMP	9.66	40	1	33.56	0.84
dNMP	dAMP	15.06	37	1.12	22	0.59
	dGMP	12.18	37	1.12	28.51	0.77
	dCMP	7.1	37	1.12	43.27	1.17
	TMP	8.56	37	1.12	37.64	1.02

[a] UV extinction coefficients at 260 nm, Cavaluzzi and Borer (2004).

REFERENCES

Albarède F. and Blichert-Toft J. (2009) The terrestrial craddle of life. *Orig. Life Self-Organization and/or Biol. Evol.*, 1–12.

Alt J. C. and Honnorez J. (1984) Alteration of the upper oceanic crust, DSDP site 417: mineralogy and chemistry. *Contrib. to Mineral. Petrol.* **87**, 149–169.

Alt J. C. and Teagle D. a H. (2003) Hydrothermal alteration of upper oceanic crust formed at a fast-spreading ridge: Mineral, chemical, and isotopic evidence from ODP Site 801. *Chem. Geol.* **201**, 191–211.

Amiguet E., Reynard B., Caracas R., Van de Moortèle B., Hilairet N. and Wang Y. (2012) Creep of phyllosilicates at the onset of plate tectonics. *Earth Planet. Sci. Lett.* **345**, 142–150.

Antelo J., Fiol S., Pérez C., Mariño S., Arce F., Gondar D. and López R. (2010) Analysis of phosphate adsorption onto ferrihydrite using the CD-MUSIC model. *J. Colloid Interface Sci.* **347**, 112–9.

Arndt N. T. and Nisbet E. G. (2012) Processes on the Young Earth and the Habitats of Early Life. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* **40**, 521–549.

Arora A. K. (2007) Interaction of ribose nucleotides with zinc oxide and relevance in chemical evolution. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **298**, 186–191.

Baaske P., Weinert F. M., Duhr S., Lemke K. H., Russell M. J. and Braun D. (2007) Extreme accumulation of nucleotides in simulated hydrothermal pore systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 9346–9351.

Bada J. L. (2004) How life began on Earth: a status report. *Earth Planet. Sci. Lett.* **226**, 1–15.

Balint Z., Nagy K., Laczko I., Bottka S., Vegh G. A., Szegletes Z. and Varo G. (2007) Adsorption and Self-Assembly of Oligodeoxynucleotides onto a Mica Surface. *J. Phys. Chem.* **111**, 17032–17037.

Banin A., Lawless J. G., Mazzurco J., Churche F. M., Margulies L. and Orenberg J. B. (1985) pH profile of the adsorption of nucleotides onto montmorillonite. *Orig. Life* **15**, 89–101.

Barge L. M., Doloboff I. J., Russell M. J., VanderVelde D., White L. M., Stucky G. D., Baum M. M., Zeytounian J., Kidd R. and Kanik I. (2013) Pyrophosphate Synthesis in Iron Mineral Films and Membranes Simulating Prebiotic Submarine Hydrothermal Precipitates. *Geochim. Cosmochim. Acta* **128**, 1–12.

Barrett E. P., Joyner L. G. and Halenda P. P. (1951) The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms. *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 373–380.

Baú J. P. T., Carneiro C. E. a, de Souza Junior I. G., de Souza C. M. D., da Costa A. C. S., di Mauro E., Zaia C. T. B. V, Coronas J., Casado C., de Santana H. and Zaia D. a M. (2012) Adsorption of adenine and thymine on zeolites: FT-IR and EPR spectroscopy and X-ray diffractometry and SEM studies. *Orig. Life Evol. Biosph.* **42**, 19–29.

Benetoli L. O. D. B., de Santana H., Zaia C. T. B. V. and Zaia D. a. M. (2008) Adsorption of nucleic acid bases on clays: an investigation using Langmuir and Freundlich isotherms and FT-IR spectroscopy. *Monatshefte für Chemie - Chem. Mon.* **139**, 753–761.

Benner S. a, Kim H.-J. and Carrigan M. a (2012) Asphalt, water, and the prebiotic synthesis of ribose, ribonucleosides, and RNA. *Acc. Chem. Res.* **45**, 2025–34.

Benner S. A., Kim H.-J., Kim M.-J. and Ricardo A. (2010) Planetary organic chemistry and the origins of biomolecules. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2**, 1–21.

Bernal J. D. (1951) *The Physical Basis of Life*., Routledge and Paul, London.

Bezanilla M., Manne S., Laney D. E., Lyubchenko Y. L. and Hansma H. G. (1995) Adsorption of DNA to Mica, Silylated Mica, and Minerals: Characterization by Atomic Force Microscopy. *Langmuir* **11**, 655–659.

De Boer J. H., Lippens B. C., Linsen B. G., Broekhoff J. C. P., Van den Heuvel A. and Osinga T. J. (1966) The t-curve of multimolecular N2-adsorption. *J. Colloid Interface Sci.* **21**, 405–414.

Brunauer S., Emmett P. H. and Teller E. (1938) Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 309–319.

Buatier M. D., Monnin C., Fruh-green G. L. and Karpoff A. (2001) Fluid – sediment interactions related to hydrothermal circulation in the Eastern Flank of the Juan de Fuca Ridge. *Chem. Geol.* **175**, 343–360.

Buatier M. D., Ouyang K. and Sanchez J. P. (1993) Iron in hydrothermal clays from the Galapagos spreading centre mounds: consequences for the clay transition mechanism. *Clay Miner.* **28**, 641–655.

Cai P., Huang Q., Li M. and Liang W. (2008) Binding and degradation of DNA on montmorillonite coated by hydroxyl aluminum species. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **62**, 299–306.

Cai P., Huang Q., Zhang X. and Chen H. (2006) Adsorption of DNA on clay minerals and various colloidal particles from an Alfisol. *Soil Biol. Biochem.* **38**, 471–476.

Carneiro C. A., Berndt G., de Souza Junior I., de Souza C. D., Paesano Jr A., da Costa A. S., di Mauro E., de Santana H., Zaia C. B. V. and Zaia D. M. (2011) Adsorption of Adenine, Cytosine, Thymine, and Uracil on Sulfide-Modified Montmorillonite: FT-IR, Mössbauer and EPR Spectroscopy and X-Ray Diffractometry Studies. *Orig. Life Evol. Biosph.* **41**, 453–468.

Carneiro C. E. a., Machado C. F. C., de Souza I. G., Paesano A., Di Mauro E., da Costa A. C. S., de Souza C. M. D., de Santana H. and Zaia D. a. M. (2013) Modification of montmorillonite with sodium sulfide for prebiotic chemistry studies: Characterization using spectroscopy methods and X-ray diffractometry. *Appl. Clay Sci.* **86**, 18–22.

Cases J. M. and Villieras F. (1992) Thermodynamic Model of Ionic and Nonionic Surfactant Adsorption-Abstraction on Heterogeneous Surfaces. *Langmuir* **8**, 1251–1264.

Cleaves H. J., Crapster-Pregont E., Jonsson C. M., Jonsson C. L., Sverjensky D. A. and Hazen R. A. (2011) The adsorption of short single-stranded DNA oligomers to mineral surfaces. *Chemosphere* **83**, 1560–1567.

Cleaves H. J., Jonsson C. M., Jonsson C. L., Sverjensky D. A. and Hazen R. M. (2010) Adsorption of Nucleic Acid Components on Rutile (TiO2) Surfaces. *Astrobiology* **10**, 311–323.

Cleaves H. J., Scott A. M., Hill F. C., Leszczynski J., Sahai N. and Hazen R. (2012) Mineral-organic interfacial processes: potential roles in the origins of life. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 5502–25.

Cody G. D. (2005) Geochemical Connections to Primitive Metabolism. *Elem. an Int. Mag. Mineral. geochemistry, Petrol.* **1**, 139–143.

Cohn C. A., Hansson T. K., Larsson H. S., Sowerby S. J. and Holm N. G. (2001) Fate of

prebiotic adenine. *Astrobiology* **1**, 477–480.

Corliss J. B., Baross J. A. and Hoffman S. E. (1981) An hypothesis concerning the relationship between submarine hot springs and the origin of life on Earth. *Oceanol. Acta* **4**, 9.

Demanèche S., Jocteur-monrozier L., Simonet P. and Quiquampoix H. (2001) Evaluation of Biological and Physical Protection against Nuclease Degradation of Clay-Bound Plasmid DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 293–299.

Dias Á. S. and Barriga F. J. a S. (2006) Mineralogy and geochemistry of hydrothermal sediments from the serpentinite-hosted Saldanha hydrothermal field (36°34′N; 33°26′W) at MAR. *Mar. Geol.* **225**, 157–175.

Ertem G. and Ferris J. P. (1998) Formation of RNA oligomers on montmorillonite: site of catalysis. *Orig. Life Evol. Biosph.* **28**, 485–499.

Fasman G. D. (1975) *Handbook of biochemistry and molecular biology, nucleic acids-volume I*. 3rd editio. ed. G. D. Fasman, CRC press, Cleveland.

Ferris J. P. (2005) Catalysis and Prebiotic Synthesis. *Rev. Mineral. Geochemistry* **59**, 187–210.

Ferris J. P. (2002) Montmorillonite catalysis of 30-50mer oligonucleotides: laboratory demonstration of potential steps in the origin of the RNA world. *Orig. Life Evol. Biosph.* **32**, 311–332.

Ferris J. P., Ertem G. and Agarwal V. K. (1989a) Mineral catalysis of the formation of dimers of 5'-AMP in aqueous solution: the possible role of montmorillonite clays in the prebiotic synthesis of RNA. *Orig. Life Evol. Biosph.* **19**, 165–178.

Ferris J. P., Ertem G. and Agarwal V. K. (1989b) The adsorption of nucleotides and polynucleotides on montmorillonite clay. *Orig. Life Evol. Biosph.* **19**, 153–164.

Feuillie C., Daniel I., Michot L. J. and Pedreira-Segade U. (2013) Adsorption of nucleotides onto Fe–Mg–Al rich swelling clays. *Geochim. Cosmochim. Acta* **120**, 97–108.

Feuillie C., Sverjensky D. A. and Hazen R. M. (2015) Attachment of Ribonucleotides on alpha-Alumina as a Function of pH , Ionic Strength , and Surface Loading. *Langmuir* **31**, 240–48.

Flament N., Coltice N. and Rey P. F. (2008) A case for late-Archaean continental emergence from thermal evolution models and hypsometry. *Earth Planet. Sci. Lett.* **275**, 326–336.

Franchi M., Bramanti E., Bonzi L. M., Orioli P. L., Vettori C. and Gallori E. (1999) Clay-nucleic acid complexes: characteristics and implications for the preservation of genetic material in primeval habitats. *Orig. Life Evol. Biosph.* **29**, 297–315.

Gates W. P., Slade P. G., Manceau A. and Lanson B. (2002) Site occupancies by iron in nontronites. *Clays Clay Miner.* **50**, 223–239.

Grybos M., Michot L. J., Skiba M., Billard P. and Mustin C. (2010) Dissolution of anisotropic colloidal mineral particles: Evidence for basal surface reactivity of nontronite. *J. Colloid Interface Sci.* **343**, 433–438.

Hashizume H. (2012) Role of Clay Minerals in Chemical Evolution and the Origins of Life. In *Clay Minerals in Nature - Their Characterization, Modification and Application* pp. 191–208.

Hashizume H., van der Gaast S. and Theng B. K. G. (2010) Adsorption of adenine, cytosine, uracil, ribose, and phosphate by Mg-exchanged montmorillonite. *Clay Miner.* **45**, 469–475.

Hazen R. M. (2013) Paleomineralogy of the Hadean Eon: A preliminary species list. *Am. J. Sci.*

313, 807–843.

Hazen R. M., Papineau D., Bleeker W., Downs R. T., Ferry J. M., McCoy T. J., Sverjensky D. A. and Yang H. (2008) Mineral evolution. *Am. Mineral.* **93**, 1693–1720.

Hazen R. M. and Sverjensky D. A. (2010) Mineral surfaces, geochemical complexities, and the origins of life. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2**, a002162.

Hazen R. M., Sverjensky D. a., Azzolini D., Bish D. L., Elmore S. C., Hinnov L. and Milliken R. E. (2013) Clay mineral evolution. *Am. Mineral.* **98**, 2007–2029.

Holm N. G., Ertem G. and Ferris J. P. (1993) The Binding and Reactions of Nucleotides and Polynucleotides on Iron-Oxide Hydroxide Polymorphs. *Orig. Life Evol. Biosph.* **23**, 195–215.

Huang W. and Ferris J. P. (2006) One-step, regioselective synthesis of up to 50-mers of RNA oligomers by montmorillonite catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 8914–8919.

Huang X., Foster G. D., Honeychuck R. V and Schreifels J. a (2009) The maximum of phosphate adsorption at pH 4.0: why it appears on aluminum oxides but not on iron oxides. *Langmuir* **25**, 4450–61.

Humphris S. E. (1978) Hydrothermal alteration of oceanic basalts by seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**, 107–125.

Hunter A. G., Kempton P. D. and Greenwood P. (1999) Low-temperature fluid-rock interaction-an isotopic and mineralogical perspective of upper crustal evolution, eastern flank of the Juan de Fuca Ridge (JdFR), ODP Leg 168. *Chem. Geol.* **155**, 3–28.

Joshi P. C., Aldersley M. F., Delano J. W. and Ferris J. P. (2009) Mechanism of montmorillonite catalysis in the formation of RNA oligomers. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 13369–74.

Kaddour H. and Sahai N. (2014) Synergism and mutualism in non-enzymatic RNA polymerization. *Life (Basel, Switzerland)* **4**, 598–620.

Kulik D. A. (2009) Thermodynamic Concepts in Modeling Sorption at the Mineral-Water Interface. *Rev. Mineral. Geochemistry* **70**, 125–180.

Lackschewitz K. S., Botz R., Garbe-Schönberg D., Scholten J. and Stoffers P. (2006) Mineralogy and geochemistry of clay samples from active hydrothermal vents off the north coast of Iceland. *Mar. Geol.* **225**, 177–190.

Lahav N. and Chang S. (1976) The Possible Role of Solid Surface Area in Condensation Reactions during Chemical Evolution : Reevaluation. *J. Mol. Evol.* **8**, 357–380.

Lambert J.-F. (2008) Adsorption and polymerization of amino acids on mineral surfaces: a review. *Orig. Life Evol. Biosph.* **38**, 211–42.

Larachi F., Gravel J.-P., Grandjean B. P. A. and Beaudoin G. (2012) Role of steam, hydrogen and pretreatment in chrysotile gas–solid carbonation: Opportunities for pre-combustion CO2 capture. *Int. J. Greenh. Gas Control* **6**, 69–76.

Lazar C., McCollom T. M. and Manning C. E. (2012) Abiogenic methanogenesis during experimental komatiite serpentinization: Implications for the evolution of the early Precambrian atmosphere. *Chem. Geol.* **326-327**, 102–112.

Livi K. J. T., Scha B., Azzolini D., Seabourne C. R., Hardcastle T. P., Scott A. J., Hazen R. M., Erlebacher J. D., Brydson R. and Sverjensky D. A. (2013) Atomic-Scale Surface Roughness of Rutile and Implications for Organic Molecule Adsorption. *Langmuir* **29**, 6876–83.

Lorenz M. G. and Wackernagel W. (1987) Adsorption of DNA to sand and variable degradation

rates of adsorbed DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 2948–2952.

Mantin I. (1969) Mesure de la capacité d'échange des minéraux argileux par l'éthylène diamine et les ions complexes de l'éthylène diamine. *Comptes Rendus des Séances l'Académie des Sci. Série D Sci. Nat.* **269**, 815–818.

Mantin I. and Glaeser R. (1960) Fixation des ions cobalt hexamine par les montmorillonites acides. *Bull. du Groupe français des Argiles* **50**, 83–88.

Marcaillou C. (2011) Serpentinisation et production d'hydrogène en contexte de dorsale lente: approche expérimentale et numérique. Université de Grenoble.

Mas A., Meunier A., Beaufort D., Patrier P. and Dudoignon P. (2008) Clay minerals in basalt-hawaiite rocks from mururoa atoll (French polynesia). I. mineralogy. *Clays Clay Miner.* **56**, 711–729.

Mellini M. and Viti C. (1994) Crystal structure of lizardite-1T from Elba , Italy. *Am. Mineral.* **79**, 1194–1198.

McCollom T. M. and Seewald J. S. (2001) A reassessment of the potential for reduction of dissolved CO2 to hydrocarbons during serpentinization of olivine. *Geochim. Cosmochim. Acta* **65**, 3769–3778.

McCollom T. M. and Seewald J. S. (2013) Serpentinites, Hydrogen, and Life. *Elements* **9**, 129–134.

Meunier A., Petit S., Cockell C. S., El Albani A. and Beaufort D. (2010) The Fe-rich clay microsystems in basalt-komatiite lavas: importance of Fe-smectites for pre-biotic molecule catalysis during the Hadean eon. *Orig. Life Evol. Biosph.* **40**, 253–72.

Michalkova A., Robinson T. L. and Leszczynski J. (2011) Adsorption of thymine and uracil on 1:1 clay mineral surfaces: comprehensive ab initio study on influence of sodium cation and water. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13**, 7862–81.

Michot L. J., Bihannic I., Maddi S., Baravian C., Levitz P. and Davidson P. (2008) Sol/Gel and Isotropic/Nematic Transitions in Aqueous Suspensions of Natural Nontronite Clay . Influence of Particle Anisotropy . 1 . Features of the I/N Transition. *Langmuir* **24**, 3127–3139.

Michot L. J., Bihannic I., Thomas F., Lartiges B. S., Waldvogel Y., Caillet C., Thieme J., Funari S. S. and Levitz P. (2013) Coagulation of Na-montmorillonite by inorganic cations at neutral pH. A combined transmission X-ray microscopy, small angle and wide angle X-ray scattering study. *Langmuir* **29**, 3500–3510.

Michot L. J. and Villiéras F. (2002) Assessment of surface energetic heterogeneity of synthetic Na-saponites. The role of layer charge. *Clay Miner.* **37**, 39–57.

Michot L. J., Villiéras F., François M., Bihannic I., Pelletier M. and Cases J.-M. (2002) Water organisation at the solid–aqueous solution interface. *Comptes Rendus Geosci.* **334**, 611–631.

Miller I. R. (1961) The structure of DNA and RNA in the water-mercury interface. *J. Mol. Biol.* **3**, 229–240.

Morel L.-R. (1967) *Etude expérimentale des phénomènes d'échange sur différents minéraux argileux.*, Annales de l'Institut Nationnal de la Recherche agronomique.

Mottl M. J. and Holland H. D. (1978) Chemical exchange during hydrothermal alteration of basalt by seawater-I . Experimental results for major and minor components of seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**, 1103–1115.

Mottl M. J., Holland H. D. and Corr R. F. (1979) Chemical exchange during hydrothermal alteration of basalt by seawater-II , Experimental results for Fe , Mn , and sulfur species. *Geochim. Cosmochim. Acta* **43**, 869–884.

Van Olphen H. (1977) *An introduction to clay colloid chemistry, for clay technologists, geologists, and soil scientists.* John Wiley.,

Omoike A., Chorover J., Kwon K. D. and Kubicki J. D. (2004) Adhesion of bacterial exopolymers to alpha-FeOOH: inner-sphere complexation of phosphodiester groups. *Langmuir* **20**, 11108–14.

Orsini L. and Remy J. C. (1976) Utilisation du chlorure de cobaltihexammine pour la determination simultanee de la capacite d'echange et des bases echangeables des sols. *Bull. l'Association Fr. pour l'Etude du Sol. Sci. du Sol*.

Paineau E., Michot L. J., Bihannic I. and Baravian C. (2011) Aqueous suspensions of natural swelling clay minerals. 2. Rheological characterization. *Langmuir* **27**, 7806–7819.

Pauling L. and Corey R. B. (1953) A proposed structure for the nucleic acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **39**, 84.

Poch O., Jaber M., Stalport F., Nowak S., Georgelin T., Lambert J.-F., Szopa C. and Coll P. (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.

Powner M. W., Gerland B. and Sutherland J. D. (2009) Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions. *Nature* **459**, 239–42.

Ricardo A., Carrigan M. A., Olcott A. N. and Benner S. A. (2004) Borate minerals stabilize ribose. *Science (80-.).* **303**, 196.

Russell M., Daniel R., Hall A. and Sherringham J. (1994) A hydrothermally precipitated catalytic iron sulphide membrane as a first step toward life. *J. Mol. Evol.* **39**, 231–243.

Russell M. J. (2007) The alkaline solution to the emergence of life: energy, entropy and early evolution. *Acta Biotheor.* **55**, 133–179.

Saha S. and Sarkar P. (2014) Understanding the interaction of DNA-RNA nucleobases with different ZnO nanomaterials. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16**, 15355–66.

Schrader M. E. and Yariv S. (1990) Wettability of clay minerals. *J. Colloid Interface Sci.* **136**, 85–94.

Seyfried W. E. J. and Bischoff J. L. (1981) Experimental seawater-basalt interaction at 300°C, 500 bars, chemical exchange, secondary mineral formation and implications for the transport of heavy metals. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 135–147.

Seyfried W. E. J. and Bischoff J. L. (1979) Low temperature basalt alteration by seawater : an experimental study at 70°C and 150°C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **43**, 1937–1947.

Seyfried W. E. J. and Dibble W. E. J. (1980) Seawater-peridotite interaction at 300°C and 500 bars : implications for the origin of oceanic serpentinites. *Geochim. Cosmochim. Acta* **44**, 309–321.

Seyfried W. E. J. and Mottl M. J. (1982) Hydrothermal alteration of basalt by seawater under seawater-dominated conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **46**, 985–1002.

Shock E. L. (1990) Geochemical constraints on the origin of organic compounds in

hydrothermal systems. *Orig. Life Evol. Biosph.* **20**, 331–367.

Sing K. S. W. (1985) Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). *Pure Appl. Chem.* **57**, 603–619.

Sowerby S. J., Cohn C. a, Heckl W. M. and Holm N. G. (2001) Differential adsorption of nucleic acid bases: Relevance to the origin of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 820–822.

Swadling J. B., Coveney P. V and Greenwell H. C. (2010) Clay Minerals Mediate Folding and Regioselective Interactions of RNA: A Large-Scale Atomistic Simulation Study. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 13750–13764.

Swadling J. B., Suter J. L., Greenwell H. C. and Coveney P. V (2013) Influence of surface chemistry and charge on mineral-RNA interactions. *Langmuir* **29**, 1573–83.

Szostak J. W. (2009) Systems chemistry on early Earth. *Nature* **459**, 171–2.

Tetko I. V (2005) Computing chemistry on the web. *Drug Discov. Today* **10**, 1497–1500.

Tetko I. V, Tanchuk V. Y., Kasheva T. N. and Villa a E. (2001) Estimation of aqueous solubility of chemical compounds using E-state indices. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **41**, 1488–1493.

Van Olphen H. (1977) *An introduction to clay colloid chemistry, for clay technologists, geologists, and soil scientists.* John Wiley & Sons, New York.

Villiéras F., Cases J. M., François M., Michot L. J. and Thomas F. (1992) Texture and surface energetic heterogeneity of solids from modeling of low pressure gas adsorption isotherms. *Langmuir* **8**, 1789–1795.

Villiéras F., Michot L. J., Bardot F., Cases J. M., François M. and Rudzinski W. (1997) An improved derivative isotherm summation method to study surface heterogeneity of clay minerals. *Langmuir* **13**, 1104–1117.

Villiéras F., Michot L. J., Cases J. M., Berend I., Bardot F., François M., Gérard G. and Yvon J. (1997) Static and dynamic studies of the energetic surface heterogeneity of clay minerals. *Stud. Surf. Sci. Catal.* **104**, 573–623.

Wächtershäuser G. (1988a) Before Enzymes and Templates: Theory of Surface Metabolism. *Microbiol. Rev.* **52**, 452–484.

Wächtershäuser G. (1988b) Pyrite Formation, the First Energy Source for Life: a Hypothesis. *Syst. Appl. Microbiol.* **10**, 207–210.

Yu W. H., Li N., Tong D. S., Zhou C. H., Lin C. X. (Cynthia) and Xu C. Y. (2013) Adsorption of proteins and nucleic acids on clay minerals and their interactions: A review. *Appl. Clay Sci.* **80-81**, 443–452.

Zhang X., Wang F., Liu B., Kelly E. Y., Servos M. R. and Liu J. (2014) Adsorption of DNA oligonucleotides by titanium dioxide nanoparticles. *Langmuir* **30**, 839–45.

PARTIE 4 - ADSORPTION (2)

Effets de la salinité sur l'adsorption de nucléotides monophosphatés sur les phyllosilicates

Effets de la salinité sur l'adsorption de nucléotides monophosphatés sur les phyllosilicates

Soumis à Langmuir

Résumé

Dans le contexte des origines de la vie, les surfaces des phyllosilicates ont pu favoriser l'adsorption, la concentration et la réactivité de molécules prébiotiques diluées. Les fonds marins primitifs étaient certainement riches en phyllosilicates ferromagnésiens. La salinité de l'océan primitif est encore largement peu connue. Les valeurs proposées s'étendent de 1 à 15 fois la salinité moderne, et la composition saline de ces eaux est peu décrite. Ces paramètres ont pourtant probablement joué un rôle dans les interactions entre nucléotides et surfaces minérales. Nous avons donc étudié l'adsorption de la désoxyguanosine-5'-monophosphatée (dGMP) comme nucléotide modèle sur une argile gonflante ferromagnésienne (nontronite) et un phyllosilicate alumineux (pyrophyllite) pour comparaison. Les expériences ont été menées à pression atmosphérique, à 25°C et pH naturel, avec un ensemble de sels NaCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$, $MgSO_4$, NaH_2PO_4 et $LaCl_3$ afin d'évaluer l'effet des cations et des anions sur l'adsorption du dGMP. Cette étude montre que les nucléotides sont adsorbés sur les deux types de phyllosilicates par un mécanisme d'échange de ligand. Le groupement phosphate des nucléotides est complexé à un métal hydroxylé des bords de feuillets des phyllosilicates. La présence de cations divalents ou d'anions moléculaires (phosphate ou sulfate) tend à inhiber ce type d'interaction sur les deux minéraux étudiés. Cependant, en présence de cations divalents, un pontage cationique des nucléotides sur la surface basale des argiles gonflantes a également été observé. Ce mécanisme pourrait permettre aux argiles gonflantes de posséder une capacité de rétention des nucléotides plus forte que les phyllosilicates non-gonflants dans les environnements naturels primitifs ou actuels.

