

# Le Cristal et le Vivant : rencontre de la cristallographie et de la microbiologie



Karim Benzerara

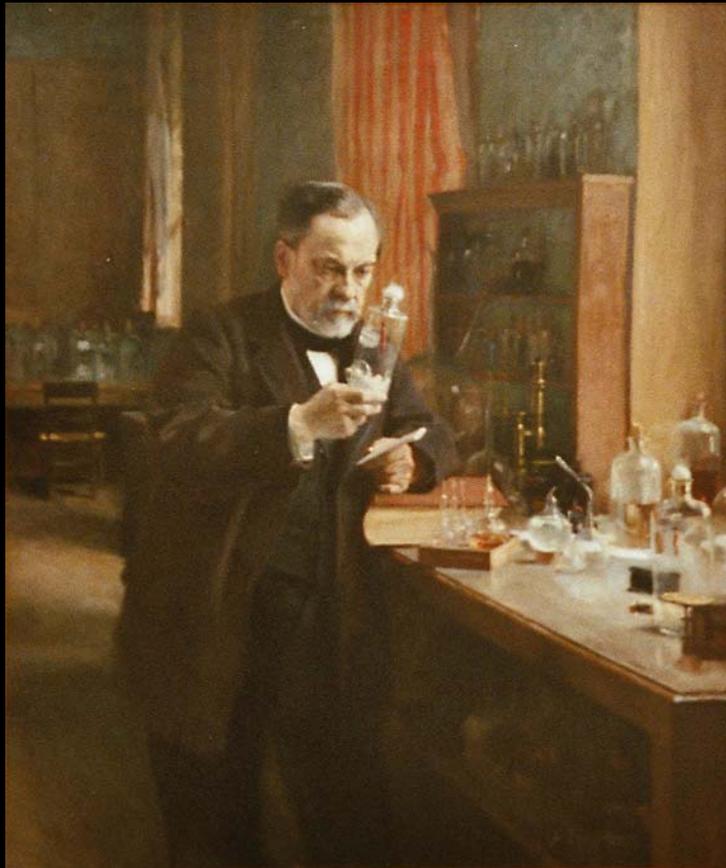
Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux, et de Cosmochimie (IMPMC)

Sorbonne Universités

CNRS UMR 7590, UPMC Univ Paris 06, Muséum National d'Histoire Naturelle, IRD

## Une rencontre déjà ancienne entre deux disciplines

**Louis Pasteur (1822-1895) :**  
Pionnier de la microbiologie  
Cristallographe-chimiste



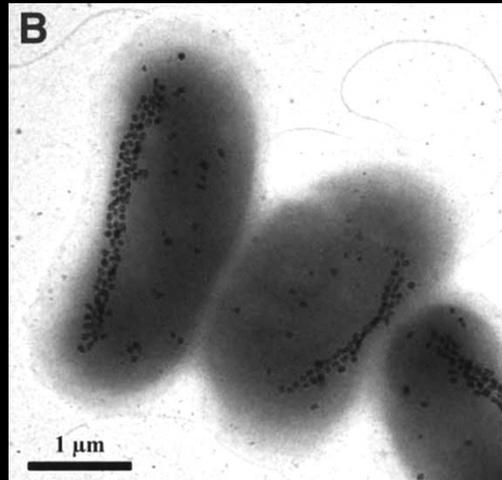
*Portrait de Louis Pasteur, A. Edelfelt, 1885, Musée d'Orsay*

**Christian Gottfried Ehrenberg (1795-1876):**  
Professeur de médecine à Berlin  
Découvre des bactéries formant des oxydes de Fer