Title: Effects of salinity on the adsorption of monophosphated nucleotides onto phyllosilicates.

Authors: Ulysse Pedreira-Segade[1]*, Laurent J. Michot[2], Isabelle Daniel[1]

*Corresponding author: ulysse.pedreira@ens-lyon.org

1 *Univ Lyon, Ens de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5276 LGL-TPE, F-69342, Lyon, France*

2 *Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Laboratoire PHENIX, Case 51, 4 Place Jussieu, F-75005 Paris, France*

Abstract

In the context of the origin of life, phyllosilicates surfaces might favor the adsorption, concentration and reactivity of otherwise diluted prebiotic molecules. The primitive oceanic seafloor was certainly rich in Fe-Mg-rich phyllosilicates. The salinity of the primitive seawater remains largely unknown. Values ranging from 1 to 15 times modern salinity have been proposed and the salt composition of the primitive ocean also remains elusive although it may have played a role in the interactions between nucleotides and mineral surfaces. Therefore we studied the adsorption of 5'-monophosphated deoxyguanosine (dGMP) as a model nucleotide onto a Fe-rich swelling clay, *i.e.* nontronite, and an Al-rich phyllosilicate, *i.e.* pyrophyllite, for comparison. Experiments were carried out at atmospheric pressure, 25°C and natural pH, with a series of salts NaCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$, $MgSO_4$, NaH_2PO_4 and $LaCl_3$ in order to evaluate the effect of cations and anions on dGMP adsorption. The present study shows that nucleotides are adsorbed on both phyllosilicates *via* a ligand exchange mechanism. The phosphate group of the nucleotide is adsorbed on the lateral metal hydroxyls of the broken edges of phyllosilicates. The presence of divalent cations or molecular anions, such as phosphate or sulfate tend to inhibit this interaction on both mineral surfaces. However, in the presence of divalent cations, cationic bridging on the basal surfaces of the swelling clay also occurs and could induce a higher retention capacity of the swelling clays compared to non-swelling phyllosilicates in primitive and modern natural environments.

INTRODUCTION

In the quest for the origin of life, adsorption of nucleotides onto mineral surfaces has been proposed as a mechanism to increase the concentration of otherwise diluted monomers in order to form RNA or DNA oligomers[1,2]. A relevant adsorption mechanism should favor concentration and subsequent reactivity of the adsorbed molecules. Among many hypotheses it has been proposed that life might have appeared in hydrothermal systems, where the seawater circulated through the oceanic bedrock escapes from chimneys at high-temperature as a fluid that has significantly changed chemical properties, and where energy, pH and temperature gradients could support life[3–8]. In such hydrothermal vents, phyllosilicates are of particular interest, given their large reactive surface area and relatively high abundance as alteration products of the primitive oceanic rocks[9–11]. Previous studies on the adsorption of nucleotides on phyllosilicates showed that all 5'-monophosphated deoxyribose and 5'-monophosphated ribose nucleotides behave in a similar way on the surface of Fe-Mg-rich and Al-rich phyllosilicates[12,13]. Under conditions analog to modern seawater, *i.e.* 0.5 M NaCl and 0.05 M $MgCl_2$, and near neutral pH, they adsorb *via* a common mechanism of ligand exchange, in which the phosphate group of the nucleotides interacts with the metal-hydroxyl groups of the edge surfaces of phyllosilicates[12–14]. On one hand, the complexation of the phosphate group might hinder further polymerization reaction on the surface since the phosphate group is mandatory to the formation of the phosphodiester bond that makes up the backbone of RNA and DNA polymers. On the other hand adsorbed nucleotides could seed the surface with stable nuclei for polymerization to extend away from the mineral particles. Furthermore, nucleotide adsorption mechanisms strongly depend on environmental parameters such as pH. Under acidic conditions and for phyllosilicates with permanent negative charge such as montmorillonite or nontronite, protonated nucleobases can also bond with basal surfaces through electrostatic interactions.

Several authors have also shown that adsorption and polymerization of nucleotides and nucleic acids depend on both the concentration and the nature of the salts in solution. For instance, the adsorption of nucleotides onto montmorillonite changes as a function of exchangeable cations[15]. The presence of divalent cations such as Ca^{2+} at concentrations as low as 10 mM enhances DNA adsorption onto both montmorillonite and kaolinite[16,17] and more generally, an increase in cation concentration results in an increase of DNA, RNA and oligomers adsorption onto montmorillonite and kaolinite[18]. It is usually assumed to occur through the formation of cationic bridges between their phosphate groups and the negatively charged mineral surfaces[18–

[25]. Generally divalent cations are thought to be more efficient than monovalent ones at screening the surface charges of the minerals. As a consequence, adsorption could be enhanced by even small amounts of divalent cations.

The salinity of the primitive ocean is still a matter of debate. Values ranging from 1 to 15 times the modern salinity have been proposed, based on various assumptions such as the absence of closed seas on the primitive Earth and mass conservation of the modern global evaporitic deposits and groundwater resources[26–28], analyses of fluid inclusions in Proterozoic hydrothermal quartz[29] or modeling of the dissolution of enstatite chondrites[30]. The latter studies mainly suggest that Cl^- was the dominant anion in primitive seawater. However, the composition in cations remains largely unknown. It has been even recently proposed that Hadean oceans might have been '$CaCl_2$-dominated'[31]. In summary, the primitive ocean may have had a higher salinity and a rather different composition compared to present-day seawater.

The present study aims at deciphering the effect of various salts on the adsorption behavior of nucleotides onto phyllosilicates. It focuses on Fe-Mg-rich swelling clays that are relevant to the alteration of oceanic rocks of the early Earth[10,12]. 5'-monophosphate deoxyguanosine (dGMP) is used as a model nucleotide and was adsorbed onto a Fe-rich swelling clay, *i.e.* nontronite, and an Al-rich uncharged phyllosilicate, *i.e.* pyrophyllite, for comparison. All experiments were carried out at atmospheric pressure, 25°C and natural pH of ca. 7 with a series of salts NaCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$, $MgSO_4$, NaH_2PO_4 and $LaCl_3$ in order to evaluate the effect of both cations and anions on the adsorption of dGMP.

In addition to its relevance to the origin of life, the present study may also have implications for the search of biosignatures on Mars. Modern Martian soils are rich in $MgSO_4$, NaCl and $MgCl_2$ salts and water on the early Mars should then have been highly concentrated in these salts[32–35]. The preservation of organic matter on the dried out red planet might hence be very dependent on the salts retained in the clay sediments.

EXPERIMENTAL SECTION

Minerals. One swelling clay and one non-swelling phyllosilicate were used in the present work. Nontronite NAu2 sample is a reference Fe-rich swelling clay that was purchased from the Source Clays Minerals Repository of the Clay Mineral Society (Purdue University, USA). It was purified and sorted by size as a deionized brownish water suspension, after complete sodium exchange (see references[36,37] for detailed protocol). We selected a size-2 stock suspension with a solid concentration of 13.6 g/L for both adsorption experiments and Small

Angle X-ray Scattering (SAXS) measurements. The lath-shaped clay platelets in these suspensions have an average dimension of 368 nm x 93 nm x 1 nm[12]. Pyrophyllite Pyr was prepared as a fine powder from a pure rock sample. The bulk rock was ground using an agate mortar and a Planetary Ball Mill PM 100 automatic grinder (Retsch™) in wet conditions in order to reduce the grain size to an average of 1-2 µm without alteration of the mineral[38]. **Table 1** lists the name, abbreviation, type, structural formula and physical and chemical properties of the samples (see also reference[13] for details).

Nucleotides and salts. Pure (>98%) disodium salt of 5'monophosphate deoxyguanosine (dGMP.Na_2.nH_2O) was purchased from Sigma Aldrich™ and dissolved in saline solutions. All salts were purchased from Sigma Aldrich™ and selected for their molecular biology grade purity (>99%). We used the following salts, dissolved without further preparation in ultrapure water (18 MΩ·cm) to prepare saline solutions: NaCl, $MgCl_2.6H_2O$, $CaCl_2.2H_2O$, $MgSO_4$ (anhydrous), $NaH_2PO_4.2H_2O$ and $LaCl_3.7H_2O$. **Table 1** also lists the chemical properties of dGMP and the correction coefficient used for the determination of its concentration by UV spectrophotometry at 260 nm (see below for details on the analytical method).

Batch adsorption method. Batch experiments were carried out at 25°C and ambient pressure, as previously described (see references[12,13]). Briefly, saline solutions of known initial concentrations of dGMP were mixed with precisely weighted mineral samples in 2mL snap-cap Eppendorf™ tubes for a final volume of 1 mL. The tubes were then vortexed for 15 s to ensure dispersion of the mineral and homogenization of the suspensions. The suspensions were left in the dark in a thermostated water bath at 25°C for 24 hours, to reach the equilibrium. The tubes were centrifuged at 16,100 g for 25 min and the supernatants were retrieved. Their equilibrium dGMP concentration was assessed by UV absorption at 260 nm using an Implen™ Nanophotometer P-330. All adsorption experiments were carried out at immersion pH, *i.e.*, not imposed. It was close to 7 for all solutions except NaH_2PO_4, for which it was more acidic (5-6). Adsorption isotherms were obtained for 0.5M and 1M salt concentrations. A mixture of NaCl and $MgCl_2$ of a total concentration of 1 M was also used to obtain adsorption isotherms along the mixing line between those two salts. dGMP equilibrium concentrations ranged from 0 to 1.2 mM; the solid concentration of minerals was 4.15 g/L and 5.5 g/L for NAu2 and Pyr, respectively. Samples were triplicated for NAu2 and duplicated for Pyr. Positive blanks were systematically analyzed for each dGMP concentration without the presence of any mineral. UV

absorbance measurements were repeated four times for each sample; deionized water served as the reference for I_0.

Analytical method and UV data correction. Nucleic acids are optically active molecules that strongly absorb UV light at wavelengths around 260 nm. The concentration of dGMP was calculated from the UV absorption spectra of the samples measured on a Nanophotometer P-330 (Implen™). This spectrophotometer automatically calculates the nucleic acid concentration from the 260nm absorbance using Beer-Lambert's law and uses as a default parameter a constant molar extinction coefficient. This parameter is set so that 1 absorbance unit at 260 nm is equivalent to 37 µg of single-stranded DNA dissolved in 1 mL of pure water and measured in a 1-cm path cuvette. In this study, data were processed using a custom correction coefficient for dGMP to allow for proper quantification. The molar extinction coefficient of dGMP at neutral pH in pure water calculated by Cavaluzzi and Borer[39] was used to derive the specific correction factor that is applied for a measurement at 260 nm.

Small Angle X-ray Scattering experiments (SAXS). SAXS experiments were carried out on the Dutch Belgian beamline BM26B 'Dubble' at the ESRF (Grenoble, France) at an energy of 12 keV (*i.e.* wavelength 1 Å) and for a sample-to-detector distance of 3 meters. The q range thus available was $7.5\ 10^{-2}\ nm^{-1} < q < 5.6\ nm^{-1}$ where q is the wave vector $q = 4*\pi*\sin\theta/\lambda$. Samples were conditioned in cylindrical cells of 0.8mm thickness, with thin mica windows. Two-dimensional images were obtained on a Pilatus™ detector. Radial integration of the data provided (q,I) curves that were corrected for the signal of the solvent and empty cell. The final curves were plotted in absolute intensity (cm^{-1}) after calibration using a glassy carbon standard[40].

RESULTS AND DISCUSSION

Adsorption isotherms. Figures 1 and 2 show the corrected adsorption isotherms of dGMP in various salt solutions for nontronite and pyrophyllite, respectively. The amount of adsorbed nucleotides (in µmol/g of mineral) is displayed as a function of the equilibrium concentration of nucleotides in solution (Ceq in mmol/L). All raw adsorption isotherms but the ones obtained for NAu2 in NaH_2PO_4 solutions demonstrated positive adsorption signal. The data for the adsorption of dGMP in NaH_2PO_4 solution onto nontronite NAu2 initially displayed an apparent 'negative adsorption' up to a dGMP equilibrium concentration of ca. 0.5 mM (not shown here).

Since the amount of dGMP adsorbed is calculated as the difference between initial and equilibrium concentration in solution, this 'negative adsorption' taken at face may indicate that the mineral releases dGMP in the solution. A plot of the UV absorbance spectra of the anomalous samples showed that the observed change in spectral shape is actually due to the presence of other UV-absorbing species in solution after equilibration with the mineral in NaH_2PO_4 solution. Analysis of blanks confirmed that the dissolved salts did not have any intrinsic UV absorbance features but showed that the nontronite suspension produced a strong absorbance band from 200 nm to 400 nm (see **Suppl Figures S1 and S2**). Therefore anomalous negative adsorption signal is due to the contribution of fine nontronite particles to UV absorbance in the supernatant.

To correct these apparent 'negative' adsorption isotherms of dGMP onto nontronite in NaH_2PO_4 solutions, we carried out a systematic study of the background absorbance signal of nontronite Nau2 equilibrated with NaH_2PO_4 from 0.5 to 1 M (data not shown). Unfortunately, no systematic correlation could be found between the salt concentration and the absorbance intensity of the supernatant (at 260 nm or elsewhere). Instead, we assumed that at very low equilibrium concentration, effective adsorption of dGMP in NaH_2PO_4 solution is close to 0 as for the asymptotic adsorption curves of the other salts. The adsorption signal at very low equilibrium concentration corresponds to the UV-absorption of NAu2 in the supernatant and is considered as a constant background signal. It was then used as a constant correction coefficient and was subtracted to the adsorption data at every equilibrium concentration so that raw adsorption isotherms could be corrected.

In all cases except for $LaCl_3$ solutions, adsorption isotherms display asymptotic shapes, corresponding to the L-type isotherms of Giles et al. classification[41]. The amount of adsorbed dGMP steadily increases before reaching a plateau at high dGMP equilibrium concentration. For L-type isotherms, a Langmuir adsorption isotherm model was fitted to the data, and serve only as a qualitative comparison since our experimental system does not validate the hypotheses of the Langmuir model[42–44]. For isotherms in $LaCl_3$ solutions, adsorption increased exponentially with dGMP equilibrium concentration onto nontronite and linearly onto pyrophyllite. For some L-type adsorption isotherms, an increase in salt concentration might be associated with a small enhancement in the maximum adsorption of dGMP, as observed for $MgCl_2$ onto nontronite (**Figure 1B**) and NaCl onto pyrophyllite (**Figure 2A**). In other experiments, no significant difference is observed between adsorption isotherms obtained in 0.5 and 1 M salt solutions. This observation concurs with previous studies that showed that adsorption should reach its maximum value for salt concentrations well below 1 M[18,19].

However, these studies focused on oligomers of DNA or RNA, which solubility is low and very sensitive to salinity. Hence adsorption might be replaced by the precipitation of these large molecules at relatively low critical salt concentrations (around 10 mM salts). As far as we know, such a phenomenon has never been observed for the small and more soluble nucleotides, such as dGMP. The effect of salt concentration on adsorption appears negligible at high concentrations of NaCl, $MgCl_2$, $MgSO_4$ and $CaCl_2$. Nonetheless an enhancing effect is clearly visible on nontronite in NaH_2PO_4 solutions and on both minerals in $LaCl_3$ solutions. The adsorption of dGMP onto nontronite in 1M NaH_2PO_4 solution is clearly higher than in 0.5M NaH_2PO_4 solution, contrary to pyrophyllite. The adsorption of dGMP on both minerals in 0.5M $LaCl_3$ is higher than at 1 M at any equilibrium concentration of dGMP. We discuss hereafter this surprising result.

In presence of all salts but $LaCl_3$, adsorption isotherms display an L-shape with maximum adsorbed quantities of dGMP distinctively different onto nontronite and pyrophyllite. Although we cannot directly compare the adsorbed quantities between the two minerals since their reactive surface areas vary as a function of salinity, maximum adsorption is reached for different salts, $MgCl_2$ (25 µmol/g) and NaCl (60 µmol/mL) on nontronite and pyrophyllite, respectively. The order of adsorption capacity ($LaCl_3$ excluded) is NaCl > $MgCl_2$ > $MgSO_4$ > NaH_2PO_4 for Pyr and $MgCl_2$~$CaCl_2$ > $MgSO_4$ > NaCl > NaH_2PO_4 for NAu2. The affinity of adsorption at high energy, *i.e.* the slope of the isotherms at low equilibrium concentration of dGMP, follows the same order as the adsorption capacity of Pyr but not for NAu2 which displays the following order of adsorption affinity as $MgCl_2$~$CaCl_2$~NaCl > $MgSO_4$ > NaH_2PO_4.

It shows that for a given cation, a difference in the nature of the anion strongly impacts both the adsorption capacity and affinity of dGMP. Anions have a hindering effect on the adsorption of dGMP onto the studied minerals in the following order $H_2PO_4^-$ > SO_4^{2-} > Cl^-. Therefore, this effect cannot be directly related to anionic charge but is more likely due to a competition between the dissolved anions and dGMP molecules for the same chemical groups on the surface of both minerals. These groups are likely edge groups that are present on the lateral surface of both minerals, independent of their charge status. The strong inhibiting effect of $H_2PO_4^-$ anions on the adsorption of dGMP agrees well with the previous results that dGMP actually binds to the edge faces of nontronite and pyrophyllite through its phosphate group.

Contrasted effects of divalent cations are observed for the two minerals Pyr and NAu2. For experiment adding either 0.5 or 1 M salts, the presence of divalent cations significantly increases adsorption of dGMP onto nontronite compared to monovalent cations. The enhancing

effect is however limited in the experiment with pyrophyllite; instead, a slight decrease in adsorption capacity is observed when comparing $MgCl_2$ (**Figure 2B**) with NaCl (**Figure 2A**). Therefore, the dissolved divalent cations could either favor or inhibit dGMP adsorption relative to NaCl, probably due to complexation, which is discussed hereafter.

Complexation of dGMP with cations. Complexation of some functional groups of dGMP may occur, which in turn could affect its reactivity towards mineral surfaces according to two different mechanisms depending on the relative affinity of the mineral sites for dGMP or cations. On one hand, a cation-dGMP complex could cooperatively adsorb on surface sites that have less affinity for dGMP than for the cation. On the other hand complexation could inhibit adsorption if the cations and the surface sites compete for dGMP. In particular cations may interact with functional groups that have a high electron density or negatively charged residues[45]. Practically, it includes the phosphate moiety and both the O6 carbonyl group and N7 of the guanine nucleobase of dGMP.

Literature data suggest that Na^+, Mg^{2+} and Ca^{2+} mainly interact with the phosphate moiety[45–49]. More precisely, Na^+ cations do not bind specifically to nucleotides and screen charges *via* electrostatic interactions with very low affinity for the phosphate moiety. Alkaline earth metals, *i.e.* Mg^{2+} and Ca^{2+}, mainly interact indirectly with the phosphate as hydrated metals. A minor fraction of these cations may also form direct metal-PO_3 bonds. In addition, weak binding to the nucleobase can also occur depending on the cation:nucleotide ratio in solution[46].

Finally, lanthanum has been reported as being a strong chelating agent for nucleic acids and particularly for dGMP. La^{3+} binds directly or indirectly to the phosphate, O6 carbonyl and N7 of the guanine ring. La^{3+} in solution with dGMP can form polymeric multidentate complexes of the type $La_2(dGMP)_3.nH_2O$ that have a substantially lower solubility than free dGMP and a strong tendency to aggregate[50].

To assess the extent of complexation and aggregation of dGMP in the conditions used in our study, systematic UV spectrophotometry measurements were carried out as they can provide evidence for direct complexation of cations with dGMP[45]. Strong phosphate binding, direct or indirect nucleobase complexation would modify the UV absorbance spectrum. For a clear assessment of the potential effects, the curves presented in **Figure 3** display intensity differences between normalized UV absorbance spectra of dGMP in a given salt solution and NaCl 1 M, taken as a reference. For both low (**Figure 3A**) and high (**Figure 3B**) dGMP concentrations and independent of salt concentration, a strong peak is observed in the presence of $LaCl_3$. This confirms the formation of La-dGMP complexes in the solution and is certainly

related to the "anomalous" adsorption isotherms obtained for dGMP in $LaCl_3$. Therefore the latter curves are likely retention isotherms rather than adsorption isotherms, and correspond to the precipitation of lanthanum-dGMP complexes onto the surface of nontronite and pyrophyllite (**Figure 1F** and **Figure 2E**). Despite its intrinsic interest, this phenomenon requires high lanthanum concentrations that are clearly irrelevant to oceanic environments whether primitive or modern and will not be further investigated in the present study. For all the other salts no particular peak is observed on the UV spectra (**Figure 3**). Cation-dGMP complexation does not appear to explain the stronger adsorption observed for nontronite in the presence of divalent cations.

Coagulation of phyllosilicates under various saline conditions. In the case of swelling clays, understanding the adsorption behavior of dGMP also requires taking into account possible changes in particles organization due to the presence of salts. At low ionic strength, Na-nontronite forms dispersed lath-shaped platelets ca. 370 nm in length, and 93 nm in width in the suspension[12]. Upon salt addition, this organization is likely to be significantly altered through the formation of various stacked structures with a strong dependence on both the concentration and nature of the salts, as already demonstrated for Na-montmorillonite[37]. At high salt concentration, we could even observe microscopic coagulated entities of nontronite. Such phenomenon is obviously less important for non-swelling minerals such as pyrophyllite, in which layers are already stacked together by Van der Waals interactions between hydrophobic basal planes.

SAXS experiments were carried out to characterize the organization of platelets in the salt solutions. Such measurements provide statistically averaged information on particles ordering and curves are displayed in **Figures 4 -6**. The absolute scattered intensity (in cm^{-1}) is plotted against the scattering vector q (in nm^{-1}). **Figure 4** displays the SAXS curve of the reference suspension of nontronite in deionized water at a solid concentration of 13.6 g/L. The scattered intensity decreases as a function of q^{-2} and no correlation peak is observed, which is in good agreement with previous studies[37,51]. This observation indicates that the reference suspension is fully dispersed with individual bidimensional clay platelets isolated in water. **Figure 5** displays the SAXS curves obtained for nontronite suspensions at a solid concentration of 6.8 g/L, with a dGMP concentration of 1.4 mM and increasing concentrations of NaCl (**A**), NaH_2PO_4 (**B**), $MgCl_2$ (**C**), and $MgSO_4$ (**D**): 0.05 M (subscript 1), 0.1 M (subscript 2), 0.25 M (subscript 3) and 1 M (subscript 4). **Figure 5** reveals the major influence of cation valence. In the case of sodium salts, curves obtained for concentration below 0.25 M display a q^{-2} evolution

and a correlation peak at low angle. Its position depends on salinity; the higher the salinity the shorter the interlayer distance[a]. Such a behavior is typical of swelling clay minerals and was observed for montmorillonite as early as in 1954[52]. Further increase in sodium salts concentration leads to a drastic change in the SAXS curves. The slope at low q values strongly increases from -2.0 to values around -2.7 and a correlation peak corresponding to a distance around 1.9 nm appears at high q. Such an evolution concurs with previous results obtained on the coagulation of Na-Montmorillonite suspensions[37]. According to Scherrer's formula, the Full Width at Half Maximum (FWHM) of the correlation peak is inversely proportional to the coherent scattering domain (CSD), *i.e.* the size of the crystallite formed by the coherent stacking of individual platelets[53,54]. In solutions with 1 M of NaCl or $NaHPO_4$, the calculation yields CSDs corresponding to a stacking of ca. 9 and 6 platelets, respectively. This represents a thickness of 20 to 30 nm that is more than one order of magnitude smaller than the size of the observed micron-size coagulated entities. Accordingly, the shape of the SAXS curves at high Na concentration is interpreted as the result of suspended stacked particles that arrange into polydisperse heterogeneous porous units[37].

In presence of magnesium salts the curves are different and display already an elevated slope at low q values as well as a correlation peak located at distances around 2.0 nm even at concentrations of Mg^{2+} as low as 0.05 M. The stacks formed in the presence of magnesium salts only marginally depend on the concentration over the range investigated. This shows that divalent cations are strong coagulation agents and induce coagulation at much lower concentration than monovalent cations. This suggests that the coagulation of nontronite in natural environments will clearly be controlled by minor amount of divalent cations, such as Mg^{2+} and Ca^{2+}. In primitive Earth environments where waters were likely enriched in calcium and magnesium compared to modern seawater, swelling clays would almost always be coagulated.

A minor effect of the anion nature can also be observed by a detailed analysis of the correlation peak. The transition from chloride to either sulfate or phosphate leads to a broadening of the correlation peak located at high q values. This is likely due to an enhanced adsorption of these anions on the particle edges, which in turns slightly decrease the average size of the stacks. As expected the effect of phosphate is more significant than that of sulfate. As dGMP adsorbs onto nontronite through its phosphate group, we also investigated the effect of an increased concentration of dGMP. This was tested in several 1M salt solutions (**Figure 6**). The curves displayed in **Figures 6E to 6H** actually correspond to duplicate samples of **Figure 5 A4 to D4**, which shows the good reproducibility of the SAXS measurements. As already shown for such

a high salt concentration, all SAXS curves evolve as a power law with the slope varying between -2.6 and -3.1. The slopes depend on the nature of salt, in the order $MgCl_2$ > NaCl > $MgSO_4$ > NaH_2PO_4. Whatever the salt, higher dGMP concentrations lead to lower slopes and smaller CSDs. This suggests as already discussed above that the adsorption of dGMP on the edges of nontronite slightly changes the way elementary platelets organize into coherent stacks inside of porous heterogeneous aggregates.

Discussion on the adsorption mechanisms and implications for the origin of life. The present study reveals that for both a swelling (nontronite) and non-swelling (pyrophyllite) clay mineral, changing the nature and concentration of the salts in aqueous solution has a significant influence on dGMP adsorption. Although the influence of the anion is similar for the adsorption behaviors of the two minerals the effect of the cation is opposite. Compared to the effect of chlorine, sulfate and phosphate salts significantly decrease the adsorption of dGMP. In NaCl-rich solutions, previous studies have shown that dGMP mainly adsorbs on the edge faces of phyllosilicate sheets through its phosphate group that binds to the metal hydroxyls of the broken edges, forming outer-sphere or inner-sphere complexes[12–14]. This mechanism suggests that the decreased adsorption of dGMP in a phosphate-rich solution is due to a strong competitive effect between the free phosphate solute and the phosphate group of dGMP for the edge adsorption sites. If the similar competition process holds between the phosphate group of dGMP and the free sulfate solute, sulfate should also have an attenuated effect on adsorption and this agrees well with the actual observations on both the adsorption isotherms and SAXS curves (**Figures 1, 2, 5 and 6**). However, compared with phosphate, sulfate generally binds much weaker with the mineral surfaces and therefore should have a lower competition and attenuation effect on adsorption of dGMP. This hypothesis is consistent with our observations as well (**Figures 1 and 2**).

Adsorption isotherms show that divalent cations slightly reduce dGMP adsorption on pyrophyllite whereas enhance the adsorption on nontronite, in comparison with the adsorption experiment in NaCl solutions. The lower adsorption of dGMP onto pyrophyllite is likely due to the hydrophobic mineral surface since pyrophyllite does not bear any structural charge. Its basal surface has therefore a low reactivity towards adsorbing ionic species and broken edge sites are certainly the sole adsorption sites on pyrophyllite. The enhanced adsorption of dGMP onto nontronite necessarily requires complementary adsorption sites in the presence of Mg^{2+} and Ca^{2+} since the edge faces of pyrophyllite and nontronite are structurally similar. In the solution Mg^{2+} and Ca^{2+} probably form low affinity complexes with the phosphate group of dGMP. On

one hand this would reduce dGMP adsorption on edge sites through phosphate bonds since the surface reactivity of the phosphate group of dGMP would be hindered by the formation of the dGMP-M^{2+} complexes in solution (where M represents the divalent cation). On the other hand cations may mediate the adsorption of dGMP on the basal surface of nontronite that has a structural negative charge through the positively charged dGMP-M^{2+} complexes, *i.e.* through the formation of cationic bridges. This mechanism is commonly proposed for swelling clays in the literature[18–25]. Alternatively one may suggest that the enhanced adsorption could be due to changes in particles organization upon addition of divalent cations. However, SAXS experiments rule out this hypothesis since differences in particles organization between monovalent and divalent cation salts are rather small at high salt concentrations. Furthermore, the presence of divalent cations tends to increase the compacity of the structures formed by coagulation, which does not point toward enhanced adsorption of dGMP. Likewise, the enhanced adsorption of dGMP on the basal surface of nontronite through cationic bridges is also supported by the adsorption isotherms measured in solutions mixing NaCl and $MgCl_2$ (**Figure 7**). Addition of $MgCl_2$ increases the adsorption of dGMP mostly at high dGMP equilibrium concentration, *i.e.* on the relatively low energy sites, which correspond to the sites on the basal surfaces of nontronite. At low equilibrium concentration, which corresponds to the high energy sites of the broken edges of the mineral, the composition of the solution has virtually no effect on adsorption. $MgCl_2$ strongly promotes the adsorption of dGMP even at low concentration and saturation of basal sites is reached for 0.5 M $MgCl_2$ and corresponds to an increase in adsorption by 30%.

Furthermore, we provide some quantitative information on the hypothesized distribution of dGMP on the surface of both pyrophyllite and nontronite for an equilibrium adsorption of 1.2 mM using a simple model. (i) For pyrophyllite, assuming no adsorption occurs on basal faces and knowing the surface area of edge faces as determined by Low Pressure Argon Adsorption volumetry[13], we could retrieve the adsorption density of dGMP (**Table 2**). For nontronite, assuming that the amount of dGMP adsorbing on the edge surfaces as a function of salts is similar to the one on pyrophyllite, the remaining adsorbed molecules would necessarily be located on the basal surfaces of nontronite. (ii) We derived the relative amount amount of edge and basal surfaces from the known particle morphology and SAXS curves. (iii) Since adsorption occurs on stacks of particles, we used Scherrer's formula to calculate the size of the stacks and the amount of edge and basal faces in all the studied conditions (**Table 2**). This model confirms that a significant amount of dGMP is adsorbed on the basal faces of nontronite in the presence

of divalent cations (**Table 2**). Adsorbed density decreases from 1.2 to 0.5 molecules of dGMP per nm^2 on the edges surfaces of both minerals as a function of salts in the order NaCl > $MgCl_2$ > $MgSO_4$ > NaH_2PO_4. On nontronite, basal adsorption in presence of Mg salts is ca. 0.05-0.09 dGMP/nm^2 whereas it is close to 0 in presence of Na salts. This agrees well with SAXS curves and adsorption isotherms.

Finally, assuming that the adsorbed dGMP layer is 1 nm thick we calculated a local concentration on the surfaces of the minerals (**Table 3**). For an equilibrium concentration of dGMP of 1.2 mM, we calculated as a function of salt nature first order local concentrations of dGMP of 0.91 to 2.11 M and 0 to 0.14 M on the lateral and basal surface of nontronite particles, respectively. For pyrophyllite, the local concentration on the lateral surfaces varies from 0.85 to 1.94 M for the same dGMP equilibrium concentrations. These values correspond to a local enrichment relative to the equilibrium concentration in solution by a factor of 750 to 1750, and up to 100 on the lateral and basal surfaces of nontronite, respectively. Similarly, the local concentration factor on the lateral surface of pyrophyllite is close to 1600.

Figure 8 proposes a summary of the adsorption mechanisms as a function of the salinity of the solution with emphasis on the contrasted effects of anions and cations. The main adsorption mechanism of nucleotides onto phyllosilicates is ligand exchange, *i.e.* bonding of the phosphate group of the nucleotides with the metal hydroxyls of the lateral surfaces of phyllosilicates. When phosphate or sulfate anions are the dominant dissolved anionic species (**Figure 8A**), they can adsorb on the lateral surfaces of both nontronite and pyrophyllite and compete with dGMP for the metal hydroxyl adsorption sites of edge surfaces on both types of materials. This results in a decrease in dGMP adsorption. Ligand exchange is also reduced when divalent cations are present since their complexation with dGMP induces a competition with the metal hydroxyl sites of the lateral surfaces of both swelling and non-swelling phyllosilicates (**Figure 8B and 8C**). However, divalent cations allows for the adsorption of nucleotides onto swelling clays *via* a second mechanism. The presence of nucleotide-complexing cations favors adsorption by cationic bridging on the negatively charged basal surfaces of these minerals (**Figure 8B**).

The possible localization of adsorbates on both the lateral and basal surface of swelling clays allows for more adaptability of these minerals under natural conditions compared to non-swelling phyllosilicates. Moreover, although local concentration is not as efficient on basal surfaces as on lateral ones for swelling clay particles, basal specific surface area is at least an order of magnitude higher than the lateral one. This result would allow for a higher retention of nucleotides from a solution and in the natural primitive environment the low adsorption density on basal surface would be compensated by the very high availability of the basal surface. In the

hypothesis of an origin of life at hydrothermal vents, an altered rock would exhibit a highly porous network formed by swelling clay particles in contact with the primitive salty seawater. The interaction with such a solution rich in divalent cations would induce a massive depletion of the solution in nucleotides. The nucleotides would be retained on the basal surfaces of the swelling clays as complexes that might further interact and polymerize, or be protected from the harsh conditions encountered in the ocean. This retention phenomenon would be particularly effective in an Mg or Ca-rich ocean.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The present study shows that the surface area of swelling clay particles and the reactivity of nucleotides depend on the salinity and composition of the solution. In brines the size, shape and interlayer distance of clay particles are significantly altered and particles are coagulated. In presence of divalent cations these processes occur even at very low concentration as coagulation is already observed at concentrations as low as 0.05 M of $MgCl_2$ or $MgSO_4$ for instance.
Nucleotides are adsorbed on the edge faces of non-swelling phyllosilicates in NaCl solutions. Any change in salinity, including the addition of divalent cations or molecular anions hinders this adsorption mechanism. The same holds true for swelling clays. Furthermore, the negatively charged basal surfaces of the swelling particles can adsorb nucleotides through cationic bridges. The present results show that the system is very sensitive to the presence of divalent cations, even in small amount. The adsorption of nucleotides on both the lateral and basal surfaces of swelling clays allows for a higher retention of nucleotides from a solution. In the context of the origin of life, these cations would certainly control the adsorption of nucleotides, as they are certainly present, if not abundant at hydrothermal vents. As the primitive ocean might have been enriched in divalent cations such as Mg^{2+} or Ca^{2+}, nucleotides could have been massively retained on the largely available basal surfaces of swelling clays formed in porous hydrothermally altered oceanic rocks. This adsorption mechanism may be more favorable to the polymerization of nucleotides than ligand exchange and could have helped for the preservation and further complexification of these building blocks of life. A better understanding of the salinity of the primitive ocean is thus mandatory for a better prediction of the capacity for porous oceanic rocks to retain prebiotic building blocks from a circulating hydrothermal fluid.

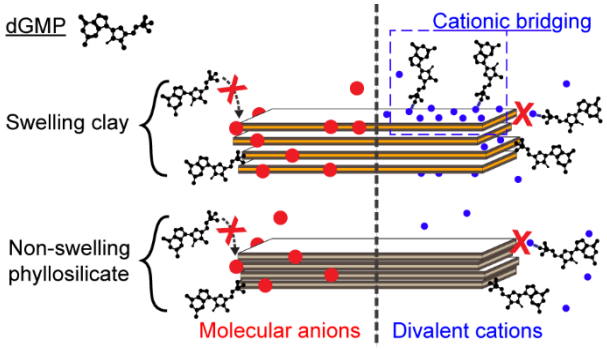
Acknowledgements: This work was supported by the ANR grant ANR2015-CE31-0010 PREBIOM. The authors wish to thank the ESRF for the provision of beamtime on beamline BM26B. Yasine Sakhawoth is acknowledged for his help in performing the SAXS experiments. The authors are grateful to Jihua Hao for useful comments on the manuscript.

Supporting Information. Figures S1 and S2 are available as supporting information online. They are showing the UV absorbance spectra of pure water and supernatants of NAu2 and Pyr equilibrated in pure water, 0.5 M or 1 M salt solutions.

Footnotes

[a] The distance corresponding to this peak was determined by plotting q^2*I as a function of q. In such a representation, the position of the peak can be easily determined and the corresponding distance calculated as $2*\pi/q$

Table of Content / Graphical Abstract



FIGURES

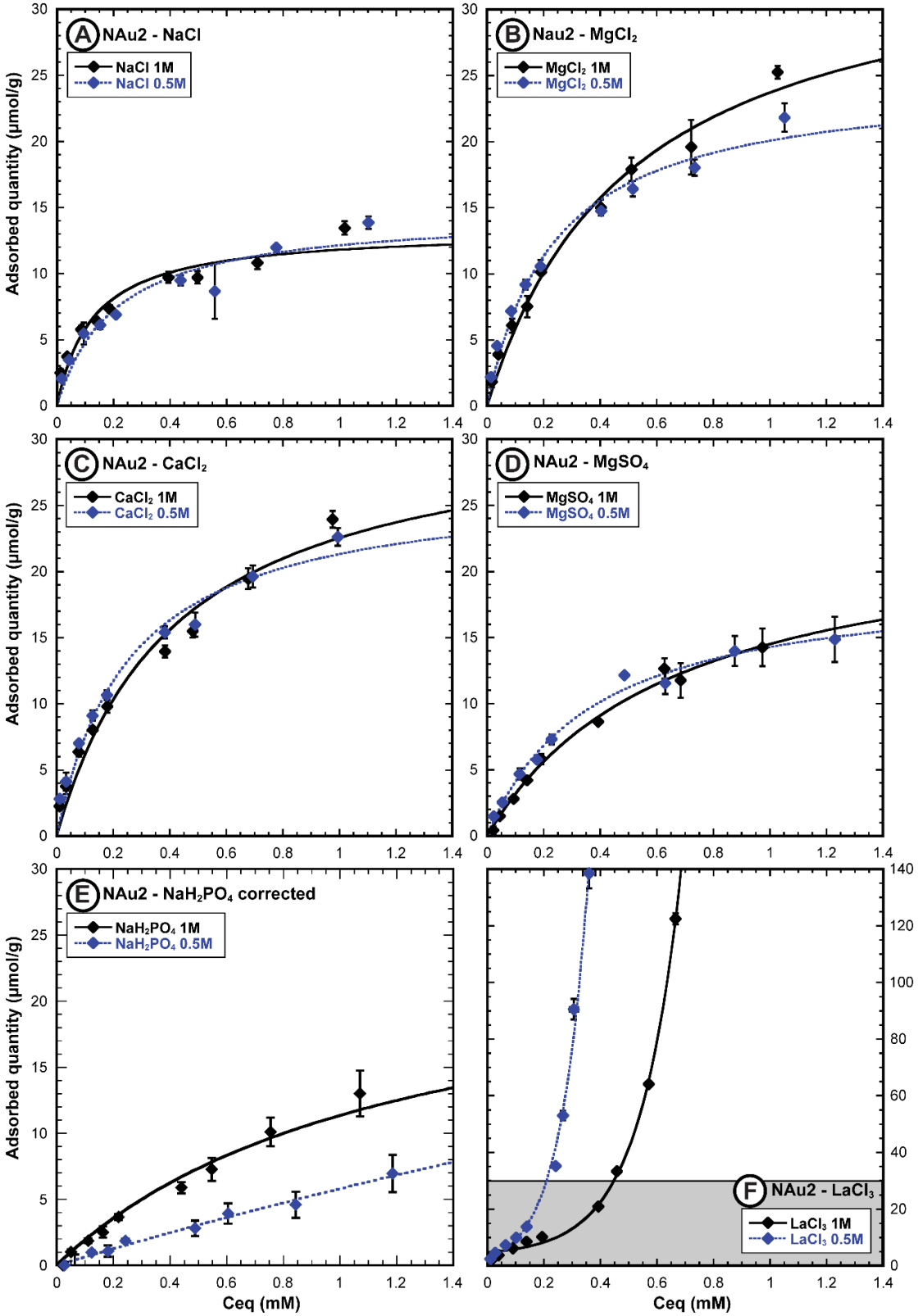


Figure 1: Adsorption isotherms of dGMP onto the nontronite NAu2 for various salt solutions at 1 and 0.5 M, plotted as a black solid line and a blue dashed line, respectively. A) NaCl, B) $MgCl_2$, C) $CaCl_2$, D) $MgSO_4$, E) NaH_2PO_4, F) $LaCl_3$. Note that the scale of the adsorbed amount of dGMP is different for F (LaCl3). The grey area in F represents the scale of adsorption for other salts.

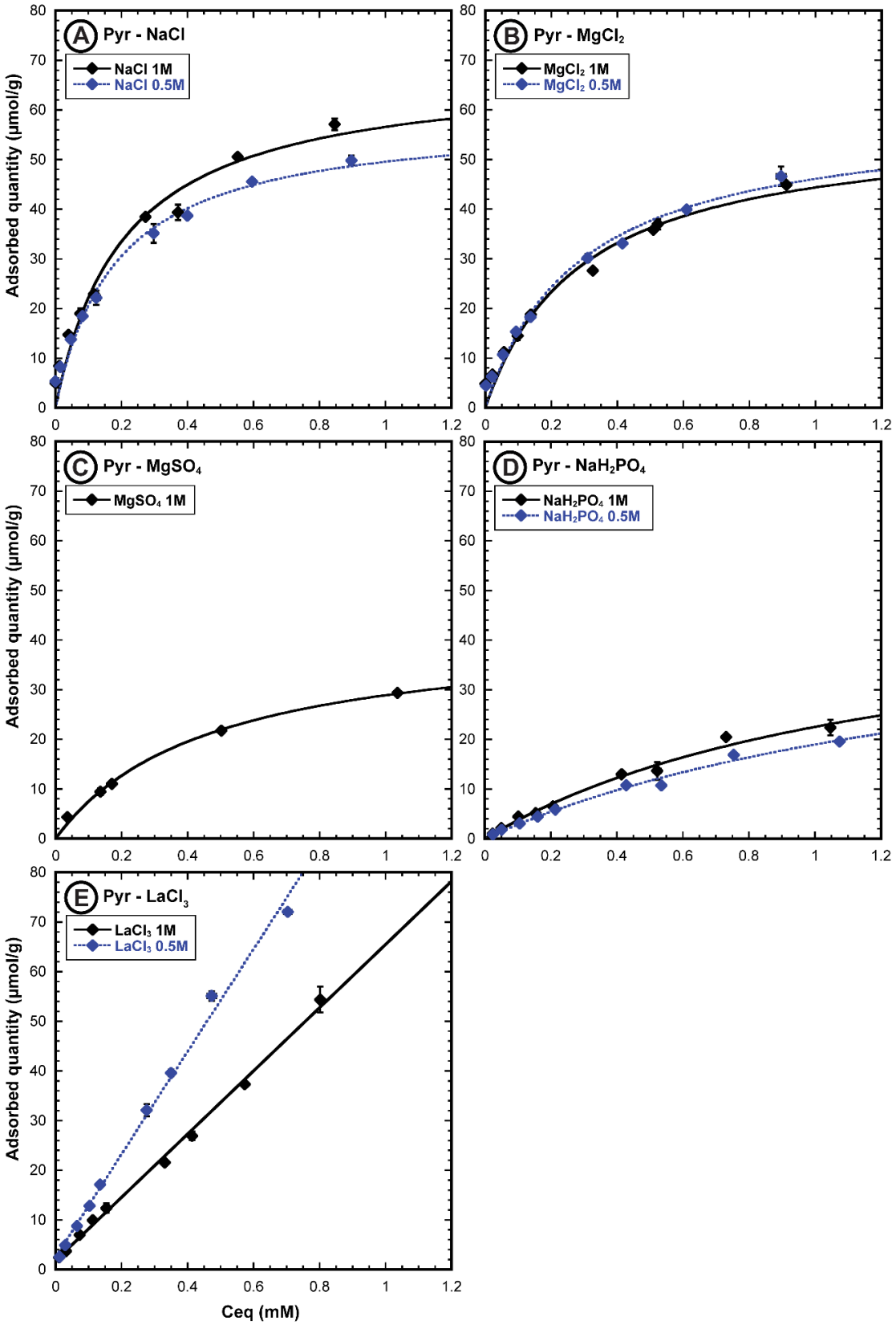


Figure 2: Adsorption isotherms of dGMP onto the pyrophyllite Pyr for various salt solutions at 1 and 0.5 M, plotted as a black solid line and a blue dashed line, respectively. A) NaCl, B) $MgCl_2$, C) $MgSO_4$, D) NaH_2PO_4, E) $LaCl_3$.

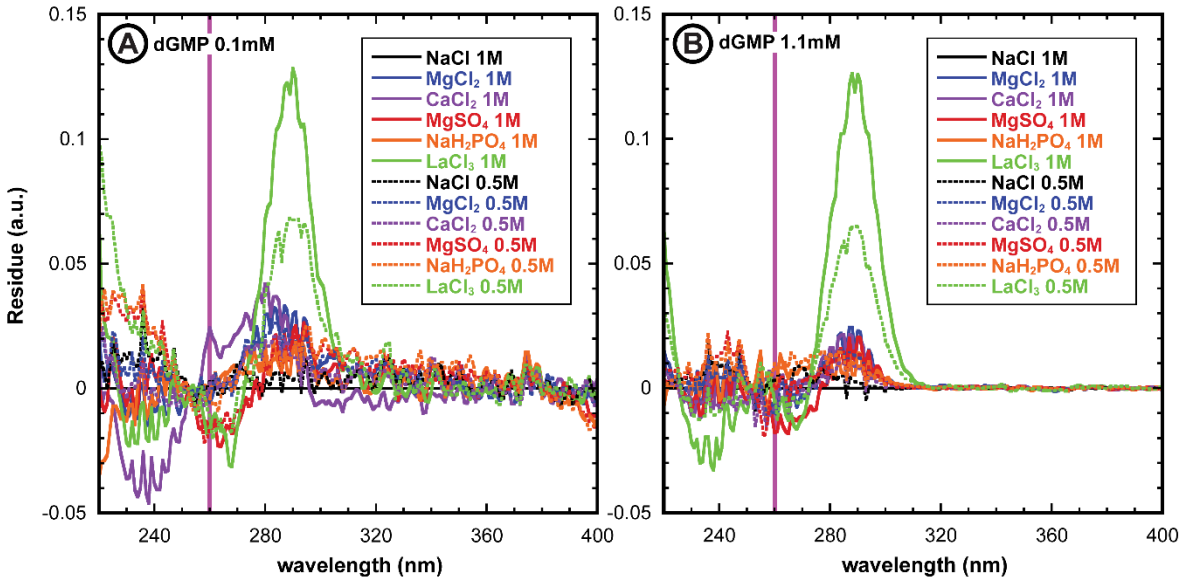


Figure 3: UV absorbance spectra residues of dGMP in various salt solutions. Reference spectrum for residue calculation was chosen to be dGMP in NaCl 1M. A) dGMP concentration 0.1 mM; B) dGMP concentration 1.1 mM. Solid lines represent 1 M salt solutions and dashed lines represent 0.5 M salt solutions.

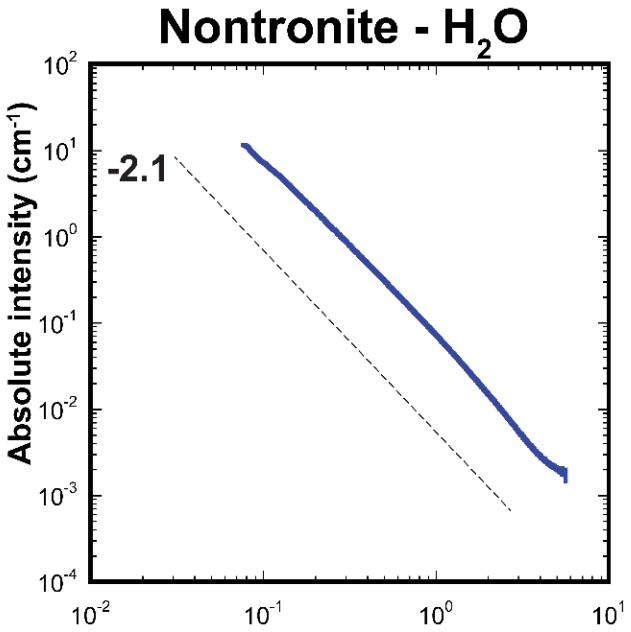


Figure 4: Evolution of the absolute X-ray scattered intensity as a function of the scattering vector for the nontronite NAu2 at a solid concentration of 13.6 g/L in pure water.

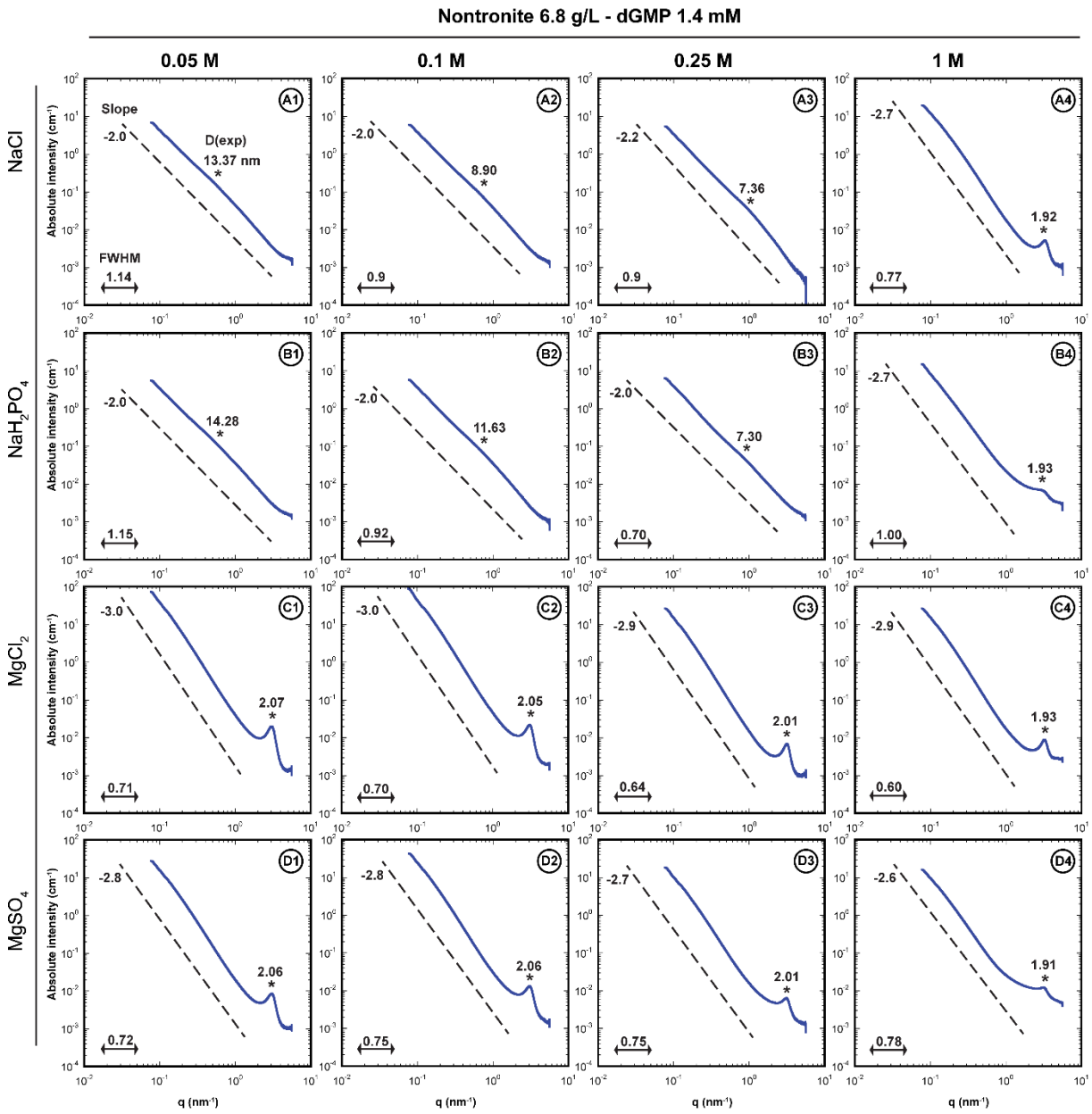


Figure 5: Evolution of the absolute X-ray scattered intensity as a function of the scattering vector for the nontronite NAu2 at a solid concentration of 6.8 g/L and for a constant 1.4 mM dGMP concentration. SAXS curves were obtained in various salt solutions: A) NaCl; B) NaH_2PO_4; C) $MgCl_2$; D) $MgSO_4$; and for several salt concentrations: 1) 0.05 M; 2) 0.1 M; 3) 0.25 M; 4) 1 M. Slope, correlation peak center (in nm) and full width at half-maximum (FWHM, in nm^{-1}) are noted when applicable.