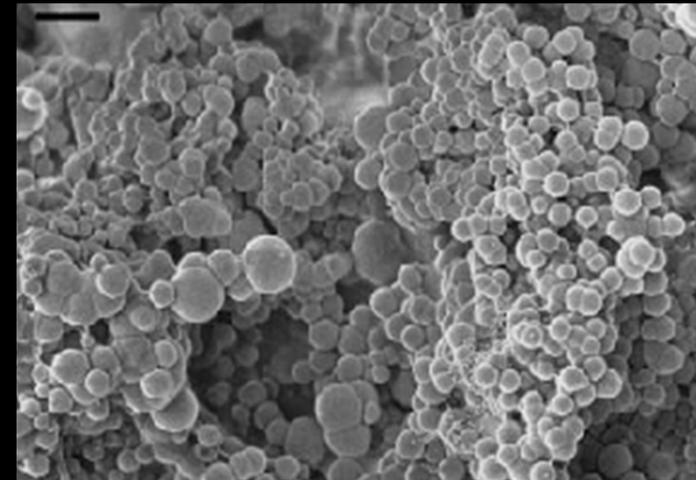


*Christian Gottfried Ehrenberg, E. Radke, 1855*

# Les Bactéries peuvent former une très grande diversité de minéraux



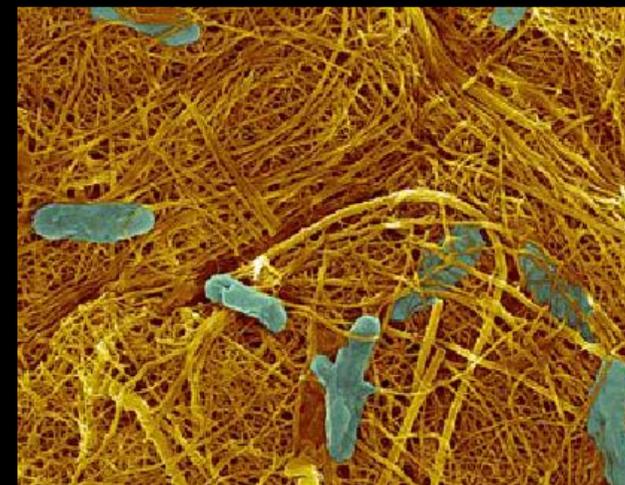
Magnétites ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) et Greigite ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ )  
*Lefevre et al. (2011) Science 334, 1720-1723*



Sphalérite ( $\text{ZnS}$ )  
*Banfield et al. Science 290 (2000) 1744*



Carbonates amorphes de Ca, Sr, Ba, Mg  
*Couradeau et al. Science (2012)*



Nanotubes d'Orpiment ( $\text{As}_2\text{S}_3$ )  
*Lee et al. PNAS 104 (2007) 20410.*

Ce processus de biominéralisation a façonné la surface de la Terre pendant des milliards d'années en modifiant les cycles globaux des éléments chimiques