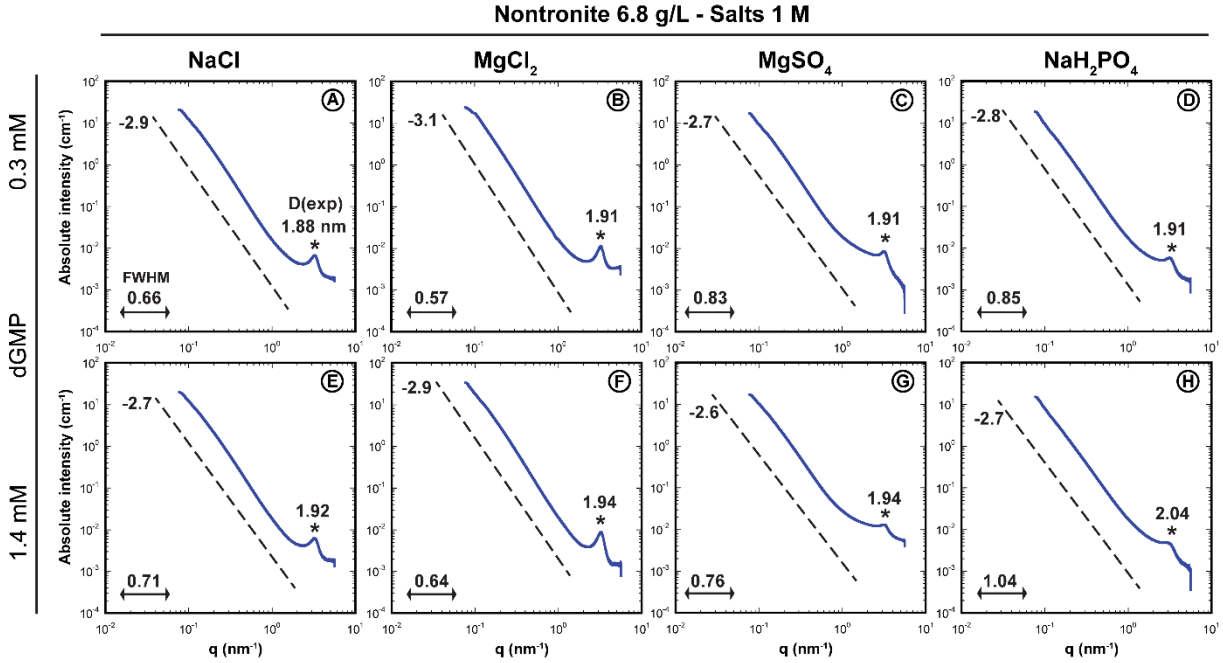


Figure 6: Evolution of the absolute scattered intensity as a function of the scattering vector for the nontronite NAu2 at a solid concentration of 6.8 g/L and for two dGMP concentrations in several 1 M salt solutions. A) dGMP 0.3 mM and NaCl 1M; B) dGMP 0.3 mM and $MgCl_2$ 1M; C) dGMP 0.3 mM and $MgSO_4$ 1M; D) dGMP 0.3 mM and NaH_2PO_4 1M; E) dGMP 1.4 mM and NaCl 1M; F) dGMP 1.4 mM and $MgCl_2$ 1M; G) dGMP 1.4 mM and $MgSO_4$ 1M; H) dGMP 1.4 mM and NaH_2PO_4 1M. Values of the slope, correlation peak center (in nm) and full width at half-maximum (FWHM, in nm^{-1}) are given when applicable.

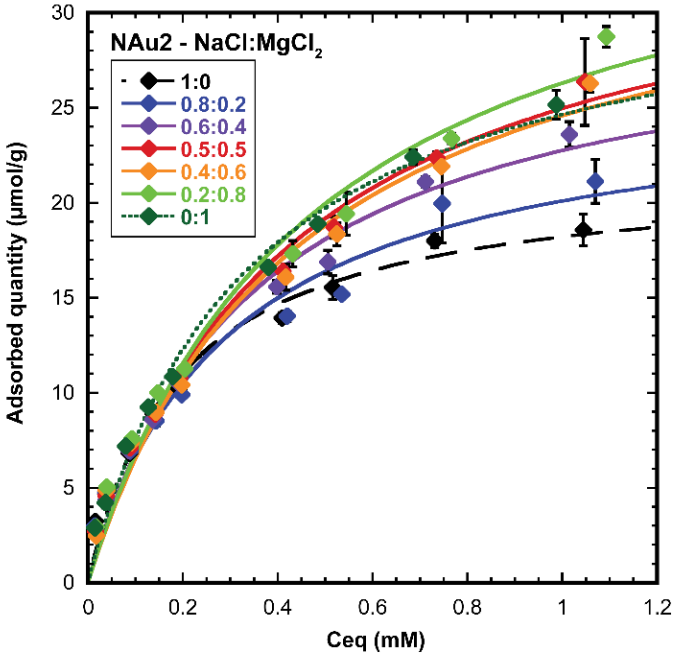


Figure 7: Adsorption isotherms of dGMP onto NAu2 in various mixtures of NaCl and $MgCl_2$. Molar proportions of NaCl and $MgCl_2$ are indicated on the plot for a total concentration of 1 M.

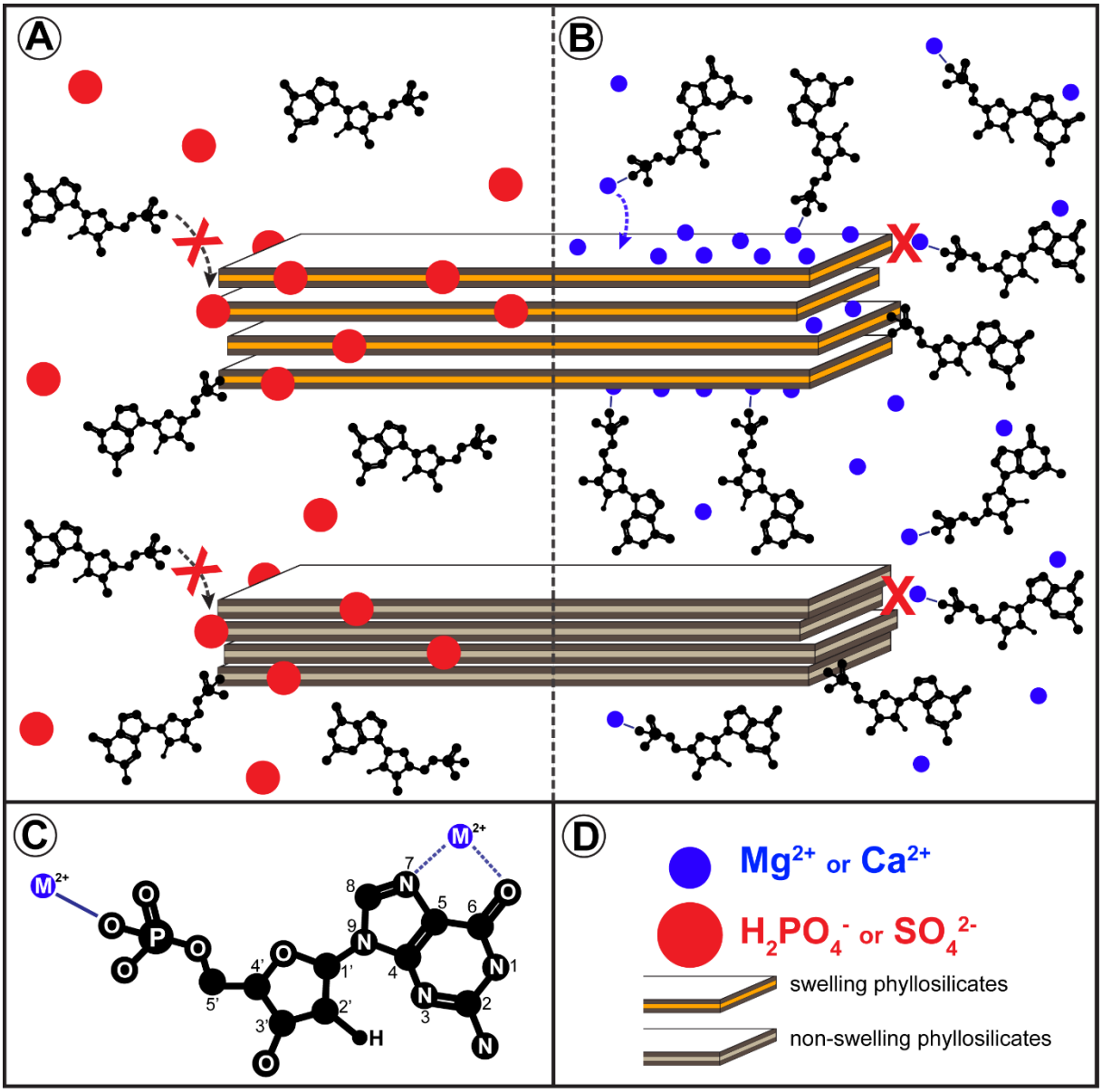


Figure 8: Sketch of the proposed adsorption mechanisms of dGMP on swelling and non-swelling phyllosilicates. A) Adsorption of dGMP onto swelling and non-swelling phyllosilicates under high molecular anions concentrations. B) Adsorption of dGMP onto swelling and non-swelling phyllosilicates under high divalent cations concentrations. C) dGMP molecule and numbering of its atoms. Blue solid line show the main metal-dGMP complexation whereas dashed lines show the other possible complex. D) Color codes. Divalent cations are represented in blue and molecular anions in red. Swelling TOT layers are represented with an orange octahedral layer whereas non-swelling ones with a grey octahedral layer.

TABLES

Table 1. Summary of the physical and chemical properties of the two minerals and nucleotide used in this study.

	Nontronite	Pyrophyllite
Abr.	NAu2	Pyr
Structural formula	$(Si_{7.55}Al_{0.16}Fe_{0.29})(Al_{0.34}Fe_{3.54}Mg_{0.05})O_{20}(OH)_4Na_{0.72}$	$Al_2Si_4O_{10}(OH)_2$
Type	2:1 (TOT)	2:1 (TOT)
CEC[a] (meq/100g)	89	5.4
IEP/PZC[b]	none	2.5
Total Surface Area (m^2/g)	180	93.6
Edge Surface Area (m^2/g)	9	29.8

	dGMP			
Solubility (mM)	7.8			
F_{corr}[c]	0.77			
pKa of site (S)	2.9 (N7)	9.7 (N1)	<1 (H_2PO_4)	6.3 (HPO_4^-)

[a] Cationic Exchange Capacity

[b] Isoelectric Point or Point of Zero Charge

[c] F_{corr} is the correction factor used for quantitative analysis of the absorbance values measured on the Nanophotometer P33 (Implen™)

Table 2. Amount and density of dGMP adsorbed on pyrophyllite and nontronite for an equilibrium concentration of dGMP of 1.2 mM and salt concentration of 1 M. Stack size and related basal surface area are calculated as a function of salts for nontronite particles.

	Adsorbed dGMP at 1.2 mM (µmol/g)	ESA[a] ($m^2.g^{-1}$)	Stack size (nm)	BSA[b] ($m^2.g^{-1}$)	Adsorption density at 1.2 mM (dGMP/nm^2)	
					Edge faces	Basal faces
Pyr*						
NaCl	58	29.8	—	—	1.17	—
$MgCl_2$	48	29.8	—	—	0.96	—
$MgSO_4$	31	29.8	—	—	0.62	—
NaH_2PO_4	25	29.8	—	—	0.51	—
NAu2°						
NaCl	19	9	15.1	78	1.27	0
$MgCl_2$	24	9	18.1	58	1.05	0.086
$MgSO_4$	17	9	15	78	0.68	0.053
NaH_2PO_4	11	9	11	130	0.55	0.013

[a] ESA = Edge specific Surface Area
[b] BSA = Basal specific Surface Area
* assuming that adsorption occurs only on edge surfaces
° for a given salt, dGMP adsorbs on edge faces of the nontronite in the same proportions as on pyrophyllite. The remaining adsorbed dGMP is located on basal surfaces.

Table 3. Local concentration in the adsorbed layers on edge and basal faces of pyrophyllite and nontronite for a 1nm-thick adsorbed layer at a salt concentration of 1 M.

	local concentration in the adsorbed layer (M)			
	Edge faces Pyr	Basal faces Pyr	Edge faces NAu2	Basal faces NAu2
NaCl	1.94	0	2.11	0
$MgCl_2$	1.59	0	1.74	0.14
$MgSO_4$	1.03	0	1.13	0.09
NaH_2PO_4	0.85	0	0.91	0.02

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Figure S1. UV absorbance spectra of pure water and supernatants of NAu2 and Pyr equilibrated in pure water or 1 M salt solutions. The orange error bars correspond to the reproducibility error of the Nanophotometer P-330. A) Pure water spectra; B) NaCl; C) $MgCl_2$; D) $MgSO_4$; E) $LaCl_3$; F) NaH_2PO_4. The grey area in F represents the scale of absorbance for the supernatants in the other salts.

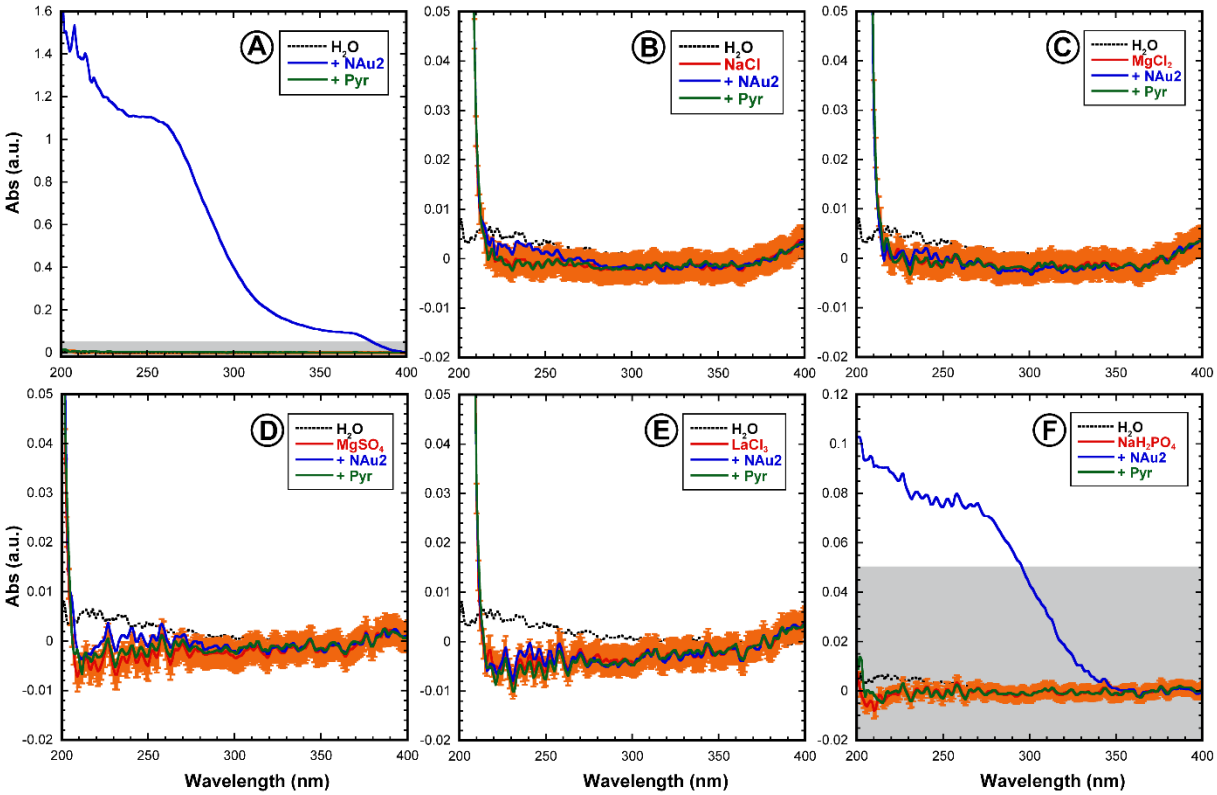
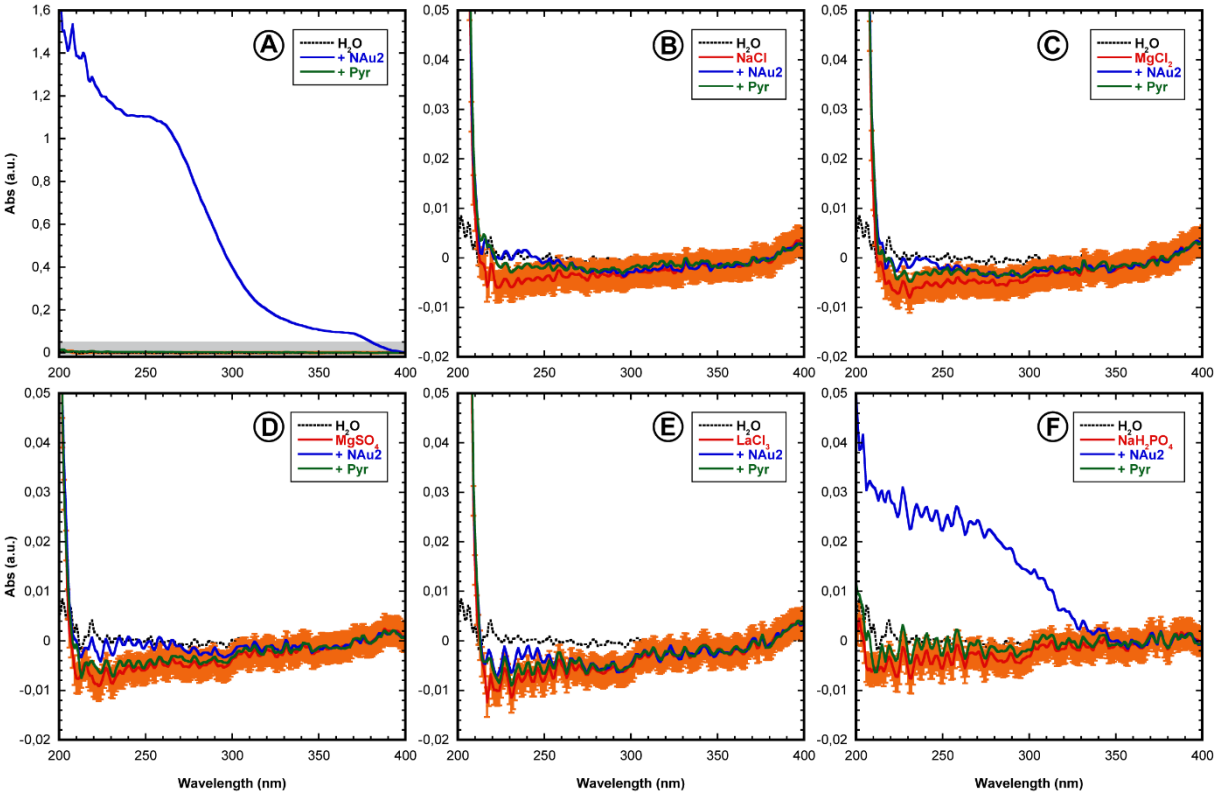


Figure S2. UV absorbance spectra of pure water and supernatants of NAu2 and Pyr equilibrated in pure water or 0.5 M salt solutions. The orange error bars correspond to the reproducibility error of the Nanophotometer P-330. A) Pure water spectra; B) NaCl; C) $MgCl_2$; D) $MgSO_4$; E) $LaCl_3$; F) NaH_2PO_4. The grey area in F represents the scale of absorbance for the supernatants in the other salts.



REFERENCES

(1) Bernal, J. D. The Physical Basis of Life. *Proc. Phys. Soc. Sect. B* **1949**, *62*, 598–618.

(2) Lahav, N.; Chang, S. The Possible Role of Solid Surface Area in Condensation Reactions during Chemical Evolution : Reevaluation. *J. Mol. Evol.* **1976**, *8*, 357–380.

(3) Cody, G. D.; Boctor, N. Z.; Hazen, R. M.; Brandes, J. A.; Morowitz, H. J.; Yoder Jr, H. S. Geochemical Roots of Autotrophic Carbon Fixation: Hydrothermal Experiments in the System Citric Acid, H_2O-(±FeS)−(±NiS). *Geochim. Cosmochim. Acta* **2001**, *65*, 3557–3576.

(4) Corliss, J. B.; Baross, J. A.; Hoffman, S. E. An Hypothesis Concerning the Relationship between Submarine Hot Springs and the Origin of Life on Earth. *Ocean. Acta* **1981**, *4*, 59–69.

(5) Russell, M. J.; Hall, A. J. The Emergence of Life from Iron Monosulphide Bubbles at a Submarine Hydrothermal Redox and pH Front. *J. Geol. Soc. London.* **1997**, *154*, 377–402.

(6) Shock, E. L. Geochemical Constraints on the Origin of Organic Compounds in Hydrothermal Systems. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1990**, *20*, 331–367.

(7) Wächtershäuser, G. Pyrite Formation, the First Energy Source for Life: A Hypothesis. *Syst. Appl. Microbiol.* **1988**, *10*, 207–210.

(8) Pons, M.-L.; Quitté, G.; Fujii, T.; Rosing, M. T.; Reynard, B.; Moynier, F.; Douchet, C.; Albarède, F. Early Archean Serpentine Mud Volcanoes at Isua, Greenland, as a Niche for Early Life. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108*, 17639–17643.

(9) Rao, M.; Odom, D. G.; Oro, J. Clays in Prebiological Chemistry. *J. Mol. Evol.* **1980**, *15*, 317–331.

(10) Meunier, A.; Petit, S.; Cockell, C. S.; El Albani, A.; Beaufort, D. The Fe-Rich Clay Microsystems in Basalt-Komatiite Lavas: Importance of Fe-Smectites for Pre-Biotic Molecule Catalysis during the Hadean Eon. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2010**, *40*, 253–272.

(11) Meunier, A. Why Are Clay Minerals Small? *Clay Miner.* **2006**, *41*, 551–566.

(12) Feuillie, C.; Daniel, I.; Michot, L. J.; Pedreira-Segade, U. Adsorption of Nucleotides onto Fe–Mg–Al Rich Swelling Clays. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2013**, *120*, 97–108.

(13) Pedreira-Segade, U.; Feuillie, C.; Pelletier, M.; Michot, L. J.; Daniel, I. Adsorption of Nucleotides onto Ferromagnesian Phyllosilicates: Significance for the Origin of Life. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2016**, *176*, 81–95.

(14) Feuillie, C.; Sverjensky, D. A.; Hazen, R. M. Attachment of Ribonucleotides on Alpha-Alumina as a Function of pH, Ionic Strength , and Surface Loading. *Langmuir* **2015**, *31*, 240–248.

(15) Banin, A.; Lawless, J. G.; Mazzurco, J.; Churche, F. M.; Margulies, L.; Orenberg, J. B. pH Profile of the Adsorption of Nucleotides onto Montmorillonite. *Orig. Life* **1985**, *15*, 89–101.

(16) Cai, P.; Huang, Q.; Li, M.; Liang, W. Binding and Degradation of DNA on Montmorillonite Coated by Hydroxyl Aluminum Species. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **2008**, *62*, 299–306.

(17) Franchi, M.; Bramanti, E.; Bonzi, L. M.; Orioli, P. L.; Vettori, C.; Gallori, E. Clay-Nucleic Acid Complexes: Characteristics and Implications for the Preservation of Genetic Material in Primeval Habitats. *Orig. life Evol. Biosph.* **1999**, *29*, 297–315.

(18) Franchi, M.; Ferris, J. P.; Gallori, E. Cations as Mediators of the Adsorption of Nucleic Acids on Clay Surfaces in Prebiotic Environments. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2003**, *33*, 1–16.

(19) Lorenz, M. G.; Wackernagel, W. Adsorption of DNA to Sand and Variable Degradation Rates of Adsorbed DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **1987**, *53*, 2948–2952.

(20) Swadling, J. B.; Suter, J. L.; Greenwell, H. C.; Coveney, P. V. Influence of Surface Chemistry and Charge on Mineral-RNA Interactions. *Langmuir* **2013**, *29*, 1573–1583.

(21) Zhang, X.; Wang, F.; Liu, B.; Kelly, E. Y.; Servos, M. R.; Liu, J. Adsorption of DNA Oligonucleotides by Titanium Dioxide Nanoparticles. *Langmuir* **2014**, *30*, 839–845.

(22) Swadling, J. B.; Coveney, P. V; Greenwell, H. C. Clay Minerals Mediate Folding and Regioselective Interactions of RNA: A Large-Scale Atomistic Simulation Study. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 13750–13764.

(23) Ferris, J. P.; Ertem, G.; Agarwal, V. K. The Adsorption of Nucleotides and Polynucleotides on Montmorillonite Clay. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1989**, *19*, 153–164.