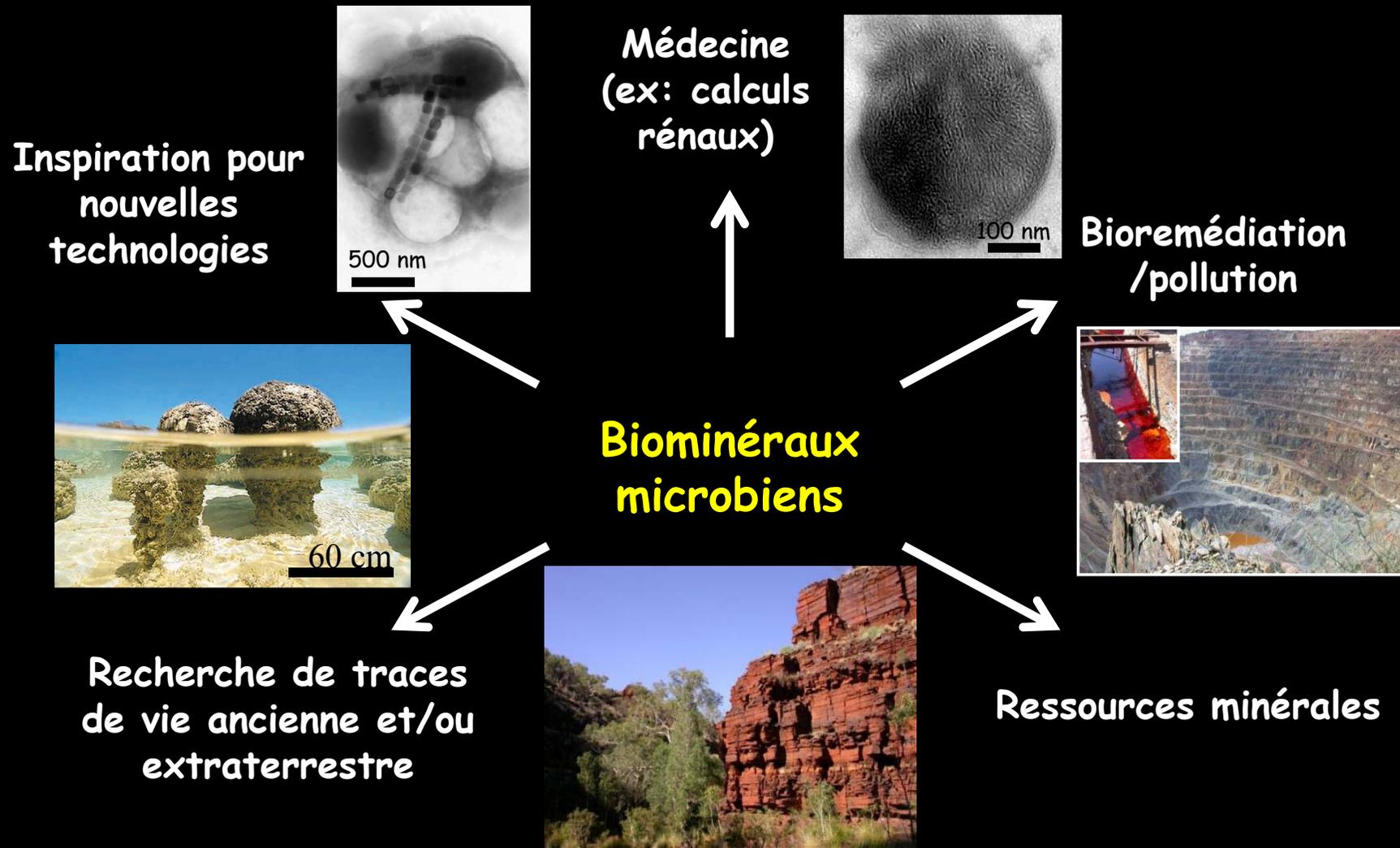
Les microorganismes sont partout

Ils sont apparus il y a 3.8 (?) milliards d'années

Ils catalysent de nombreuses réactions d'oxydo-reduction notamment d'éléments variés

Quel est le devenir d'une planète avec ou sans Vie?

# La formation de minéraux par les microorganismes intéresse de nombreuses disciplines scientifiques



## Comment les bactéries font elles des minéraux ?

★ En modifiant la composition chimique de la solution et en élevant sa sursaturation par rapport à la phase minérale qui précipite :

*Dans des compartiments subcellulaires (ex. vésicule), dans la paroi ou en dehors de la cellule*

★ En diminuant la barrière d'activation qui limite la nucléation minérale

*Implication de biomolécules qui interagissent avec les minéraux en croissance*

→ Quand des gènes sont impliqués spécifiquement  
: biominéralisation contrôlée

→ Quand il y a des modifications non spécifiques de l'environnement  
: biominéralisation induite