(24) Yu, W. H.; Li, N.; Tong, D. S.; Zhou, C. H.; Lin, C. X. (Cynthia); Xu, C. Y. Adsorption of Proteins and Nucleic Acids on Clay Minerals and Their Interactions: A Review. *Appl. Clay Sci.* **2013**, *80–81*, 443–452.

(25) Pietramellara, G.; Ascher, J.; Borgogni, F.; Ceccherini, M. T.; Guerri, G.; Nannipieri, P. Extracellular DNA in Soil and Sediment: Fate and Ecological Relevance. *Biol. Fertil. Soils* **2009**, *45*, 219–235.

(26) Knauth, L. P. Salinity History of the Earth's Early Ocean. *Nature* **1998**, *395*, 554–555.

(27) Knauth, L. Temperature and Salinity History of the Precambrian Ocean: Implications for the Course of Microbial Evolution. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* **2005**, *219*, 53–69.

(28) Pinti, D. L. The Origin and Evolution of the Oceans. In *Lectures in Astrobiology*. Gargaud, M., Barbier, B., Martin, H., Reisse, J., Eds.; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, **2005**; I, pp 83–112.

(29) Saito, T.; Shibuya, T.; Komiya, T.; Kitajima, K.; Yamamoto, S.; Nishizawa, M.; Ueno, Y.; Kurosawa, M.; Maruyama, S. PIXE and Microthermometric Analyses of Fluid Inclusions in Hydrothermal Quartz from the 2.2 Ga Ongeluk Formation, South Africa: Implications for Ancient Seawater Salinity. *Precambrian Res.* **2016**, *286*, 337–351.

(30) Izawa, M. R. M.; Nesbitt, H. W.; MacRae, N. D.; Hoffman, E. L. Composition and Evolution of the Early Oceans: Evidence from the Tagish Lake Meteorite. *Earth Planet. Sci. Lett.* **2010**, *298* , 443–449.

(31) Lécuyer, C. Seawater Residence Times of Some Elements of Geochemical Interest and the Salinity of the Oceans. *Bull. Soc. Géol. Fr.* **2016**, *187*, 245–259.

(32) Osterloo, M. M.; Hamilton, V. E.; Bandfield, J. L.; Glotch, T. D.; Baldridge, A. M.; Christensen, P. R.; Tornabene, L. L.; Anderson, F. S. Chloride-Bearing Materials in the Southern Highlands of Mars. Science. **2008**, 319, 1651–1654.

(33) Eiler, J. M.; Kitchen, N.; Leshin, L.; Strausberg, M. Hosts of Hydrogen in Allan Hills 84001: Evidence for Hydrous Martian Salts in the Oldest Martian Meteorite? *Meteorit. Planet. Sci.* **2002**, *37*, 395–405.

(34) Clark, B. C.; Van Hart, D. C. The Salts of Mars. *Icarus* **1981**, *45*, 370–378.

(35) Vaniman, D. T.; Bish, D. L.; Chipera, S. J.; Fialips, C. I.; William Carey, J.; Feldman, W. C. Magnesium Sulphate Salts and the History of Water on Mars. *Nature* **2004**, *431*, 663–665.

(36) Michot, L. J.; Bihannic, I.; Maddi, S.; Baravian, C.; Levitz, P.; Davidson, P. Sol/Gel and Isotropic/Nematic Transitions in Aqueous Suspensions of Natural Nontronite Clay . Influence of Particle Anisotropy. 1. Features of the I/N Transition. *Langmuir* **2008**, *24*, 3127–3139.

(37) Michot, L. J.; Bihannic, I.; Thomas, F.; Lartiges, B. S.; Waldvogel, Y.; Caillet, C.; Thieme, J.; Funari, S. S.; Levitz, P. Coagulation of Na-Montmorillonite by Inorganic Cations at Neutral pH. A Combined Transmission X-Ray Microscopy, Small Angle and Wide Angle X-Ray Scattering Study. *Langmuir* **2013**, *29*, 3500–3510.

(38) Michot, L. J.; Villiéras, F. Assessment of Surface Energetic Heterogeneity of Synthetic Na-Saponites. The Role of Layer Charge. *Clay Miner.* **2002**, *37*, 39–57.

(39) Cavaluzzi, M. J.; Borer, P. N. Revised UV Extinction Coefficients for Nucleoside-5'-monophosphates and Unpaired DNA and RNA. *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, e13.

(40) Zhang, F.; Ilavsky, J.; Long, G. G.; Quintana, J. P. G.; Allen, A. J.; Jemian, P. R. Glassy Carbon as an Absolute Intensity Calibration Standard for Small-Angle Scattering. *Metall. Mater. Trans. A* **2010**, *41*, 1151–1158.

(41) Giles, C. H.; MacEwan, T. H.; Nakhwa, S. N.; Smith, D. 786. Studies in Adsorption. Part XI. A System of Classification of Solution Adsorption Isotherms, and Its Use in Diagnosis of Adsorption mechanisms and in Measurement of Specific Surface Areas of Solids. *J. Chem. Soc.* **1960**, 3973–3993.

(42) Foo, K. Y.; Hameed, B. H. Insights into the Modeling of Adsorption Isotherm Systems. *Chem. Eng. J.* **2010**, *156*, 2–10.

(43) Langmuir, I. The Constitution and Fundamental Properties of Solids and Liquids. Part I. Solids. *J. Am. Chem. Soc.* **1916**, *38*, 2221–2295.

(44) Langmuir, I. The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum. *J. Am. Chem. Soc.* **1918**, *40*, 1361–1403.

(45) Sissoëff, I.; Grisvard, J.; Guillé, E. Studies on Metal Ions-DNA Interactions: Specific Behaviour of Reiterative DNA Sequences. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1978**, *31*, 165–199.

(46) Andrushchenko, V.; Bouř, P. Infrared Absorption Detection of Metal Ion-Deoxyguanosine Monophosphate Binding: Experimental and Theoretical Study. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 283–291.

(47) Duguid, J.; Bloomfield, V. A.; Benevides, J.; Thomas, G. J. Raman Spectroscopy of DNA-Metal Complexes. I. Interactions and Conformational Effects of the Divalent Cations: Mg, Ca, Sr, Ba, Mn, Co, Ni, Cu, Pd, and Cd. *Biophys. J.* **1993**, *65*, 1916–1928.

(48) Langlais, M.; Tajmir-Riahi, H. A.; Savoie, R. Raman Spectroscopic Study of the Effects of Ca^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}, and Cd^{2+} Ions on Calf Thymus DNA: Binding Sites and Conformational Changes. *Biopolymers* **1990**, *30*, 743–752.

(49) Ahmad, R.; Arakawa, H.; Tajmir-Riahi, H. A. A Comparative Study of DNA Complexation with Mg(II) and Ca(II) in Aqueous Solution: Major and Minor Grooves Bindings. *Biophys. J.* **2003**, *84*, 2460–2466.

(50) Tajmir-Riahi, H. A. Interaction of La (III) and Tb (III) Ions with Purine Nucleotides: Evidence for Metal Chelation (N-7-M-PO_3) and the Effect of Macrochelate Formation on the Nucleotide Sugar Conformation. *Biopolymers* **1991**, *31*, 1065–1075.

(51) Paineau, E.; Bihannic, I.; Baravian, C.; Philippe, A. M.; Davidson, P.; Levitz, P.; Funari, S. S.; Rochas, C.; Michot, L. J. Aqueous Suspensions of Natural Swelling Clay Minerals. 1. Structure and Electrostatic Interactions. *Langmuir* **2011**, *27*, 5562–5573.

(52) Norrish, K. The Swelling of Montmorillonite. *Discuss. Faraday Soc.* **1954**, *18*, 120–134.

(53) Patterson, A. L. The Scherrer Formula for X-Ray Particle Size Determination. *Phys. Rev.* **1939**, *56*, 978.

(54) Scherrer, P. Bestimmung Der Inneren Struktur Und Der Größe von Kolloidteilchen Mittels Röntgenstrahlen. In *Kolloidchemie Ein Lehrbuch*; Springer, 1912; pp 387–409.

PARTIE 5 - POLYMERISATION

Polymérisation spontanée de la glycine en conditions hydrothermales

Polymérisation spontanée de la glycine en conditions hydrothermales

En préparation pour Proceedings of the National Academy of Science

Résumé

La polymérisation abiotique des nucléotides et des acides aminés est un prérequis à l'émergence du vivant. Il a été proposé que les conditions hydrothermales puissent favoriser la polymérisation des acides aminés en particulier. Cependant, de nombreuses contradictions entre les études antérieures ont empêché d'établir une synthèse des conditions permettant la polymérisation des acides aminés sur la Terre primitive. Dans cette étude, nous avons mené une analyse *in situ* en cellule à enclumes de diamants du devenir de la glycine, l'acide aminé le plus simple et le plus abondant, dans des conditions hydrothermales à 200°C et pour des pressions allant de 50 à 3500 MPa. Nous avons également étudié l'effet de la présence de magnétite afin de comprendre l'effet de l'interface minéral-eau sur la réactivité de la glycine en solution. Cet examen *in situ* a livré de nouveaux résultats sur les effets de la pression, la stabilité thermique de ce système chimique, la stabilité de produits à la trempe et les effets des interactions eau-roche. Nous avons observé que la polymérisation de la glycine est favorisée à haute pression et en présence de magnétite. Le dimère linéaire est produit en plus grande quantité que le dimère cyclique jusqu'à une pression seuil de 500 MPa environ. Au-dessus de cette pression critique, le système est « bloqué » et les acides aminés ne réagissent plus. Nos résultats suggèrent que la pression et l'interface minéral-eau sont des paramètres cruciaux pour la formation de peptides linéaires. Les conditions optimales pour la polymérisation observées dans cette étude suggèrent que les zones convergentes de faible température sur la Terre primitive aient pu être les zones prébiotiques réactives disponibles les plus étendues pour l'évolution chimique des acides aminés.

Classification: Major = Physical Sciences; Minor = Chemistry OR Earth, Atmospheric, and Planetary Sciences.

Title: New insights on the emergence of biopolymers: *in situ* Raman spectroscopy of the hydrothermal polymerization of glycine

Authors: Ulysse Pedreira-Segade[1]*, Jihua Hao[1], Gilles Montagnac[1], Hervé Cardon[1], Isabelle Daniel[1]

Author affiliation: [1] *Univ Lyon, Ens de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5276 LGL-TPE, F-69342, Lyon, France*

***Corresponding author:** ulysse.pedreirasegade@ens-lyon.fr

Contact info:xxx

Keywords:

Origins of life, polymerization, glycine, *in situ* Raman spectroscopy, diamond anvil cell, hydrothermal conditions.

Submission in PNAS – 6-pages article

Abstract *(248/250 words)*

The abiotic polymerization of nucleotides and amino acids is a prerequisite for the emergence of life. It has been proposed that hydrothermal conditions might favor the polymerization of amino acids in particular. However, numerous discrepancies between previous studies precluded any synthetic view on relevant conditions for the polymerization of amino acids on the early Earth. In the present study, we carried out an *in situ* analysis of the fate of glycine, the simplest and most abundant amino acid, under hydrothermal conditions at 200°C and for pressures between 50 and 3500 MPa in a diamond anvil cell. We also studied the effect of magnetite to test the mineral-water interface on the reactivity of glycine in solution. This *in situ* investigation allowed us to get insights into the effects of pressure, thermal stability of the chemical system, stability of quenched products and effects of water-rock interactions. We observed that polymerization of glycine is favored under high pressure and in the presence of magnetite. Linear dimers are produced in higher amounts than cyclic ones up to a threshold pressure of *ca.* 500 MPa. Above this critical pressure, the system is 'frozen' and the amino acids stop reacting. Our findings suggest that the pressure and mineral-water interface are crucial parameters for the formation of linear peptide. The optimum conditions for polymerization obtained in the present study suggest that low temperature convergent margins on the early Earth might have been the largest prebiotic reactive zones available for the chemical evolution of amino acids.

Significance statement *(105/120 words)*

The polymerization of amino acids is one of the first critical step for the prebiotic chemical evolution that ultimately led to life. We present the first *in situ* study of the fate of the simplest and most abundant amino acid, *i.e.* glycine, under hydrothermal conditions simulating primitive environments from the seafloor hydrothermal systems to the deep subsurface of subduction zones. The use of diamond anvil cell overcomes the limitations of classical *ex situ* apparatus. Our critical observations suggest that serpentinite-fueled hydrothermal systems in intraoceanic arcs up to a depth of *ca.* 25 km might have been the largest and most common primitive prebiotic reactive zones.

INTRODUCTION

The abiotic polymerization of amino acids is considered as a mandatory stage in the chemical evolution leading to the origin of life. Oligopeptide formation is a first step towards increased chemical complexity, the emergence of enzymatic activity and the first metabolic pathways. Whether proteins or genetic information were first is still a matter of debate. The availability and low concentration of amino acids in the natural environment is often presented as a major impediment to their subsequent polymerization (1, 2). Yet, amino acids were very likely present in the primitive environment. They are abundant in meteorites and the coma of small icy bodies (3, 4) and their production was measured in interstellar ice analogs (5), shock experiments reproducing extra-terrestrial impacts (6–8), and hydrothermal simulations under Earth-like conditions (9–12). Hence, amino acids could have been dissolved in the primitive ocean reservoir through extra-terrestrial delivery, shock chemistry and hydrothermal abiotic formation. The large volume of the primitive ocean precluded high concentration of amino acids and their polymerization would have been thermodynamically unfavorable due to the facile hydrolysis of the peptide bond.

The polymerization reaction is a dehydration reaction. Polymers are thus very sensitive to hydrolysis. Several authors proposed polymerization mechanisms under high temperature, such as closed dry systems, dry-wet cycles or impregnated minerals yielding high amounts of oligomers and long chains of peptides (13–27). These studies often refer to lakes, lagoons or tidal flats as potential natural environments for the emergence of long peptides. However, the relevance of such environments is a matter of debate. The primitive Earth was certainly a wet world, with less than 5% of emerged lands (28, 29), on which the photolysis induced by UV radiations and the large scale sterilization due to high extra-terrestrial impact frequency would have greatly limited the survivability of oligomers and more generally prebiotic building block (30).

Following the hypothesis of Corliss et al., hydrothermal systems have been proposed as possible geochemical environments for the abiotic formation and concentration of complex molecules (31). Temperatures higher than 100°C were shown to favor peptide bond formation and activate the molecules, in dry and aqueous conditions (11, 32). A large number of studies investigated hydrothermal conditions suitable for the polymerization of the simplest and most abundant amino acid, glycine (33–48). They used a wide variety of methods to reach hydrothermal conditions, the large majority of which were analyzed *ex situ*, ranging from static closed systems to dynamic flowthrough experiments. The hydrothermal conditions explored spanned

over a large range of temperatures (150 to 400°C) and pressures (0.1 to 100 MPa) with highly variable heating times (few seconds to >20 days), with or without heating/quenching cycles, and in the presence or absence of minerals. However, none of these studies could produce high yields of oligomers, and the major product formed was the cyclic dimer 2,5-diketopiperazine (DKP). DKP is a very stable molecule that has been presented as a dead-end product of the reaction by several authors (49). In addition, under hydrothermal conditions, thermal degradation of monomers was found to be a major drawback for the accumulation of oligomers. Finally, the possible catalytic effects of the materials used for the reactors, the concerns on reaching steady state conditions and the need for quenching in *ex situ* analyses lead several authors to question the validity of the results (34, 36–38).

These limitations might be resolved using *in situ* analysis methods. To the extent of our knowledge, only one *in situ* study was carried out under restricted hydrothermal conditions at 150°C and 2 MPa (37). In the present study, we carried out an *in situ* analysis of the fate of glycine and its polymers under hydrothermal conditions at 200°C and for pressures between 50 and 3500 MPa, using Raman spectroscopy coupled to a diamond anvil cell. We also studied the effect of magnetite that is a common accessory mineral in hydrothermal systems on the reactivity of glycine. Our study is the first focusing on the chemical evolution of glycine with low solid concentration under hydrothermal conditions. We performed a semi-quantitative analysis on Raman spectra acquired during and after hydrothermal treatments to measure the ratio of linear over cyclic dimers as a function of time and pressure so we could assess favorable conditions for the formation of longer peptides.

IN SITU RAMAN ANALYSIS UNDER HYDROTHERMAL CONDITIONS

We carried out fifteen hydrothermal experiments in which a saturated glycine solution ($C_2H_5NO_2$, 2 mol/kg) was loaded in a diamond anvil cell (50, 51) for experimental durations ranging between 6 and 65 hours. We used either platinum or gold liner to prevent reaction between the fluid and the Ni or stainless steel gaskets during hydrothermal treatment. The pressure range under consideration corresponds to a depth of 5 kilometers in the water column up to more than 100 kilometers deep in the crust. It covers much of the hydrothermal conditions and includes the pressures and temperatures encountered in subducting slabs (52) while staying in liquid water. To the best of our knowledge, it is the first study to explore such a wide range of pressure conditions. **Figure 1** compares the P-T conditions explored in the literature and this paper with those reached in modern subduction zones.

Measurement of Raman spectra throughout the experiment, before and during high temperature treatment and after quenching, allowed us to get insights into the effects of pressure, thermal stability of the chemical system, stability of quenched products and effect of water-rock interactions. We focused on the dimerization step of the glycine system (see **Figure S1**, and **Supplementary text**). This step is crucial for the complexification of the solution since it forms either the linear diglycine (Gly_2) or the cyclic 2,5-diketopiperazine (DKP). The ratio of linear over cyclic dimer (Gly_2/DKP) is used as a first order proxy of the favorability of the tested conditions for linear polymerization.

Thanks to custom calibration of the relative amount of dimers in solution, we could use Raman intensities to calculate the molar fractions of polymers DKP and Gly_2. This *in situ* Raman analysis only relies on the accurate measurement of the intensities of characteristic bands of glycine, diglycine and DKP, at 897 cm^{-1}, 918 cm^{-1} and 798 cm^{-1}, respectively. **Figure 2** displays the reference Raman spectra of glycine and its linear and cyclic dimers; selected spectra measure before, during and after hydrothermal reaction; and examples of molar fraction calibration and quantification (see **Table S1**, **Figures S2-3** and **Supplementary text** for more details).

RESULTS

Experimental conditions along with the molar fractions of dimers calculated after quenching are reported in **Table 1** (see **Table S2** and **Supplementary text** for more details). In all experiments where dimerization of glycine occurred, the characteristic Raman features of Gly_2 and DKP appeared while increasing the temperature, between 150 and 200°C. Analysis of the evolution of the molar fractions of polymers with time showed that DKP and Gly_2, once formed, remained stable throughout the experiment except for the lowest pressure tested (**Figure S4**). Steady state is thus reached within the first hours in hydrothermal conditions and Raman spectra and molar fractions did not change with quenching (*e.g.* **Figure 2B**, **Figure S4**). The Gly_2/DKP ratio stays stable until the end of the hydrothermal treatment, independently of the experimental duration. To achieve a higher precision in the calculation of products formation, we used the Raman intensities measured after quenching, *i.e.* at ambient temperature but high pressure, to measure the molar fraction of DKP and Gly_2 in experimental products.

We observe significant differences in the molar fractions of polymers depending on the pressure of the experiment and independent of the experimental duration. Pressure has a major effect on

glycine reactivity. Polymers formed only below 500 MPa. Above this critical pressure value, glycine did not evolve and the Raman spectra obtained after quenching showed only minor thermal degradation and no polymerization at all whether magnetite was present or not in the system. Below 500 MPa, where the polymers were formed, the hydrothermal conditions systematically favored the linear polymers. Up to 16 mol% of Gly_2 were formed at 380 MPa without magnetite and 140 MPa with magnetite. The Gly_2/DKP was as high as 34.4 at 450 MPa in the absence of magnetite and 35.9 at 300 MPa when magnetite was added to the system. Not only did pressure favor the formation of linear polymer, it also decreased the production of DKP. These effects are amplified and the optimal pressure for favorable linear dimerization is decreased by the addition of magnetite. For a given pressure the Gly_2/DKP ratio and the molar fraction of Gly_2 are higher when magnetite is present while the molar fraction of DKP is decreased.

DISCUSSION

Stability of compounds under hydrothermal conditions and after quenching. The observation of such highly stable monomers and oligomers is the first of its kind and is probably due to the higher pressures investigated. Other *ex situ* experiments have shown that, at temperatures above 200°C, the duration of the hydrothermal treatment directly impacted the survivability of organic molecules as thermal degradation continually depleted the system in glycine leading to the (reverse) hydrolysis of polymers (36, 42, 43). Only high rate of temperature cycles and fast quenching produced higher yields of polymers and seemed to favor the preservation of higher quantities of amino acids (38). The lead the authors to claim the need for highly dynamical environments in order to cycle building blocks through the hot regions of hydrothermal systems and colder ones of the open ocean and inhibit thermal degradation of the whole system. Yet, in these experiments, pressure was limited to values corresponding to the most superficial parts of the modern oceanic crust and the seafloor hydrothermal fields. In the present experiments, the higher pressure investigated might stabilize the amino acid and its dimers during hydrothermal treatment. Decarboxylation and deamination of glycine are the two main mechanisms of thermal degradation of the monomers and should mainly produce methylammonium, acetate, glycolate and formate (**Figure S1**), which characteristic intense Raman are significantly different from the ones of glycine and its polymers (53–55). Any building up of these degradation products would have easily been detected. The lack of Raman peaks corresponding to these molecules confirms that thermal degradation was limited to levels

below detection limit. Moreover, the production of final-stage degradation products such as CO_2, CH_4 and H_2 was also carefully monitored in our experiments. Their detection is straightforward with Raman spectroscopy (56). These molecules are soluble at high pressure and high temperature and exsolve as gas bubbles upon decompression. These solid evidences for thermal degradation of glycine has only been observed in small amounts in some of our experiments. A bubble of coexisting CO_2 and CH_4 had nucleated after quenching and pressure decrease for the experiment carried out at 50 MPa **(Figure S5)**. The glycine-buffered solution produced both oxidized and reduced carbon gases at the lowest pressure investigated. Micron-sized carbonate crystals precipitated after temperature quenching when magnetite was present at 140 and 300 MPa or after prolonged heating time (> 64 hours) at 380 MPa **(Figure S5)**, but not at 450 MPa for the same experimental duration. These confirm that pressure stabilize amino acids. Moreover, the large and stable signal to noise ratio of spectra of the remaining glycine ensured that degradation was only a minor phenomenon.

Finally, as many authors did, we underline the importance of carefully chosen inert materials in contact with the sample in the reactor.

Effect of pressure. Here we describe a novel effect of pressure. Under *ca*. 500 MPa, polymerization of glycine is favored and thermal degradation is suppressed. Gly_2 is produced in higher amounts than DKP with increasing pressure, with an optimal pressure around 450 MPa at 200°C. Above this threshold pressure of 500 MPa, repeated experiments showed that the evolution of the glycine is 'frozen' and that the amino acids do not react. Either pressure strongly slows down the reaction rates of glycine, or there is a thermodynamic stability domain of Gly at very high pressure. To the best of our knowledge, neither modeling nor experiments have shown that pressure could decrease these type of reactions rates. To test the possibility of kinetic hindering, we carried out two hydrothermal experiments at 200°C and above the threshold pressure for which we increased temperature to 250 and 300°C for one to two hours. No polymerization occurred and temperature only increased thermal degradation, with minor decarboxylation observed. The system does not appear kinetically slowed down, but it could be thermodynamically locked. However, no glycine stability domain is predicted at such high pressures. Thermodynamic studies of hydrothermal conditions for organic molecules are often limited to pressure below 500 MPa (32). In this range, pressure has been predicted to have a detrimental effect on the stability and preservation of amino acids and on the polymerization reaction. This effect is compensated by the strong activation effect of temperature. The system

is thus rapidly dominated by simultaneous decomposition and polymerization reactions. With longer durations of the hydrothermal treatment, the degradation of monomers would ultimately draw the reaction away from polymerization (34, 36, 41, 43). Even if the majority of studies focused on temperature instead of pressure effect, many authors suggested a slight, favorable effect of pressure well below the theoretical 500 MPa (13, 14, 18, 33).

Our results were compared with the thermodynamical databases of the Deep Earth Water model (DEW, (57)) and Shock (32). Below 500 MPa, the observed Gly_2/DKP values without magnetite are in better agreement with the extrapolated curve from Shock's data (**Figures S6, S7**).The only experimental simulation we could relate to for the pressure range tested is Otake et al. 2011 (14). The authors of this study used a dry closed system apparatus that allowed for the exploration of P conditions up to 5500 MPa. They observed a positive effect of increased pressure that ultimately favored monomer stability, polymer yields and lengths, but DKP was unfortunately not quantified in this study. It showed that decarboxylation was probably the main degradation process and that it was slowed down or inhibited by elevated pressures. However, they did not witness any 'freezing' effect due to high pressure. The effect of pressure on aqueous glycine has not been thoroughly studied and we cannot explain with the technique we used why is high pressure freezing the reactivity of glycine under the conditions tested. Further study would be needed in order to understand this phenomenon.