*Bactéries, magnétites et Vie sur Mars*

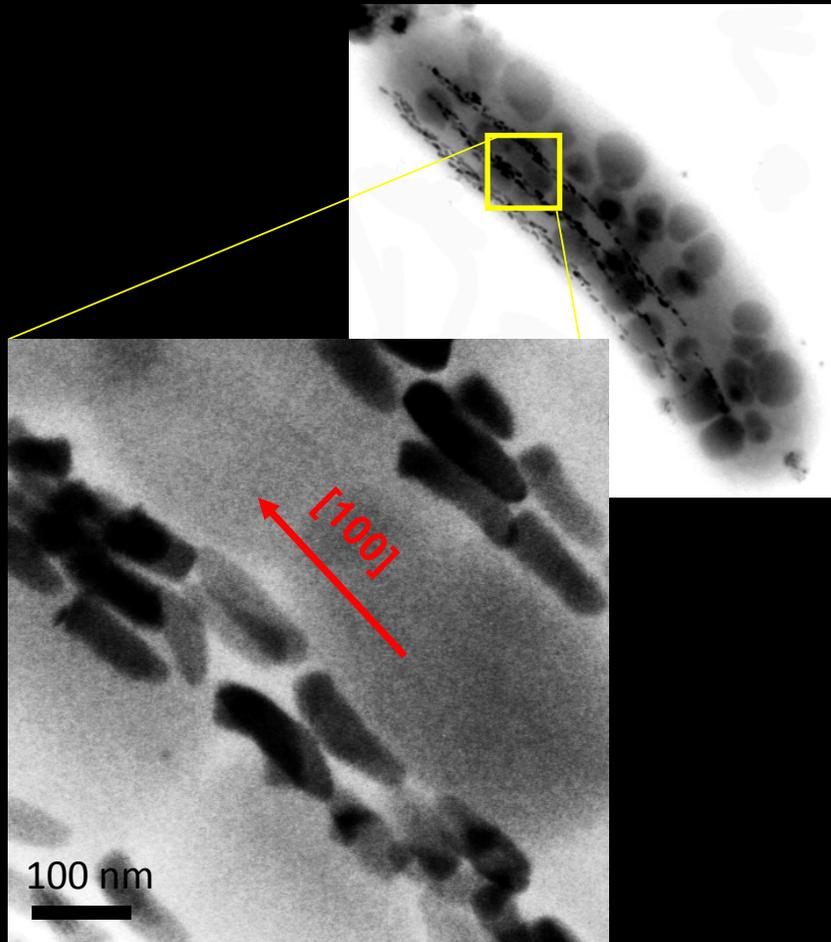
## Magnetotactic Bacteria In Lake Chiemsee Sediments

Biomagnetism Group  
LMU - München

Les bactéries magnétotactiques sont capables de se déplacer en suivant les lignes  
du champ magnétique environnant

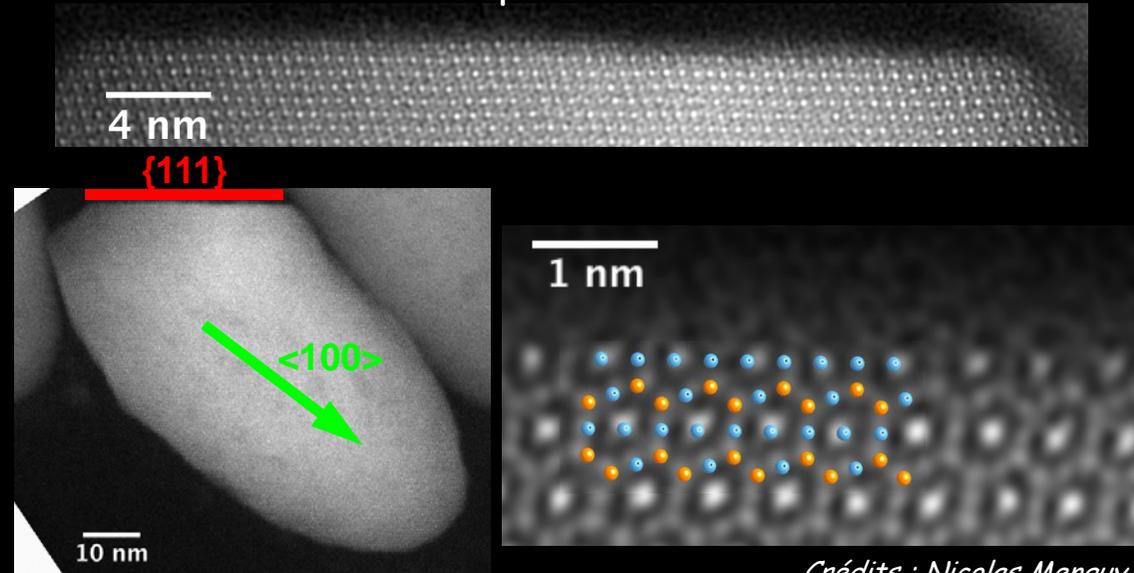
# Les bactéries magnétotactiques contrôlent la formation intracellulaire de magnétites ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )

Souche MYR-1 : lac Miyun (Chine)



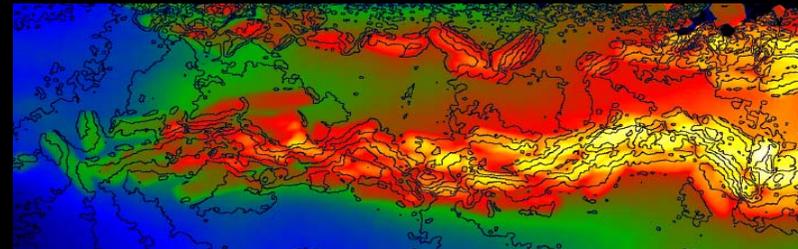
Li et al. EPSL 2010

STEM-HAADF avec correction de l'aberration de sphéricité



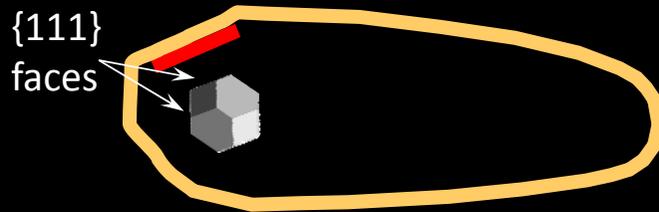
Crédits : Nicolas Menguy

Holographie électronique

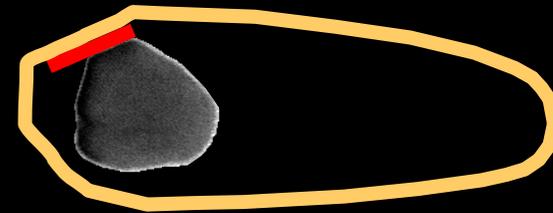


Les lignes de champ magnétique sont alignées avec l'axe d'élongation  $\langle 100 \rangle$  des magnétites et la direction d'alignement des magnétites

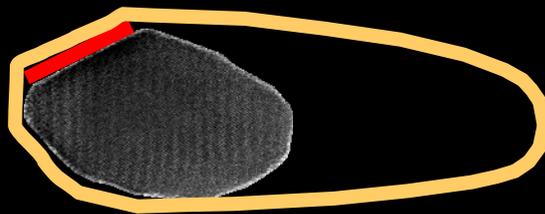
# Les bactéries magnétotactiques contrôlent la direction de croissance des magnétites



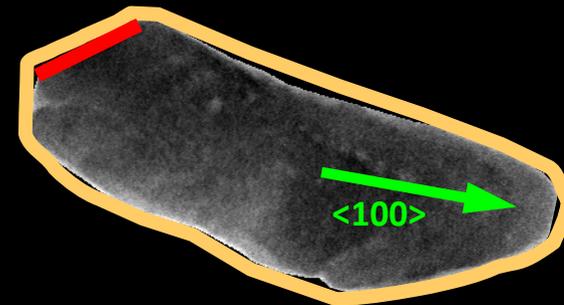
1. Formation d'un cuboctaèdre



2. « Sélection » d'une face {111}



3. Développement d'une face {111}

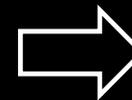


4. L'élongation selon la direction  $\langle 100 \rangle$  l'emporte

*Crédits : Nicolas Menguy*

Comment est ce que cela fonctionne?