Effect of magnetite. We would like to underline that magnetite displaces the equilibrium observed without its presence. Thus, the mineral does not act as a catalyst. Water-rock interactions definitely influence the thermodynamics of the system. The presence of magnetite during hydrothermal treatment of glycine greatly enhanced the formation of the linear dimer while decreasing the amount of the cyclic one at a given pressure. Magnetite $Fe(II)Fe(III)_2O_4$ is a common accessory mineral in serpentinites and hydrothermal alteration of the seafloor. Interestingly, organic matter has been found alongside this mineral in modern natural environments (58, 59) and could be related to the geochemical environments that support modern deep biosphere. Iron oxide phases would usually form nano- or microparticles with a high surface to volume ratio during hydrothermal alteration. In our experiments, Raman spectra did not show any oxidation of magnetite (*e.g.* to hematite) upon heating or with glycine reaction. The strong effect of magnetite is then not related to redox reactions. Since polymerization is a dehydration reaction, we propose that the favored Gly_2 production might be related to water-mineral reaction at the interface. Glycine in the adsorbed state on the positively charged surface

of magnetite (60) should have very different properties and reactivity compared with free monomers in solution (61). Adsorption has often been proposed as a way to favor polymerization as the free energy of adsorption of polymers is thought to be lower than that of the free monomers (62, 63). Most studies on the reactivity of amino acids at the mineral-water interface focused on low water-rock ratio, using mainly impregnation techniques with simultaneous thermal analysis or *ex situ* dry-wet cycles (19, 20, 22, 24). The mineral surface in these cases could be seen more like a heterogeneous support than an interface between bulk water and the mineral. In these studies, it has been shown that iron oxide minerals enhanced glycine polymerization and favored the formation of linear polymers under mild temperature conditions (from 50 to 200°C). In terms of yields and linear polymer length, iron oxides were more efficient than amorphous or crystalline silica but less than titanium oxides (rutile, anatase). However, to the best of our knowledge, adsorption-related reactivity of glycine and other amino acids has not been studied under aqueous conditions with higher water to rock ratios. From the theoretical and experimental studies of adsorption of glycine onto magnetite (22, 64, 65), it is proposed that anionic or zwitterionic glycine adsorb on the positively charged surface of magnetite *via* its carboxylate group and forms bidentate outer-sphere or bridging complexes involving two iron atoms on the magnetite surface. Schwaminger et al. (64) observed that free zwitterion amino acids were deprotonated when adsorbed on the surface of magnetite and proposed that the amino acids could adsorb on one iron hydroxyl site through ionic coordination. The adsorption of the carboxylate group would then be combined with dissociative adsorption of the amine group and hydroxylation of the magnetite surface. Interestingly, Sakata et al. (45) showed that glycine polymerization kinetics and thermodynamics were greatly enhanced when pH was close to the second dissociative constant of glycine (*i.e.* 9.8 at 25°C), these increased rate and yield of linear polymerization were due to the presence in solution of equal amounts of zwitterion and anionic glycine monomers. As $–NH_2$ is a more efficient nucleophilic group than $–NH_3^+$, the nucleophilic attack of peptide bond formation would be greatly favored by alkaline conditions. Hence, if simultaneous carboxylate adsorption and dissociative adsorption of the amine of glycine is also applicable to our high pressure high temperature conditions, we could propose that surface adsorption of glycine could enrich the system in anionic glycine. Adsorption on the magnetite surface would then have a similar effect as alkaline pH conditions and favor the linear polymerization to Gly_2. However, given the low solid concentration used in our experiments, a maximum of 0.5% of total glycine would be adsorbed on the magnetite (see **Supplementary text** for more details). The adsorption would then have to be highly reversible, with a dynamic equilibrium so that new monomers

adsorb as linear polymers are desorbed after their formation. Another possible explanation lies in the partial dissolution of magnetite due the initial slightly acidic pH of the glycine solution. Aqueous iron could favor the formation of Fe-Gly or Fe-Gly_2 complexes. DKP would certainly be less stabilized than monomer and linear dimer as its carboxylate groups are not available for complexation with the positive iron solutes.

Implications for the prebiotic environments. Our findings suggest that pressure and mineral interactions are crucial parameters for the linear peptide formation. **Table 2** illustrates these observations by listing a comparison of optimal Gly_2/DKP ratios found in the literature and obtained in this work. Numerous studies showed that extended heating at temperature above 200°C, and as high as 400°C, could be detrimental to peptide formation. However, we show that high pressure could stabilize amino acids for extended durations and together with mineral-water interactions could favor their linear polymerization. On the primitive Earth, as in modern environments, oceanic hydrothermal circulation is a ubiquitous, vertically and horizontally widespread phenomenon. This circulation is not only linked to localized flows in seafloor hydrothermal vent fields but is also occurring deep in the porous crust. The majority of the hydrothermal fluids is proposed to be at an average temperature of *ca.* 150°C and thus could be suitable for the chemical evolution of prebiotic systems (9). Under these conditions, a major limit for the prebiotic reactivity would be pressure rather than temperature. This would hold particularly true in geochemical settings where the temperature gradient is not steep, such as in subduction zones or convergent margins. We propose that the threshold pressure of *ca.* 500 MPa should be considered as a limit for prebiotic reactivity. Hence, the prebiotic reactive zone would not only be limited to hydrothermal vents but could be extended to the global ubiquitous hydrothermal circulation in the crust and the sediment below the seafloor. The maximum depth of this zone would be either limited by high temperatures (> 400°C) in mid oceanic ridges and similar settings, or by high pressure in low temperature convergent margins.

It has been proposed that the primitive hydrosphere interacted with the crust as early as during the Hadean, favoring the onset of tectonics and some kind of subduction (66, 67) As emerged lands were limited, plate tectonics might have commonly produced intraoceanic arcs such (68). Serpentinization-fueled alkaline mud volcanoes are characteristic of these non-accretionary settings (59, 68). The analysis of 20-km-deep serpentinite clasts expelled from the South Chamorro mud volcano showed that the serpentinization temperature was below 300°C and that the rocks could harbor microbial communities (59). Given this modern example, we could

argue that the source fluid in the deep subsurface of primitive intraoceanic forearc environments would not reach detrimental temperatures and that the depth of the prebiotic reactive zone would only be limited by pressure. In such settings, the prebiotic reactive zone would be *ca.* 25-km-deep (52, 59).

Finally, chemical evolution in the deep subsurface would be favored by the elevated porosity of serpentinites in such systems. On one hand, such a high porosity is consistent with high reactive surface areas. The mineral-water interfaces associated with hydrothermal circulation could then favor the adsorption and subsequent polymerization of amino acids. On the other hand, hydrothermal circulation in highly porous networks would increase the concentration of monomers in solution. Dose et al. (1) estimated that the average concentration of amino acids in the primitive ocean would optimistically reach 10^{-6}-10^{-7} M. Since then, several authors suggested that concentration could be the major issue for the reactivity of amino acids and underlined the irrelevance of the high concentrations used in laboratory simulations (34, 36). However, Baaske et al. showed that a small temperature gradient in porous networks could tremendously increase the concentration of organic molecules, with an accumulation factor of 10^6 to 10^8 (69). These deep subsurface geochemical environments, with molar concentrations of amino acids in high reactive area pores in serpentinites, could then represent a large scale prebiotic reactor on the early Earth. Our results show that high pressures, mild temperatures, high pH conditions and high reactive surface areas in porous networks of intreaoceanic arc serpentinites are highly favorable to the emergence of prebiotic peptides. This kind of non-accretionary compressive system could have been the largest prebiotic reactive zone during the Hadean and Early Archean.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals. Glycine (Gly, $C_2H_5NO_2$ >99%), diglycine (Gly_2, $C_4H_8N_2O_3$ >99%) and glycine anhydride (DKP, $C_4H_6N_2O_2$ 99%) were purchased from Sigma Aldrich® and dissolved in pure water (18 MΩ cm) without additional treatment.

Magnetite was purchased from Sigma Aldrich® as an iron(II,III) oxide. It was hydrothermally aged to remove surface oxidation in a stainless steel reactor with Ar-bubbled pure water at 150°C for 3 days. Purity, chemistry, structure and specific surface areas were checked before and after the treatment. Textural analysis was carried out by Micromeritics Analytical Services (Norcross, GA, USA) on a TriStar II 3030 with low pressure N_2 adsorption at 77K. Specific

surface area of unaged and aged magnetite were calculated using the MicroActive for TriStar II Plus v 2.02, with the multi-point BET method. Aged magnetite exhibits a specific surface area of 5.8 m^2/g. XRD powder diffraction (Bruker D2 Phaser), SEM imaging coupled with EDS (JEOL 8500F) and TEM analysis coupled with EELS (Philips EM 420 TEM) revealed that aged magnetite was pure and free of surface oxidation layers. The grains are mainly needle, cubic and sheet-like particles of an average size of 100 nm.

Raman spectra were collected on a confocal LabRam HR800 micro-Raman spectrometer (Horiba Jobin-Yvon™) of 800 mm focal length. A holographic grating of 1800 $tr.mm^{-1}$ was used to reach a spectral resolution of 0.3 cm^{-1} on a Peltier-cooled front illuminated CCD detector (1024x256 pixels). The excitation line at 532.5 nm was produced by a Quantum Torus™ 400 laser, with a power of 20 mW at the sample. The laser and backscattered raman signal were focused through a Mitutoyo™ 50x long working distance objective (0.42 N.A.). This optical configuration reduced the spatial resolution close to the micrometer. Raman spectra were visualized and selected using Fityk™ (v0.9.8, (70)). On selected spectra, the baseline was subtracted and Voigt profiles least-square fitting procedure was used on Peakfit™ (v4.12).

Hydrothermal conditions were reached using membrane-type low (LP) and high pressure (HP) diamond anvil cells (50, 51). The reaction chamber was drilled in nickel (LP) or stainless steel (HP) gaskets and covered with gold or platinum to prevent reaction with the sample. For the LP cell, a 380 µm hole was pierced in the 300-µm-thick inerted gasket (volume of the reaction chamber of 107 nl). For the HP one, the hole was 150 µm in diameter for a thickness of 100 µm (volume of the reaction chamber of 1.7 nl). The gaskets were sonicated in a H_2O_2 solution to prevent organic contamination. The amino acid solution was loaded in the reaction chamber using a sterile 1ml syringe. The small volume of the reaction chamber makes it practically impossible to buffer the oxygen fugacity of the system. One to three ruby microspheres were added to monitor the sample pressure during the experiment (71). Pressure was thus measured using the shift of the R1 fluorescence peak of ruby (72). The temperature dependence of this shift has been previously calibrated for the batch used for these experiments (73). The internal pressure was increased and stabilized by pumping helium gas into the membrane of the cell using an automatic pressure regulator (Sanchez technologies). The experimental apparatus was heated externally using a resistance-heating coil adjusted on the diamond anvil cell. The temperature was measured through a K-type thermocouple inserted in the cell and close to the sample. The cell was thermally isolated using ceramic covers in order to keep the automatically-controlled temperature stability at ± 0.5°C during the experiment.

Reference spectra and calibrations. We prepared reference solutions of 1.5 M glycine, 1.5 M diglycine and 0.125 M DKP in pure water. Reference spectra of these compounds were acquired in sterile 2ml glass vials at 25°C and ambient pressure at low (300-1800 cm^{-1}) and high (2750-3100 cm^{-1}) frequencies. These spectra could then be compared with reference spectra from the literature for vibrational assignment and purity (see **Table S1;** (74–81)). Raman spectra for degradation products, gases and carbonates were also retrieved from the literature (53–56, 82). From the reference solutions we prepared Gly:Gly_2 mixed solutions with a 10 mol% step in Gly_2 concentration (from 0 to 100 mol% Gly_2). For Gly:DKP mixtures, we started with a step of 1 mol% from 0 to 10 mol% DKP, and used the same 10 mol% steps up to 100 mol% DKP. Calibration spectra **(Figure S2)** were acquired at 25°C and ambient pressure in the same 2mL glass vials. Laser power, acquisition time, spectral range and spectral resolution were identical for every spectrum. Calibration spectra were processed on Peakfit™ software (v4.12). We selected a reduced range of 750 to 950 cm^{-1} and subtracted a linear baseline. Voigt profiles were used for the least-square fitting procedure. A total of four peaks were used to model the data: one peak was used for Gly, two for Gly_2 and one for DKP, centered at 897 cm^{-1}, 882 and 918 cm^{-1}, and 798 cm^{-1}, respectively. Plots and polynomial curve fittings (**Figure S3**) of xGly_2 and xDKP as a function of the characteristic ratios were then obtained using Kaleidagraph software (v3.6).

Data availability / Supplementary material

The data that support the findings of this study are available within the paper and its Supplementary Information Files. Raw data such as pictures taken during hydrothermal experiments or Raman spectra are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgements.

This work was supported by the ANR grant ANR2015-CE31-0010 PREBIOM. We thank Dimitri Sverjensky for discussion and Marie Cros for preliminary results. We also would like to acknowledge Tim Strobel for the XRD analysis at Geophysical Laboratory (CIW), John Armstrong for the SEM analysis at Geophysical Laboratory (CIW), Kenn Livi for the TEM analysis at Johns Hopkins University and Cécile Feuillie for the help to treat the magnetite.

FIGURES

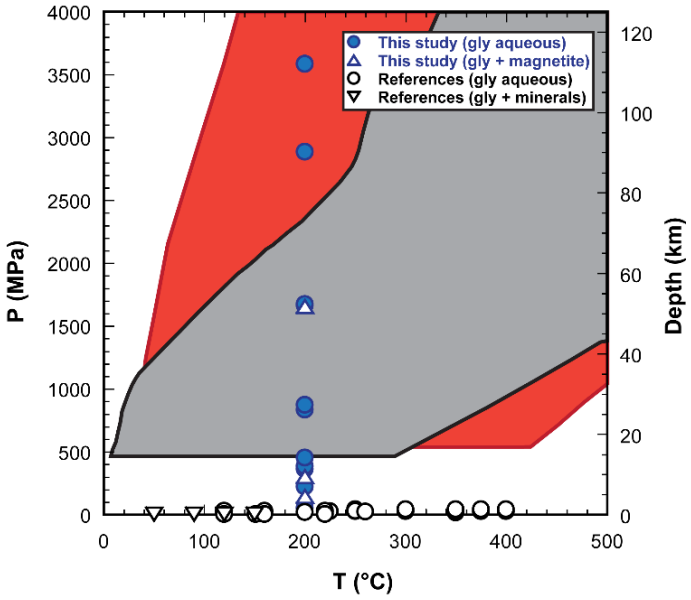
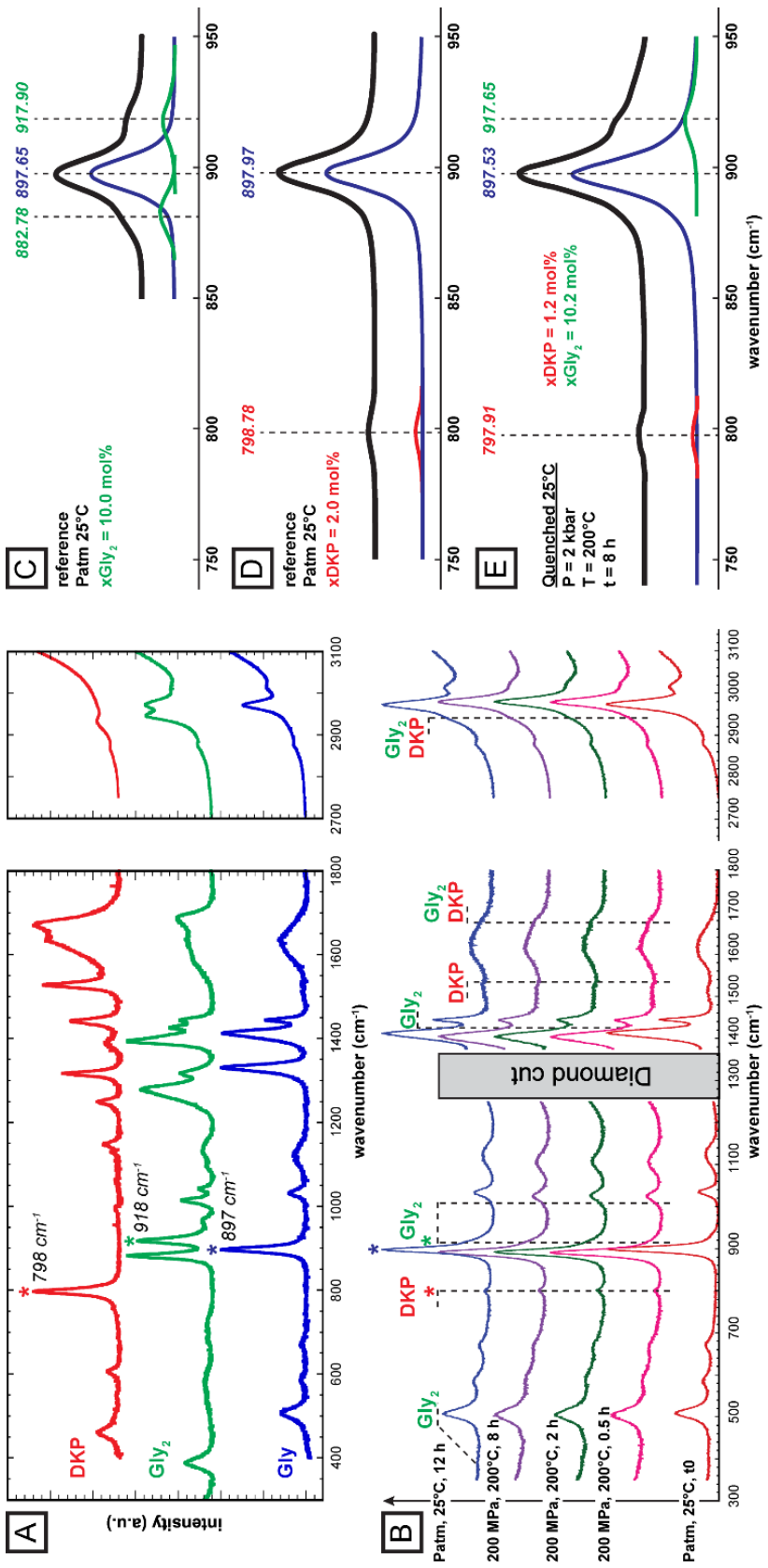


Figure 1. Comparison of experimental pressure-temperature conditions used in this study (blue symbols) and in the literature (black symbols, (16, 20, 33, 36–39, 42, 43, 47, 48)) for glycine solutions (circles) and glycine in the presence of minerals (triangles). Grey and red areas correspond to the minimum and maximum values reported in the W1300 model of Syracuse et al. (52) for P and T paths at the surface of subduction slabs and 7 kilometers below it, respectively.

Figure 2. (next page) Raman spectra of glycine (Gly), diglycine (Gly_2) and diketopiperazine (DKP). A) Reference spectra of Gly, Gly_2 and DKP acquired at atmospheric pressure and 25°C over the range 400-1800 cm^{-1} and 2700-3100 cm^{-1}. The band marked with an asterisk have been used to detect and quantify the presence of the dimers relative to the monomer concentration. B) Selected spectra from a hydrothermal experiment carried out at ca. 216 MPa and 200°C for 8 hours. The spectrum obtained before temperature is increased shows that the initial sample is pure aqueous glycine. The spectrum acquired as soon as the sample reaches 200°C shows that the characteristic bands of Gly_2 and DKP are already present. The relative intensities of these bands remain stable throughout the experiment and after quenching. C) Example of quantification on the raman spectrum of a reference solution of 10 mol% Gly_2 mixed with glycine. D) Example of quantification on the raman spectrum of a reference solution of 2 mol% DKP mixed with glycine. E) Example of quantification on the raman spectrum acquired after quenching of the hydrothermal experiment depicted in B).


A
intensity (a.u.)
DKP
Gly2
Gly
798 cm-1
918 cm-1
897 cm-1
wavenumber (cm-1)
B
Patm, 25°C, 12 h
200 MPa, 200°C, 8 h
200 MPa, 200°C, 2 h
200 MPa, 200°C, 0.5 h
Patm, 25°C, t0
Diamond cut
C
reference
Patm 25°C
xGly2 = 10.0 mol%
882.78 897.65 917.90
D
reference
Patm 25°C
xDKP = 2.0 mol%
798.78
897.97
E
Quenched 25°C
P = 2 kbar
T = 200°C
t = 8 h
xDKP = 1.2 mol%
xGly2 = 10.2 mol%
797.91
897.53 917.65

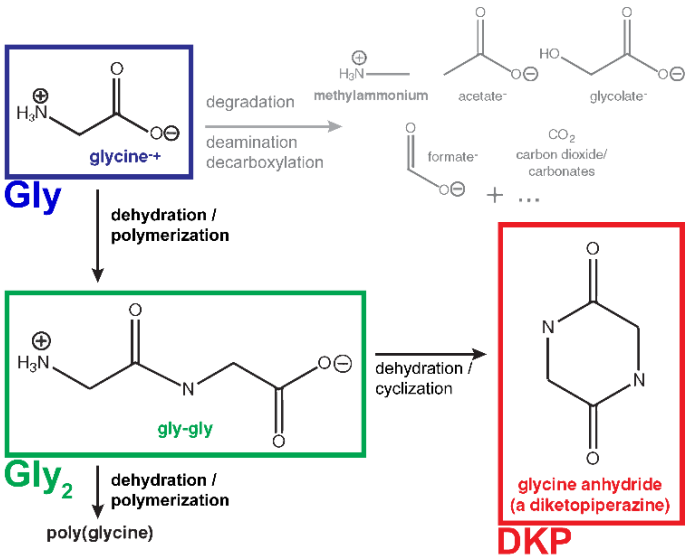


Figure S1. Schematic reaction pathways of the glycine, with polymerization and degradation products. Modified after Cox and Seward (37).

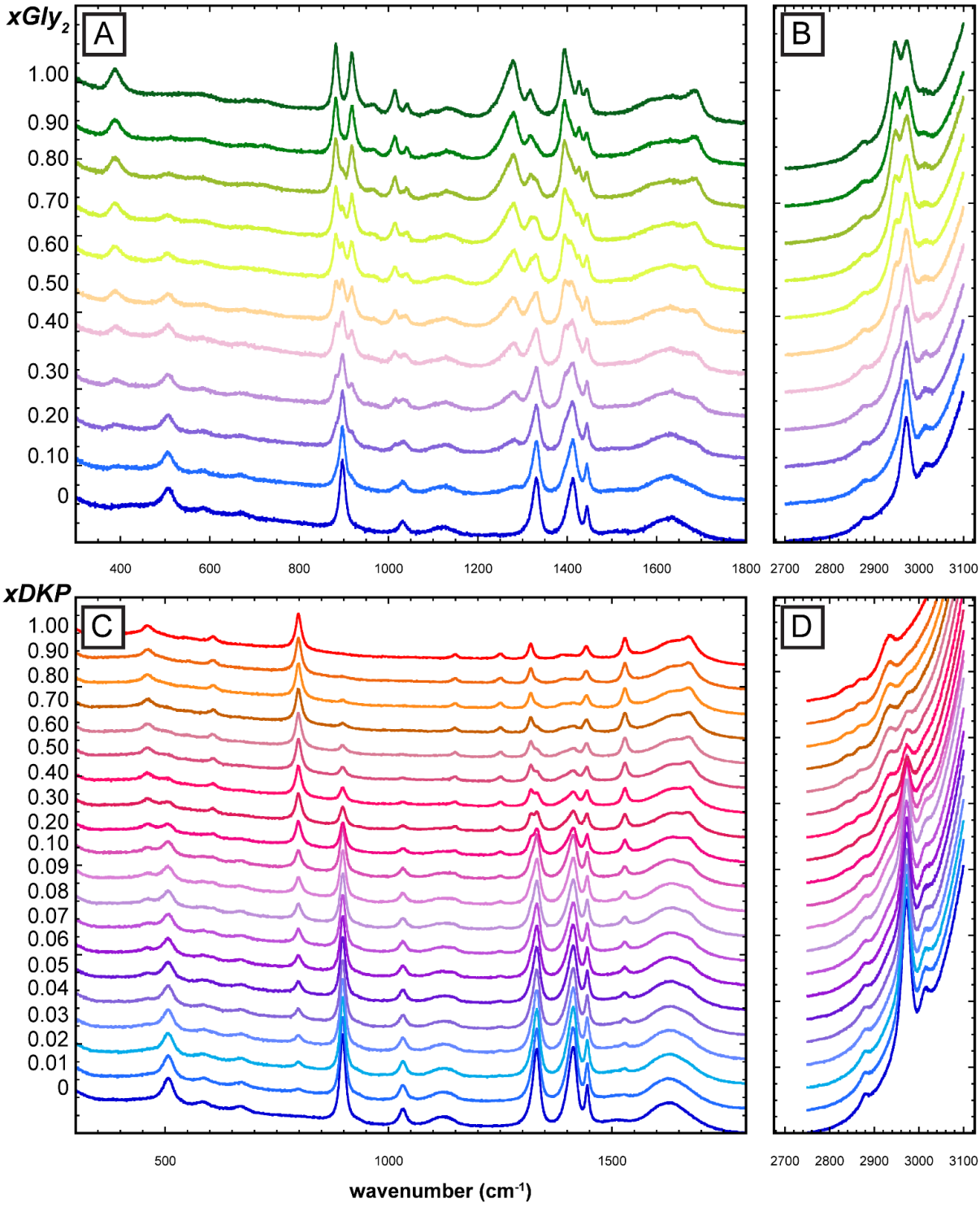


Figure S2. Raman spectra of reference mixture of Gly-Gly_2 and Gly-DKP for calibration purpose of dimer molar fractions obtained at atmospheric pressure and 25°C. A) Raman spectra of the Gly-Gly_2 mixtures between 300 and 1800 cm^{-1}. B) Raman spectra of the Gly-Gly_2 mixtures between 2700 and 3100 cm^{-1}. C) Raman spectra of the Gly-DKP mixtures between 300 and 1800 cm^{-1}. C) Raman spectra of the Gly-DKP mixtures between 2750 and 3100 cm^{-1}.

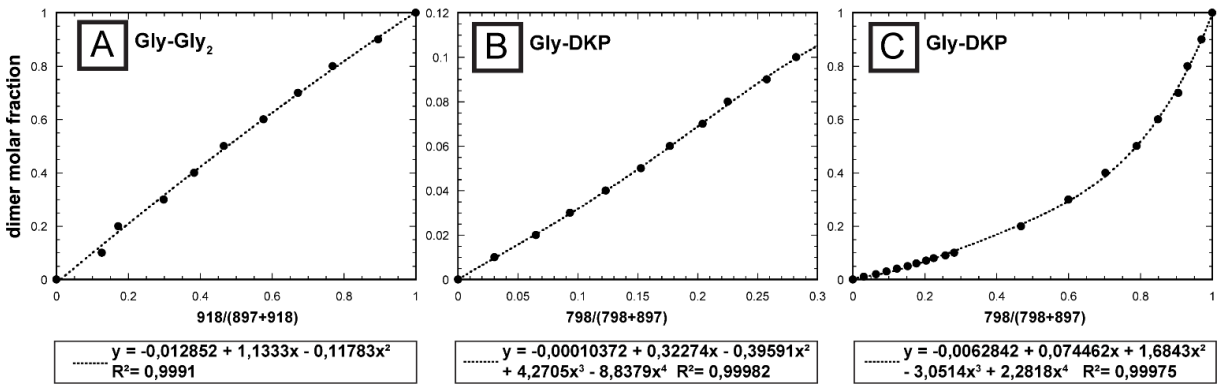


Figure S3. Molar fraction of dimers as a function of Raman band intensities. Polynomial equations and correlation coefficient are listed below each plot. A) Gly-Gly_2 calibration curve between 0 and 100 mol% Gly_2. B) Gly-DKP calibration curve between 0 and 10 mol% DKP. C) Gly-DKP calibration curve between 0 and 100 mol% DKP.