- Des protéines interagissent avec la face {111}
- Et/ou contrôlent l'élongation selon  $\langle 100 \rangle$
- Elles peuvent être membranaires



Etude des protéines et de leurs interactions avec le minéral

# Les magnétites biogéniques ont des caractéristiques chimiques, morphologiques et structurales particulières

Difficile à faire abiotiquement

1/ Distribution en taille restreinte (30-120 nm), et morphologie définie : Magnétites monodomaines

2/ Composition chimique pure (pas d'impuretés: Ti, Cr etc...)

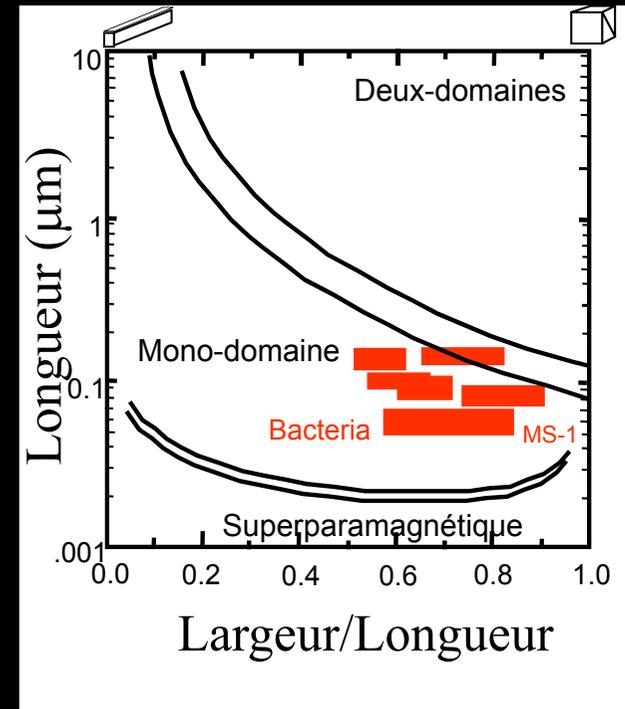
3/ Pas ou peu de défauts cristallins

4/ Organisation en chaînes linéaires

5/ Anisotropie de forme : allongée selon une direction  $\langle 111 \rangle$

6/ Alignement des magnétites selon une direction  $\langle 111 \rangle$

→ maximisation du moment magnétique

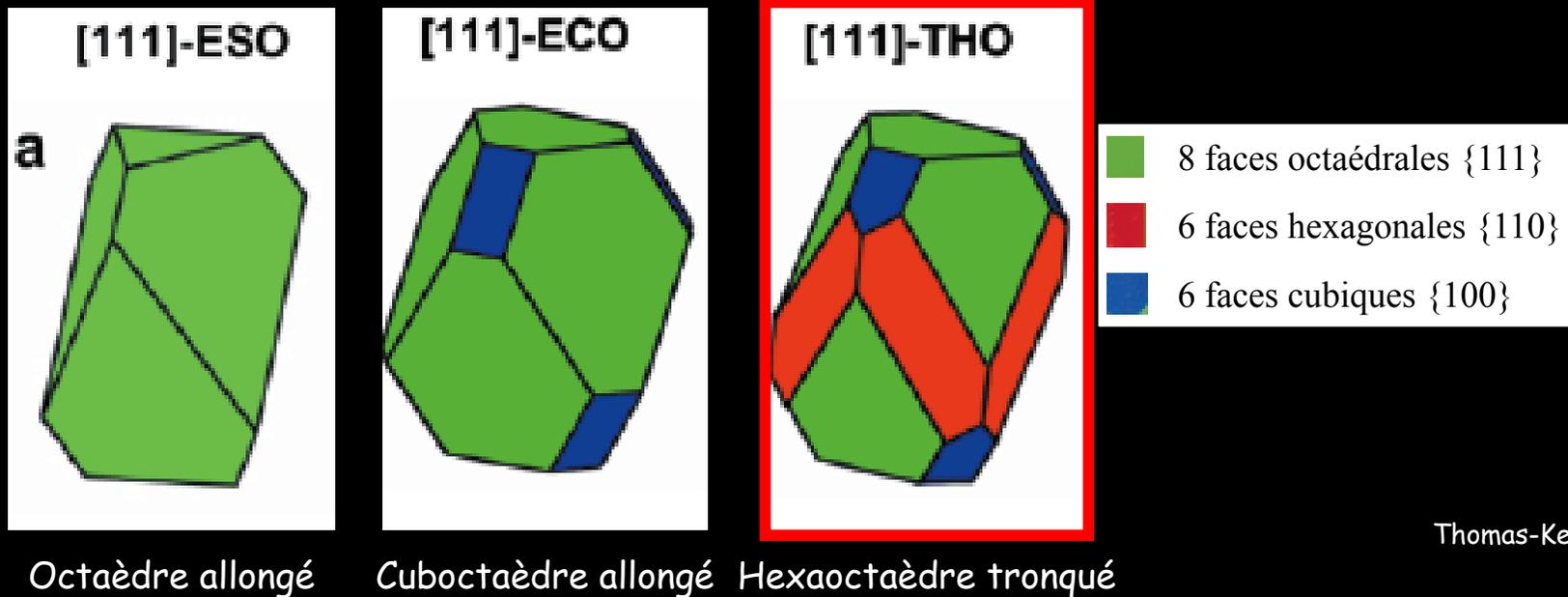


★ Intéressant pour des applications technologiques

★ Signature du vivant?

# Morphologie particulière des magnétites de la souche bactérienne MV-1

Ces bactéries forment plusieurs formes de magnétite avec différentes troncutures

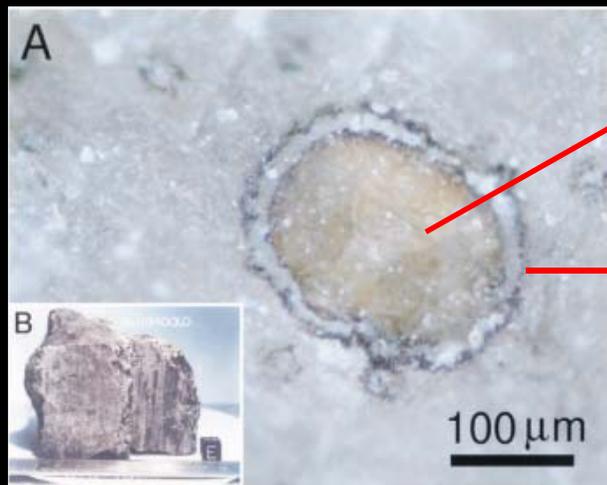


Thomas-Keprta et al. (2002)

Hexaoctaèdres tronqués (face {110}) = « signature » biogénique

# Magnétites et traces de vie sur Mars

ALH 84001, Météorite martienne ramassée en Antarctique



Globule de (Fe,Mg)-carbonate  
+ quelques magnétites

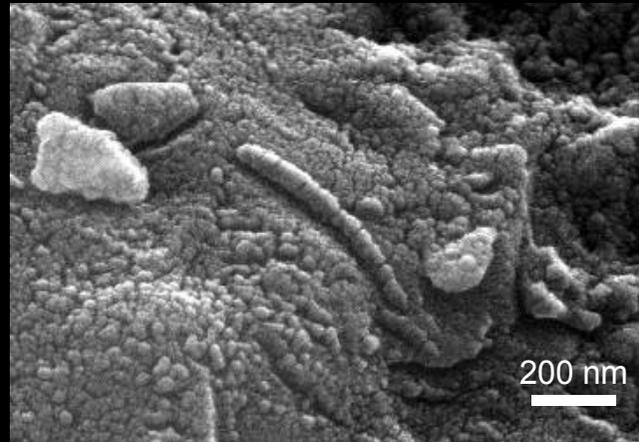
Magnétites dans matrice  
de Fe,Mg-carbonates