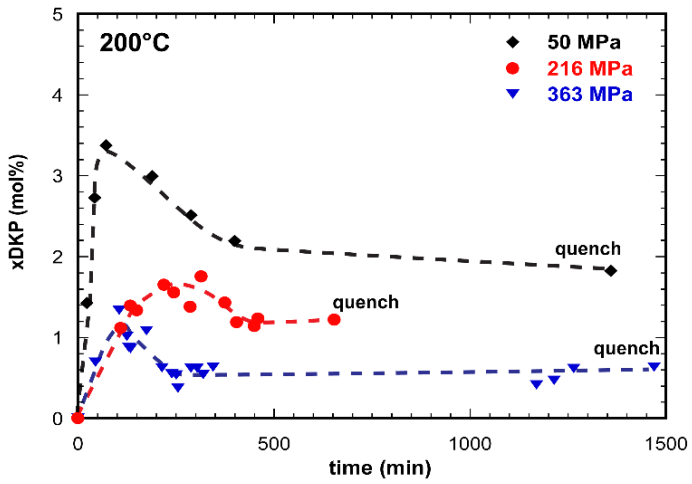


Figure S4. Molar fraction of DKP (mol%) as a function of time, for three hydrothermal experiments at 50, 216 and 363 MPa. As pressure increases, xDKP is decreased. Thermal degradation with time is only visible for the lowest pressure experiment. Doted lines are used as guide for the eyes.

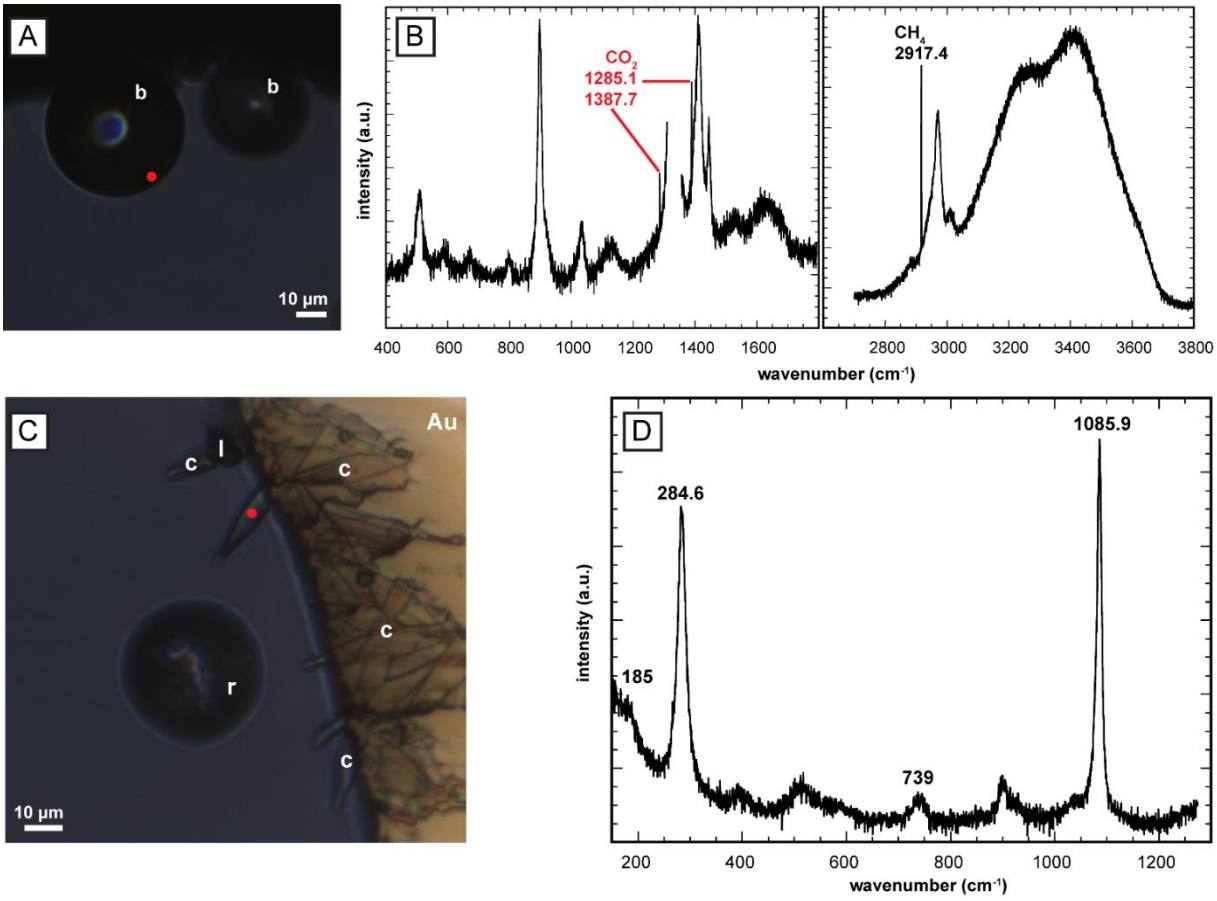


Figure S5. Selected snapshots and raman spectra of degradation products. A) Bubbles that appeared after quenching of the experiments at 50 MPa. The red dot correspond to the spot where the raman spectra was acquired. b = bubble. B) Raman spectra acquired at the edge of the bubble depicted in A). Bands of CO_2 and CH_4 are clearly visible (56) along with aqueous glycine for the surrounding solution. C) Carbonate crystals that precipitated on the rough edge of the gold gasket after 64 hours at high pressure and high temperature. The red dot correspond to the spot where the raman spectra was acquired. r = rubis microsphere; c = carbonate crystal; Au = gold liner; l = laser spot of the previous raman acquisition of a fragile crystal. D) Raman spectrum acquired on a carbonate crystal depicted in C). Characteristics bands seem to correspond to a Ca-Fe-rich carbonate (82).

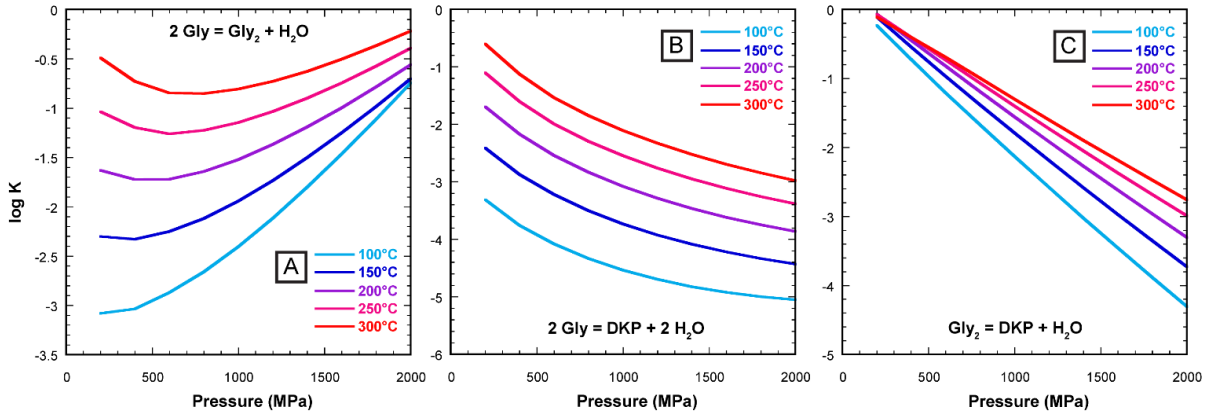


Figure S6. Log K as a function of pressure and temperature. Output of the DEW model for the dimerization of glycine and the cyclization of diglycine. A) Log K for the dimerization of Gly to Gly_2. B) Log K for the dimerization of Gly to DKP. C) Log K for the cyclization of Gly_2 to DKP.

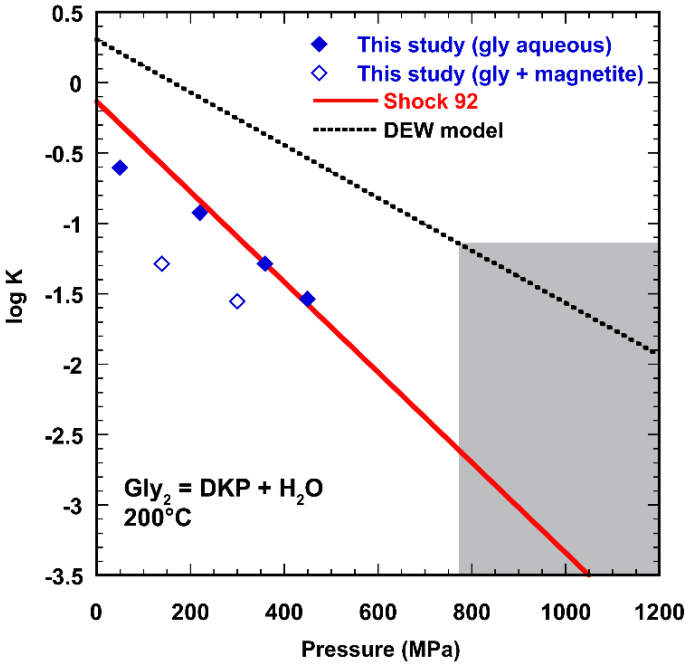


Figure S7. Log K of the reaction of cyclization of linear diglycine as a function of pressure and at 200°C. The data from this study are plotted along the curves obtained using either the data of Shock (32) or the latest version of the Deep Earth Water (DEW) Model (57). The DEW model relies partly on Lemke et al. data (42).

TABLES

Table 1. Pressure, temperature and experimental duration of hydrothermal experiments and results as the calculated molar fractions of Gly_2 and DKP and linear over cyclic dimer ratio. The number of spectra measured after quenching and used for dimer quantification (N) is given after the sample. Standard deviation (SD) values have been calculated when multiple Raman spectra have been measured. See **Supplementary text** for details on pressure calculation.

Sample (N)	t @ HT (hrs)	P (MPa) (SD)	T (°C)	xDKP (2SD) (mol%)	$xGly_2$ (2SD) (mol%)	Gly_2/DKP
Gly 2 M (3)	6.33	~ 50 (n.d.)	200	1.9 (0.14)	7.6 (0.16)	4.02
Gly 2 M (1)	7.25	216 (44)	200	1.2 (n.d.)	10.2 (n.d.)	8.41
Gly 2 M (3)	21.5	363 (54)	200	0.4 (0.13)	7.0 (1.10)	19.35
Gly 2 M (4)	65.4	377 (29)	200	0.0 (n.d.)	16.0 (1.50)	-
Gly 2 M (2)	65.4	452 (18)	200	0.2 (0.02)	7.0 (0.00)	34.41
Gly 2 M	9.5	830 (23)	200	0.0	0.0	-
Gly 2 M	7.5	870 (n.d.)	200	0.0	0.0	-
Gly 2 M	7	1662 (26)	200	0.0	0.0	-
Gly 2 M	8.3	1665 (27)	200	0.0	0.0	-
Gly 2 M	7.5	2880 (n.d.)	200	0.0	0.0	-
Gly 2 M	9	3577 (26)	200	0.0	0.0	-
Gly 2 M + Mgt (4)	8	137 (24)	200	0.8 (0.30)	15.7 (2.07)	19.43
Gly 2 M + Mgt (4)	10.3	300 (19)	200	0.4 (0.16)	12.8 (0.42)	35.90
Gly 2 M + Mgt	7	1653 (19)	200	0.0	0.0	-

Table 2. Comparison of optimal ratios of linear over cyclic dimer obtained after hydrothermal treatment of glycine in the literature and in this study. Initial glycine concentration, mineral presence, pressure and temperature are also listed. Note that in most of the previous studies, the optimal ratio is obtained before steady state is reached and generally at very short experimental durations. Mt = montmorillonite; Mgt = magnetite.

Sample	P (MPa)	T (°C)	Gly_2/DKP	reference
Gly 1 M	0.1	150	0.75	22
Gly $6.5x10^{-2}$ M	22.2	300	2.00	39
Gly $1x10^{-1}$ M	16.5	200	2.00	42
Gly $5x10^{-4}$ M	20	151	2.00	43
Gly $0.1x10^{-1}$ M	24	250	5.20	44
Gly $0.1x10^{-1}$ M	24	225	0.20	45
Gly $5x10^{-2}$ M	20	160	0.75	48
Gly $2x10^{-2}$ M	0.2	120	2.95	49
Gly $0.1x10^{-1}$ M	24	250	0.17	53
Gly $0.1x10^{-1}$ M	25	250	0.096	54
Gly 2 M	~ 50	200	4.02	**This study**
Gly 2 M	452	200	34.41	**This study**
Gly + Mt Dry/Wet	0.1	150	0.75	22
Gly + Goethite	0.1	50	3.60	26
Gly + Akaganeite	0.1	50	5.70	26
Gly + Hematite	0.1	50	0.10	26
Gly + TiO_2	0.1	90	40.00	26
Gly + ZnO	0.1	90	7.00	26
Gly + Mgt	137	200	19.43	**This study**
Gly + Mgt	300	200	35.90	**This study**

Table S1. (next page) Characteristic Raman bands of glycine, diglycine and diketopiperazine. Their wavenumber and relative intensity were calculated after baseline subtraction and least-square fitting assuming Voigt profiles. Band assignment is taken from various studies (75-82). ***'Or'*** underlines the disagreement between studies.

Wavenumber (cm^{-1})	Intensity (%)	Assignment (ref (75-82))
Gly		
506	29.20	COO bend + CH2 bend **or** COO rock
586	5.76	COO wag **or** COO bend + NCCO bend
670	4.62	COO bend **or** NH2 bend or CCN
897	100	CC str + CN str **or** NH2 twist + CH2 twist **or** CC + COO sci
1032	16.18	CN str + CC str
1120	10.82	NH3 rock **or** NH2 twist
1330	82.03	CH2 wag **or** CH2 wag + NH3 rock
1411	80.00	COO sym str **or** COO str + CH2 + NH3 or CH2 sci
1444	33.59	CH2 sci **or** CC str **or** CH2 bend **or** CH2 twist + NH3 twist
Gly_2		
389	32.34	skel def (C-CN)
570	8.41	Amide VI **or** COO wag
684	4.52	?
722	5.86	Amide V **or** COO bend
882	100	CC sym str
918	91.00	CC str **or** CH2 rock
963	9.31	CC str
1014	37.28	CN str
1041	14.84	CN str
1096	4.76	NH3 rock
1135	11.67	CN str or NH2 twist **or** NH3 rock
1259	34.04	Amide III
1280	67.17	Amide III
1318	33.07	CH2 wag **or** CH2 twist
1395	97.74	CH2 wag **or** COO
1425	41.76	COO sym str
1445	25.67	CH2 bend **or** CC str
1687	30.44	Amide I
DKP		
460	20.44	ring ipb
474	5.38	ring ipb
548	2.11	CO opb
605	12.01	CO ipb
797	100	ring str
1147	9.47	NC str
1248	12.14	CH2 twist
1316	34.42	CH2 wag
1390	7.02	CH2 wag
1441	29.59	NH ipb
1528	44.72	ring str
1674	33.75	CO str

Table S2. Details of the quantification procedure. Peak 1 corresponds to DKP, peak 2 to Gly and peak 3 to Gly_2. The correlation coefficient of the least-square fitting is always better than 0.987. The intensity ratios obtained allow for the calculation of molar fractions. The average and SD values of these molar fractions are also listed.

	peak 1		peak 2		peak 3		r^2 (fit)	intensity ratios		molar fractions			molar fractions	
exp.	(cm-1)	intensity	(cm-1)	intensity	(cm-1)	intensity		1/(1+2)	3/(2+3)	xDKP	$xGly_2$		xDKP	$xGly_2$
Z5	798	426.5	897	6638.5	922	506.6	0.99	0.0604	0.0709	0.0190	0.0765	average	0.0189	0.0762
	798	404.1	897	6556.1	922	503.0	0.99	0.0581	0.0712	0.0182	0.0768	SD	0.0007	0.0008
	798	226.0	897	3399.1	923	255.2	0.99	0.0624	0.0698	0.0196	0.0753			
Z10	799	62.7	898	4605.4	924	291.2	0.99	0.0134	0.0595	0.0043	0.0642	average	0.0036	0.0705
	800	49.4	898	5220.1	923	386.1	0.99	0.0094	0.0689	0.0030	0.0743	SD	0.0006	0.0055
	798	49.2	898	4382.1	923	318.0	0.99	0.0111	0.0677	0.0036	0.0730			
Z11	797	167.5	897	4195.0	917	439.1	0.99	0.0384	0.0948	0.0121	0.1020	average	0.0121	0.1020
Z12	805	170.7	899	5170.6	920	787.4	0.987	0.0320	0.1322	0.0101	0.1419	average	0.0081	0.1573
	801	355.0	898	13272.4	919	2360.7	0.99	0.0260	0.1510	0.0083	0.1619	SD	0.0015	0.0104
	800	266.0	898	12089.4	919	2141.8	0.99	0.0215	0.1505	0.0069	0.1613			
	802	253.0	898	11109.3	919	2009.4	0.99	0.0223	0.1532	0.0071	0.1642			
Z13	799	108.0	899	10933.1	919	1484.5	0.99	0.0098	0.1195	0.0031	0.1285	average	0.0036	0.1285
	801	128.8	899	10960.5	920.	1526.6	0.99	0.0116	0.1222	0.0037	0.1313	SD	0.0008	0.0021
	800	155.5	899	10609.1	919	1431.7	0.99	0.0144	0.1189	0.0046	0.1278			
	799	64.2	899	7428.6	919	989.6	0.99	0.0086	0.1175	0.0028	0.1263			
Z16	798	47.4	900	7744.5	927	538.9	0.99	0.0061	0.0651	0.0020	0.0702	average	0.0020	0.0702
	799	54.1	899	8271.4	927	575.6	0.99	0.0065	0.0651	0.0021	0.0702	SD	0.0001	0.0000
Z18	none	none	901	1756.8	925	332.8	0.99	none	0.1592	none	0.1707	average		0.1598
	none	none	901	1126.1	925	188.4	0.988	none	0.1433	none	0.1538	SD		0.0075
	none	none	901	1402.1	925	242.8	0.99	none	0.1476	none	0.1583			
	none	none	899	2362.8	923	403.1	0.99	none	0.1457	none	0.1563			

SUPPLEMENTARY TEXT

Equations for glycine reactions, Raman quantification and adsorption estimations

Glycine reactions and Raman quantifications

The polymerization reactions of glycine for the dimerization step can be written as follow:

$2\ Gly = Gly_2 + H_2O,\ K_1$ [1]

$2\ Gly = DKP + 2\ H_2O,\ K_2$ [2]

$Gly_2 = DKP + H_2O,\ K_3$ [3]

We calculated the molar fraction of Gly2 and DKP based on their relationship with Raman intensities ratios.

$xGly_2$ is a function of I(912)/(I(898)+I(912))

xDKP is a function of I(797)/(I(898)+I(797))

Where I(v) is the intensity of the band centered at v cm^{-1}.

The Raman quantification of dimer molar fractions xDKP and $xGly_2$ in mol% can be written as follow:

$xGly_2 = 100 \times [Gly_2]/([Gly_2]+[Gly])$ [4]

$xDKP = 100 \times [DKP]/([DKP]+[Gly])$ [5]

For low yields of dimerization,

$xGly_2 \sim [Gly_2]/[Gly]$ [6]

$xDKP \sim [DKP]/[Gly]$ [7]

Thus, the ratio Gly_2/DKP is accessible as:

$Gly_2/DKP = xGly_2/xDKP$ [8]

And this Raman technique allows for the calculation of the equilibrium constant of the cyclization reaction of Gly_2 [3]:

$K_3 = [DKP]/[Gly_2] = xDKP/xGly_2$ [9]

Adsorption of glycine on magnetite

From BET analysis, the magnetite powder we used has a specific surface area of 5.8041 m²/g. Sigma Aldrich® MSDS gives the density of this iron oxides at 5 g/ml.
The precise weight of mineral loaded in the diamond anvil is difficult, if not impossible, to measure. We will propose that the powder volume occupies 1 to 10% of the low-pressure diamond anvil cell chamber (V = 1.7 nl).
This correspond to 0.017 to 0.17 nl of magnetite powder, and 0.085 to 0.85 µg.
These are equivalent to 0.5 to $5x10^{-6}$ m² of magnetite surface available in our experiments.

We want to estimate the maximum adsorbed % of glycine on magnetite in our experiments.
Kitadai et al. (25) noted that the cross-section of glycine is 0.2 nm². Schawinger et al. (66) showed that glycine coverage was as high as 1.27 glycine/nm² on magnetite, at 25°C and atmospheric pressure.
If this value is applicable to our conditions, then, a maximum of $6.35x10^{12}$ glycine molecules would be adsorbed on the magnetite.
We used a 2 mol/kg glycine solution, i.e. $2.05x10^{15}$ glycine molecules in the reaction chamber. So, only 0.31% of the total available glycine in solution would be adsorbed under these conditions.
However, adsorption could be increased under high pressure-high temperature conditions. To give the highest value possible for this first order estimate, we can use the value for a physical monolayer of glycine, 2 glycine/nm², that was proposed by Georgelin et al. (27).
From this value, the same calculation leads to a maximum adsorption of 0.5% of the total available glycine in solution.

REFERENCES

1. Dose K (1975) Peptides and amino acids in the primordial hydrosphere. *Biosystems* 6:224–228.

2. Bernal JD (1949) The Physical Basis of Life. *Proc Phys Soc Sect B* 62(10):598–618.

3. Altwegg K, et al. (2016) Prebiotic chemicals — amino acid and phosphorus — in the coma of comet 67P / Churyumov-Gerasimenko. *Sci Adv* (May):1–6.

4. Elsila JE, et al. (2016) Meteoritic Amino Acids: Diversity in Compositions Reflects Parent Body Histories. *ACS Cent Sci*:370–379.

5. Danger G, et al. (2016) Insight into the molecular composition of laboratory organic residues produced from interstellar/pre-cometary ice analogues using very high resolution mass spectrometry. *Geochim Cosmochim Acta* 189:184–196.

6. Furukawa Y, Nakazawa H, Sekine T, Kobayashi T, Kakegawa T (2015) Nucleobase and amino acid formation through impacts of meteorites on the early ocean. *Earth Planet Sci Lett* 429:216–222.

7. Evans AC, Meinert C, Giri C, Goesmann F, Meierhenrich UJ (2012) Chirality, photochemistry and the detection of amino acids in interstellar ice analogues and comets. *Chem Soc Rev* 41(16):5447–58.

8. Goldman N, Reed EJ, Fried LE, Kuo I-FW, Maiti A (2010) Synthesis of glycine-containing complexes in impacts of comets on early Earth. *Nat Chem* 2:949–954.

9. Hennet RJC, Holm NG, Engel MH (1992) Abiotic synthesis of amino acids under hydrothermal conditions and the origin of life: A perpetual phenomenon? *Naturwissenschaften* 79(8):361–365.

10. Marshall WL (1994) Hydrothermal synthesis of amino acids. *Geochim Cosmochim Acta* 58(9):2099–2106.

11. Shock E, Canovas P (2010) The potential for abiotic organic synthesis and biosynthesis at seafloor hydrothermal systems. *Geofluids*:161–192.

12. Kitadai N (2015) Energetics of Amino Acid Synthesis in Alkaline Hydrothermal Environments. *Orig Life Evol Biosph* 45:377–409.

13. Ohara S, Kakegawa T, Nakazawa H (2007) Pressure effects on the abiotic polymerization of glycine. *Orig Life Evol Biosph* 37(3):215–23.

14. Otake T, et al. (2011) Stability of amino acids and their oligomerization under high-pressure conditions: implications for prebiotic chemistry. *Astrobiology* 11(8):799–813.

15. Da Silva L, Maurel MC, Deamer D (2015) Salt-Promoted Synthesis of RNA-like Molecules in Simulated Hydrothermal Conditions. *J Mol Evol* 80(2):86–97.

16. Fuchida S, Masuda H, Shinoda K (2014) Peptide formation mechanism on montmorillonite under thermal conditions. *Orig Life Evol Biosph* 44(1):13–28.

17. Fuchida S, Naraoka H, Masuda H (2016) Formation of Diastereoisomeric Piperazine-2,5-dione from dl-Alanine in the Presence of Olivine and Water. *Orig Life Evol Biosph*:1–10.

18. Furukawa Y, Otake T, Ishiguro T, Nakazawa H, Kakegawa T (2012) Abiotic formation of valine peptides under conditions of high temperature and high pressure. *Orig Life Evol Biosph* 42(6):519–31.

19. Iqubal M, Sharma R, Jheeta S, Kamaluddin (2017) Thermal Condensation of Glycine and Alanine on Metal Ferrite Surface: Primitive Peptide Bond Formation Scenario. *Life* 7(2):15.

20. Shanker U, Bhushan B, Bhattacharjee G, Kamaluddin (2012) Oligomerization of glycine and alanine catalyzed by iron oxides: implications for prebiotic chemistry. *Orig Life Evol Biosph* 42(1):31–45.

21. Lawless JG, Levi N (1979) The role of metal ions in chemical evolution: Polymerization of alanine and glycine in a cation-exchanged clay environment. *J Mol Evol* 13(4):281–286.

22. Kitadai N, et al. (2016) Glycine Polymerization on Oxide Minerals. *Orig Life Evol Biosph*:1–21.

23. Kitadai N, Yokoyama T, Nakashima S (2011) Hydration-dehydration interactions between glycine and anhydrous salts: Implications for a chemical evolution of life. *Geochim Cosmochim Acta* 75(21):6285–6299.

24. Georgelin T, et al. (2017) Iron(III) Oxide Nanoparticles as Catalysts for the Formation of Linear Glycine Peptides. *Eur J Inorg Chem* 2017(1):198–211.

25. Forsythe JG, et al. (2015) Ester-Mediated Amide Bond Formation Driven by Wet-Dry Cycles: A Possible Path to Polypeptides on the Prebiotic Earth. *Angew Chem Int Ed Engl* 54(34):9871–9875.

26. Ito M, Handa N, Yanagawa H (1990) Synthesis of polypeptides by microwave heating I. Formation of polypeptides during repeated hydration-dehydration cycles and their characterization. *J Mol Evol* 31(3):180–186.

27. Ito M, Handa N, Yanagawa H (1990) Synthesis of polypeptides by microwave heating II. Function of polypeptides synthesized during repeated hydration-dehydration cycles. *J Mol Evol* 31(3):187–194.

28. Flament N, Coltice N, Rey PF (2008) A case for late-Archaean continental emergence from thermal evolution models and hypsometry. *Earth Planet Sci Lett* 275(3–4):326–336.

29. Picard A, Daniel I (2013) Pressure as an environmental parameter for microbial life - A review. *Biophys Chem* 183:30–41.

30. Arndt NT, Nisbet EG (2012) Processes on the Young Earth and the Habitats of Early Life. *Annu Rev Earth Planet Sci* 40(1):521–549.

31. Corliss JB, Baross JA, Hoffman SE (1981) An hypothesis concerning the relationship between submarine hot springs and the origin of life on Earth. *Oceanol Acta* 4(59):9.

32. Shock EL (1992) Stability of peptides in high-temperature aqueous solutions. *Geochim Cosmochim Acta* 56(9):3481–3491.

33. Alargov DK, Deguchi S, Tsujii K, Horikoshi K (2002) Reaction behaviors of glycine under super- and subcritical water conditions. *Orig Life Evol Biosph* 32:1–12.

34. Chandru K, Imai E, Kaneko T, Obayashi Y, Kobayashi K (2013) Survivability and Abiotic Reactions of Selected Amino Acids in Different Hydrothermal System Simulators. *Orig Life Evol Biosph* 43(2):99–108.

35. Chandru K, Obayashi Y, Kaneko T, Kobayashi K (2013) Formation of amino acid condensates partly having peptide bonds in a simulated submarine hydrothermal environment. *Viva Orig* 41:24–28.

36. Cleaves HJ, Aubrey AD, Bada JL (2009) An Evaluation of the Critical Parameters for Abiotic Peptide Synthesis in Submarine Hydrothermal Systems. *Orig Life Evol Biosph* 39(2):109–126.

37. Cox JS, Seward TM (2007) The reaction kinetics of alanine and glycine under hydrothermal conditions. *Geochim Cosmochim Acta* 71(9):2264–2284.

38. Futamura Y, Fujioka K, Yamamoto K (2007) Hydrothermal treatment of glycine and adiabatic expansion cooling: implications for prebiotic synthesis of biopolymers. *J Mater Sci* 43(7):2442–2446.

39. Imai E, Honda H, Hatori K, Brack A, Matsuno K (1999) Elongation of oligopeptides in a simulated submarine hydrothermal system. *Science (80-)* 283:831–833.

40. Kitadai N (2016) Dissolved Divalent Metal and pH Effects on Amino Acid Polymerization: A Thermodynamic Evaluation. *Orig Life Evol Biosph*:1–25.

41. Klingler D, Berg J, Vogel H (2007) Hydrothermal reactions of alanine and glycine in sub- and supercritical water. *J Supercrit Fluids* 43(1):112–119.

42. Lemke KH, Rosenbauer RJ, Bird DK (2009) Peptide synthesis in early Earth hydrothermal systems. *Astrobiology* 9(2):141–6.

43. Qian Y, Engel MH, Macko SA, Carpenter S, Deming JW (1993) Kinetics of peptide hydrolysis and amino acid decomposition at high temperature. *Geochim Cosmochim Acta* 57(14):3281–3293.

44. Rodriguez-Garcia M, et al. (2015) Formation of oligopeptides in high yield under simple programmable conditions. *Nat Commun* 6:1–7.

45. Sakata K, Kitadai N, Yokoyama T (2010) Effects of pH and temperature on dimerization rate of glycine: Evaluation of favorable environmental conditions for chemical evolution of life. *Geochim Cosmochim Acta* 74(23):6841–6851.

46. Yamaoka K, Kawahata H, Gupta LP, Ito M, Masuda H (2007) Thermal stability of amino acids in siliceous ooze under alkaline hydrothermal conditions. *Org Geochem* 38:1897–1909.

47. Ogata Y, Imai E, Honda H, Hatori K, Matsuno K (2000) Hydrothermal circulation of seawater through hot vents and contribution of interface chemistry to prebiotic synthesis. *Orig Life Evol Biosph* 30:527–537.

48. Islam N, Kaneko T, Kobayashi K (2003) Reaction of Amino Acids in a Supercritical Water-Flow Reactor Simulating Submarine Hydrothermal Systems. *Bull Chem Soc Jpn* 76(6):1171–1178.

49. Steinberg S, Bada JL (1981) Diketopiperazine formation during investigations of amino acid racemization in dipeptides. *Science (80-)* 213:544–545.

50. Oger PM, Daniel I, Picard A (2006) Development of a low-pressure diamond anvil cell and analytical tools to monitor microbial activities in situ under controlled P and T. *Biochim Biophys Acta* 1764(3):434–442.

51. Chervin JC, Canny B, Besson JM, Pruzan P (1995) A diamond anvil cell for IR microspectroscopy. *Rev Sci Instrum* 66:2595–2598.

52. Syracuse EM, et al. (2010) The global range of subduction zone thermal models. *Phys Earth Planet Inter* 183(1–2):73–90.

53. Meinander N, Forss S, Bergström G (1981) A Raman Spectroscopic Study of Methyl Ammonium Chloride - III the internal vibrations in the 600-1700 cm-1 frequency region. *J Raman Spectrosc* 11(3):155–167.

54. Cassanas G, Kister G, Fabrègue E, Morssli M, Bardet L (1993) Raman spectra of glycolic acid, L-lactic acid and D,L-lactic acid oligomers. *Spectrochim Acta Part A Mol Spectrosc* 49(2):271–279.

55. Ito K, Bernstein HJ (1956) the Vibrational Spectra of the Formate, Acetate, and Oxalate Ions. *Can J Chem* 34(2):170–178.

56. Frezzotti ML, Tecce F, Casagli A (2012) Raman spectroscopy for fluid inclusion analysis. *J Geochemical Explor* 112:1–20.

57. Sverjensky DA, Harrison B, Azzolini D (2014) Water in the deep Earth : The dielectric constant and the solubilities of quartz and corundum to 60 kb and 1200 ° C. *Geochim Cosmochim Acta* 129:125–145.

58. Ménez B, Pasini V, Brunelli D (2012) Life in the hydrated suboceanic mantle. *Nat Geosci* 5(1):1–5.

59. Plümper O, et al. (2017) Subduction zone forearc serpentinites as incubators for deep microbial life. *Proc Natl Acad Sci* 114(17):4324–4329.

60. Sverjensky DA (1994) Zero-point-of-charge prediction from crystal chemistry and solvation theory. *Geochim Cosmochim Acta* 58(14):3123–3129.

61. Lambert J-F (2008) Adsorption and polymerization of amino acids on mineral surfaces: a review. *Orig Life Evol Biosph* 38(3):211–42.

62. de Duve C, Miller SL (1991) Two-dimensional life? *Proc Natl Acad Sci U S A* 88(22):10014–10017.

63. Hill ARJ, Böhler C, Orgel LE (1998) Polymerization on the rocks: negatively-charged alpha-amino acids. *Orig Life Evol Biosph* 28:235–243.

64. Schwaminger SP, et al. (2015) Nature of Interactions of Amino Acids with Bare Magnetite Nanoparticles. *J Phys Chem C* 119(40):23032–23041.

65. Bürger A, Magdans U, Gies H (2013) Adsorption of amino acids on the magnetite-(111)-surface: A force field study. *J Mol Model* 19(2):851–857.

66. 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(6817):178–181.

67. Turner S, Rushmer T, Reagan M, Moyen JF (2014) Heading down early on? Start of subduction on earth. *Geology* 42(2):139–142.

68. Pons M-L, et al. (2011) Early Archean serpentine mud volcanoes at Isua, Greenland, as a niche for early life. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(43):17639–43.

69. Baaske P, et al. (2007) Extreme accumulation of nucleotides in simulated hydrothermal pore systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(22):9346–9351.

70. Wojdyr M (2010) Fityk : a general-purpose peak fitting program. *J Appl Crystallogr* 43:1126–1128.

71. Chervin JC, Canny B, Mancinelli M (2001) Ruby-spheres as pressure gauge for optically transparent high pressure cells. *High Press Res An Int J* 21(6):305–314.

72. Mao HK, Bell PM, Shaner JW, Steinberg DJ (1978) Specific volume measurements of Cu, Mo, Pd, and Ag and calibration of the ruby R1 fluorescence pressure gauge from 0.06 to 1 Mbar. *J Appl Phys* 49(6):3276–3283.

73. Journaux B, Daniel I, Caracas R, Montagnac G, Cardon H (2013) Influence of NaCl on ice VI and ice VII melting curves up to 6 GPa, implications for large icy moons. *Icarus* 226(1):355–363.

74. Furic K, Mohacek V, Bonifacit M, Stefanic I (1992) Raman spectroscopic study of H2O and D2O water solutions of glycine. *J Mol Struct* 267:39–44.

75. Kumar S, Rai AK, Singh VB, Rai SB (2005) Vibrational spectrum of glycine molecule. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 61(11–12):2741–6.

76. Vyas N, Ojha AK, Materny A (2011) Simulation of the Raman spectra of zwitterionic glycine+nH2O (n=1, 2, …, 5) by means of DFT calculations and comparison to the experimentally observed Raman spectra of glycine in aqueous medium. *Vib Spectrosc* 55(1):69–76.

77. Xiaojuan Y, Huaimin G, Jiwei W (2010) Surface-enhanced Raman spectrum of Gly-Gly adsorbed on the silver colloidal surface. *J Mol Struct* 977(1–3):56–61.

78. Panicker L, Sakuntala T (2011) Raman spectroscopic and DSC studies of diglycine-perchlorate (DGPCl). *Vib Spectrosc* 57(2):270–274.

79. Sonois V, et al. (2008) Raman study and DFT calculations of amino acids. *NSTI Nanotech* 1:352–355.

80. Baran J, Barnes AJ, Ratajczak H (2012) The polarized IR and Raman spectra of the diglycine hydrochloride crystal. *J Mol Struct* 1009:55–68.

81. Cheam TC, Krimm S (1984) Vibrational analysis of crystalline diketopiperazine-I . Raman and i . r . spectra *. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* 40(6):481–501.

82. Gillet P, Biellmann C, Reynard B, McMillan P (1993) Raman spectroscopic studies of carbonates part I: High-pressure and high-temperature behaviour of calcite, magnesite, dolomite and aragonite. *Phys Chem Miner* 20(1):1–18.

PARTIE 6 - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La circulation hydrothermale sous-marine se caractérise par des pressions élevées (50 à 500 MPa), un gradient de température et de pH fort entre l'eau hydrothermale (90 à 400°C, pH 2 à 13) et l'eau océanique (2°C, pH 8), et la présence de minéraux formant naturellement des particules de petites tailles et développant donc de grandes surfaces spécifiques réactives. Dans cette thèse, nous avons sélectionné un ensemble de minéraux ferromagnésiens, phyllosilicates et oxydes, résultant de l'altération hydrothermale de roches ultrabasiques océaniques. Nous avons exploré les effets des conditions physico-chimiques caractéristiques des systèmes hydrothermaux sous-marins primitifs sur la concentration et la réactivité des briques élémentaires du vivant à l'interface eau-roche.

La concentration des nucléotides, monomères de l'ADN et de l'ARN, a été étudiée au travers des mécanismes d'adsorption de ces molécules sur les surfaces de phyllosilicates. Nous avons développé un nouveau protocole afin d'étudier l'effet de la pression et de la température sur l'adsorption. Ces travaux préliminaires se révèlent prometteurs. Nous avons systématiquement testé les effets de la minéralogie des phyllosilicates, du pH et de la salinité sur l'adsorption des nucléotides aux conditions ambiantes de pression et de température.

La réactivité de la glycine en conditions hydrothermales a également fait l'objet d'une étude détaillée. Pour la première fois dans ce domaine, nous avons utilisé une technique d'analyse *in situ* permettant de suivre dans le temps et en fonction des conditions de pression et de température le degré de polymérisation de la glycine non activée. Nous avons également testé l'effet de la présence de magnétite dans le système. La pression, paramètre peu étudié par le passé, et l'interface minéral-eau apparaissent comme des points essentiels à la réactivité des acides aminés dans l'environnement prébiotique.

De l'ensemble de ces résultats, nous pouvons proposer une synthèse et quelques pistes de réflexions.

Synthèse sur la concentration des nucléotides

L'étude des mécanismes d'adsorption des nucléotides nécessite au préalable une caractérisation détaillée des surfaces minérales utilisées. Plutôt que de se limiter aux isothermes d'adsorption, il nous semble important de parvenir à déterminer la quantité et la qualité des surfaces réactives, et ainsi de pouvoir calculer des densités d'adsorption et un recouvrement de surface. Si les surfaces minérales sont difficilement caractérisables, pouvant par exemple être très dépendantes des paramètres physico-chimiques du milieu, il devient nécessaire de combiner les méthodes d'analyses. On peut compléter l'étude macroscopique classique d'adsorption en batch par une analyse texturale de l'adsorbant (méthode BET), ou encore une étude structurale *in situ* des particules minérales dans le milieu d'intérêt (SAXS).

Nous avons proposé un mécanisme général d'adsorption des nucléotides sur les phyllosilicates : l'ensemble des nucléotides s'adsorbent majoritairement sur les surfaces latérales des phyllosilicates par échange de ligand entre le groupement phosphate des nucléotides et les métaux hydroxylés des bords des feuillets minéraux. Ces surfaces latérales ne sont pas intrinsèquement sélectives d'un monomère en particulier. Les quantités de nucléotides adsorbées ne dépendent que de leurs propriétés spécifiques, mais principalement de leur solubilité. La chimie des minéraux, alumineux ou ferromagnésiens, importe peu. En revanche, la structure des phyllosilicates a une très forte incidence sur les quantités retenues et les mécanismes d'adsorption.

Si tous les phyllosilicates adsorbent principalement les nucléotides sur leurs surfaces latérales, une distinction existe entre les argiles gonflantes et les phyllosilicates non gonflants : la charge négative permanente des argiles gonflantes modifie leur comportement en fonction du pH et des électrolytes en solution. La surface basale des argiles gonflantes devient accessible dans certaines conditions. (i) Les nucléotides possédant une base azotée A, C ou G se protonent à pH acide et s'adsorbent alors par échange de cations sur les surfaces basales chargées négativement. (ii) La concentration et la nature des sels en solution peuvent modifier la nature et la densité des sites d'adsorption des phyllosilicates. Par exemple, les cations divalents complexent le groupement phosphate des nucléotides en solution et inhibent leur adsorption sur les surfaces latérales des phyllosilicates, en bloquant leur groupement réactif. Cette complexation permet néanmoins l'adsorption des nucléotides sur les surfaces basales des phyllosilicates par pontage cationique. Cet effet n'est observé que sur les argiles gonflantes chargées négativement et possédant des cations échangeables. Les cations en solution ont donc un double effet, inhibiteur et coopératif selon les sites d'adsorption d'intérêt. Les anions

moléculaires, comme le phosphate ou le sulfate, sont eux en compétition directe pour les mêmes sites d'adsorption que les nucléotides sur les surfaces latérales des phyllosilicates. Au vu du rapport d'aspect des phyllosilicates, l'effet des cations divalents permet le recouvrement des grandes surfaces basales disponibles.

Enfin, il nous paraît important de souligner que, contrairement à ce qui a pu être avancé dans la littérature, nous n'avons jamais observé d'adsorption dans l'espace interfoliaire des argiles gonflantes. Cet argument fréquent dans la littérature n'est pas nécessaire à l'explication et à l'interprétation de nos résultats. C'est donc la surface des particules plutôt que la surface des feuillets isolés qui est réactive pour l'interaction nucléotides avec les argiles gonflantes. Cette surface interparticulaire est par ailleurs variable selon les conditions de salinité, de pH et de concentration solide qui engendrent la formation de flocs et de cristallites de tailles variables.

Vers une polymérisation des nucléotides ?

Les mécanismes d'adsorption identifiés dans cette thèse font principalement intervenir une complexation forte du groupement phosphate des nucléotides. Si cette adsorption permet d'augmenter la concentration locale en nucléotides d'un facteur 1000 à l'interface minéral-eau, la complexation du phosphate par adsorption n'est a priori pas favorable à la polymérisation. Le groupement phosphate est en effet impliqué dans la polymérisation des nucléotides par formation d'une liaison phosphodiester qui lie les nucléotides pour former le squelette des acides nucléiques. Même si les conditions acides permettent de concentrer localement certains nucléotides, de manière à ce que le phosphate reste disponible, elles ne sont *a priori* pas favorables à la polymérisation car elles facilitent l'hydrolyse rapide des molécules. Nos travaux expérimentaux montrent que l'augmentation locale de concentration en nucléotides sur les surfaces latérales des phyllosilicates stabilise fortement ces molécules à l'interface minéral-eau, lesquels nucléotides stabilisés forment alors des nucléi propices à l'initiation de la polymérisation d'oligomères.

Synthèse sur la réactivité de la glycine

La deuxième partie de cette thèse était consacrée à l'étude de la polymérisation en conditions hydrothermales. Nous avons travaillé sur la réactivité des acides aminés non activés, en prenant comme modèle la glycine. Les conditions de pression explorées, de 50 à 3500 MPa, correspondent à la circulation de fluides profonds, jusqu'à 100 kilomètres de profondeur. La température de 200°C représente plutôt des conditions modérées de contexte de convergence et de zone de subduction.

La méthode d'analyse *in situ* a permis de montrer que la glycine polymérise dès que la température est comprise entre 150 et 200°C. Cette réaction est rapide et atteint son équilibre en quelques heures. De plus, dans les conditions de pressions que nous avons testées, la dégradation thermique des molécules organiques en solution est largement inhibée et le produit de réaction est préservé lors de la trempe du système.

La quantification des fractions molaires de dimères de glycine linéaires et cycliques formés a permis de déterminer les conditions les plus favorables à l'élongation d'oligomères linéaires de la glycine. La polymérisation linéaire est favorisée par l'augmentation de pression, comme prévu par la thermodynamique. La présence de magnétite, et donc d'une surface minérale, augmente également la proportion de dimères linéaires par rapport aux dimères cycliques. Cet effet est probablement dû à l'adsorption réversible de glycine à la surface de la magnétite. Cette adsorption s'accompagne de la déprotonation du groupement amine de l'acide aminé, qui amplifierait la réaction de polymérisation linéaire. La présence d'une surface minérale aurait un effet équivalent à une augmentation du pH de la solution, qui augmenterait la proportion de glycine réactive non protonée.

Nous avons observé un phénomène qui n'a pas été décrit précédemment. Au-delà d'une pression d'environ 500 MPa, la glycine en solution ne réagit plus, même si la température est poussée jusqu'à 300°C. Ces résultats ne sont pas expliqués par les théories classiques et nécessitent de nouvelles études.

Implication pour l'environnement prébiotique ?

Ces travaux nous amènent à proposer que les systèmes convergents analogues aux zones de subduction, sur la Terre primitive, sont donc une zone d'intérêt pour la chimie prébiotique. Le contexte de serpentinisation et la circulation hydrothermale associée, potentiellement jusqu'à 25 kilomètres de profondeur, auraient pu constituer une zone de réactivité prébiotique très étendue, l'augmentation de pression favorisant et stabilisant les polymères linéaires. Ces résultats suggèrent donc une nouvelle limite de réactivité, et peut-être d'habitabilité, à la pression critique d'environ 500 MPa.

Perspectives

De ces travaux ressort avant tout l'importance de l'interface minéral-eau. L'abondance, la diversité et l'ubiquité des surfaces minérales en font un paramètre essentiel à toute simulation en laboratoire et leur présence ne saurait être occultée. De nombreuses pistes sont envisageables pour des études futures.

Si les conditions alcalines de la serpentinisation liées aux volcans de boue des arcs intraocéaniques favorisent certainement la réactivité des acides aminés, elles sont très probablement peu efficaces en ce qui concerne l'accumulation de nucléotides sur les phyllosilicates que nous avons testés. Dans ces conditions alcalines, il serait alors intéressant de tester d'autres minéraux d'altération en feuillets tels que les hydroxydes double lamellaires (LDH) chargés positivement et ayant fait l'objet de quelques études théoriques **(Coveney et al., 2012; Swadling et al., 2013**).

Les systèmes hydrothermaux concentrent également des dépôts de sulfures, qui constituent une autre catégorie de minéraux par rapport aux phyllosilicates. Les sulfures interviennent dans des métabolismes primitifs de communautés microbiennes hydrothermales **(Brazelton et al., 2006**) et sont enrichis en métaux de transition, réputés catalyseurs de réactions prébiotiques. La chimie de surface des sulfures est plus délicate à étudier mais mérite qu'on s'y intéresse en poursuivant le type de travail complet que nous avons fourni sur les phyllosilicates.

Un autre point intéressant vient de la localisation des nucléotides sur les surfaces des phyllosilicates. Cette interaction ne se fait qu'à la surface des particules et non pas dans l'espace interfoliaire de ces minéraux. Ceci laisse à penser que la capacité de protection aux rayonnements de hautes énergies (type UV) à la surface de la Terre primitive, ou à la surface de l'actuelle Mars, serait plutôt limitée. Il serait possible d'étudier des complexes organo-minéraux anhydres par micro-spectrométrie Raman UV, développée au Laboratoire de Géologie de Lyon. Cette technique constituerait un couplage intéressant entre une méthode analytique sensible aux groupements aromatiques des nucléotides et une source d'UV susceptible de dégrader les nucléotides adsorbés. Ceci permettrait d'analyser *in situ* la complexation et la préservation de nucléotides à la surface des phyllosilicates, dans des conditions simulant plutôt les environnements émergés et peu hydratés des corps planétaires primitifs ou de planètes actuelles ne possédant pas d'hydrosphère globale (Mars par exemple). Cela pourrait constituer une alternative aux études d'exposition et de préservation de molécules organiques à bord de la station spatiale internationale (**Bertrand et al., 2012; Cottin et al., 2012; Noblet et al., 2012; Poch et al., 2015**).

D'autre part, la glycine est le seul acide aminé ne possédant pas de chaîne latérale. Il a été montré qu'en solution aqueuse, à forte température, les acides aminés protéinogènes

s'assemblent non seulement par des liaisons peptides mais également par l'établissement de liaisons non peptidiques faisant intervenir les chaînes latérales de ces molécules. Ceci conduit à la formation de molécules complexes qualifiées de condensats non-protéiques **(Chandru et al., 2013**), considérés comme indésirables dans le processus d'évolution chimique des briques élémentaires du vivant. On peut envisager de reproduire notre étude avec un assemblage d'acides aminés protéinogènes. On peut faire l'hypothèse que, comme pour la glycine, des pH alcalins, des fortes pressions et/ou la présence de surfaces minérales puissent favoriser la formation majoritaire de liens peptidiques, limitant la formation de condensats non-peptidiques.

Enfin, la serpentinisation paraissant être un contexte favorable à la complexification des acides aminés, il serait envisageable de coupler les expériences d'analyse *in situ* de serpentinisation de cristaux d'olivine en solution aqueuse (**Andreani et al., 2013**) avec le suivi de la polymérisation de glycine en conditions hydrothermales dans le même système fermé.

Références

Andreani M., Daniel I. and Pollet-Villard M. (2013) Aluminum speeds up the hydrothermal alteration of olivine. *Am. Mineral.* **98**, 1738–1744.

Bertrand M., Chabin A., Brack A., Cottin H., Chaput D. and Westall F. (2012) The PROCESS Experiment: Exposure of Amino Acids in the EXPOSE-E Experiment on the International Space Station and in Laboratory Simulations. *Astrobiology* **12**, 426–435.

Brazelton W. J., Schrenk M. O., Kelley D. S. and Baross J. A. (2006) Methane- and sulfur-metabolizing microbial communities dominate the lost city hydrothermal field ecosystem. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 6257–6270.

Chandru K., Obayashi Y., Kaneko T. and Kobayashi K. (2013) Formation of amino acid condensates partly having peptide bonds in a simulated submarine hydrothermal environment. *Viva Orig.* **41**, 24–28.

Cottin H., Guan Y. Y., Noblet A., Poch O., Saiagh K., Cloix M., Macari F., Jérome M., Coll P., Raulin F., Stalport F., Szopa C., Bertrand M., Chabin A., Westall F., Chaput D., Demets R. and Brack A. (2012) The PROCESS Experiment: An Astrochemistry Laboratory for Solid and Gaseous Organic Samples in Low-Earth Orbit. *Astrobiology* **12**, 412–425.

Coveney P. V., Swadling J. B., Wattis J. A. D. and Greenwell H. C. (2012) Theory, modelling and simulation in origins of life studies. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 5430–46.

Noblet A., Stalport F., Guan Y. Y., Poch O., Coll P., Szopa C., Cloix M., Macari F., Raulin F., Chaput D. and Cottin H. (2012) The PROCESS Experiment: Amino and Carboxylic Acids Under Mars-Like Surface UV Radiation Conditions in Low-Earth Orbit. *Astrobiology* **12**, 436–444.

Poch O., Jaber M., Stalport F., Nowak S., Georgelin T., Lambert J.-F., Szopa C. and Coll P. (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.

Swadling J. B., Suter J. L., Greenwell H. C. and Coveney P. V (2013) Influence of surface chemistry and charge on mineral-RNA interactions. *Langmuir* **29**, 1573–83.