*MacKay et al. (1996)*

D'après MacKay *et al.* (1996) et Thomas-Keprta *et al.* (2002), magnétites d'ALH84001 partagent des caractéristiques uniques avec celles de la souche bactérienne magnétotactique MV-1

# Des traces de vie fossiles dans une météorite martienne

ALH84001 - météorite martienne



Bradenton Herald  
*Life Found In*

1996  
*Skeptical*  
*The New York Times*

The New York Times, 8 Aout 1996  
*Life In Mars Meteorite*

The New York Times, 14 Mars 1997:

*Study Backs Idea That Mars Meteorite Hints of Life*  
*Des chercheurs ont découvert des traces de vie primitive sur Mars*

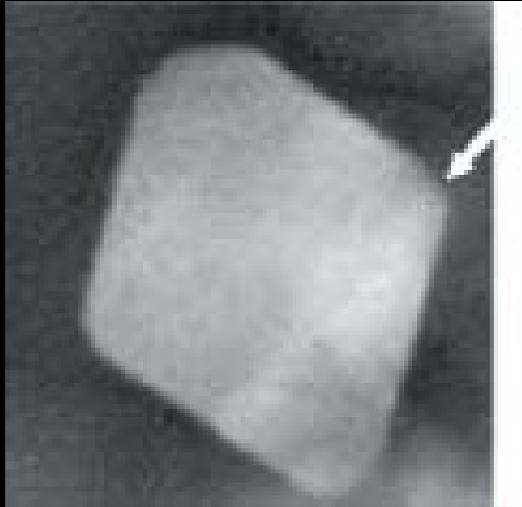
*Une vie primitive sur Mars*  
*Mars Rock Is Showing Signs of Life*

Bill Clinton, White House, 7 Aout 1996: "Today, rock 84001 speaks to us across all those billions of years and millions of miles. It speaks of the possibility of life"

"The fact that something of this magnitude is being explored is another vindication of America's space program and our continuing support for it, even in these tough financial times"

## ALH 84001 : Hexa-octaèdres tronqués?

Image MET  
Haute résolution

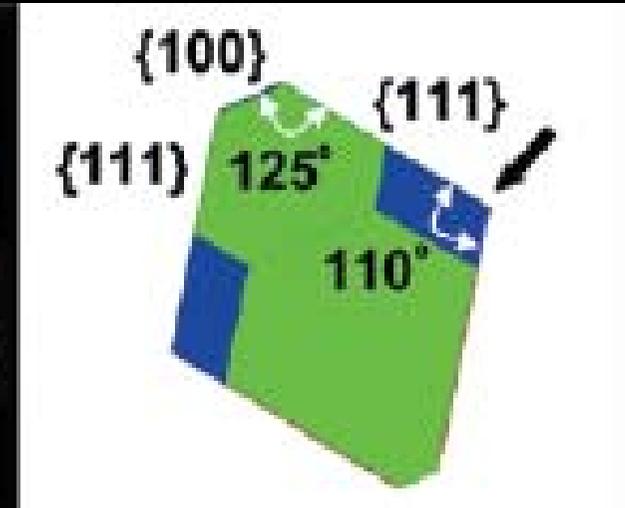


Interprétation biotique  
(Thomas-Keprta et al.)



Hexa-Octaèdre Tronqué

Interprétation abiotique  
(Golden et al., 2004)



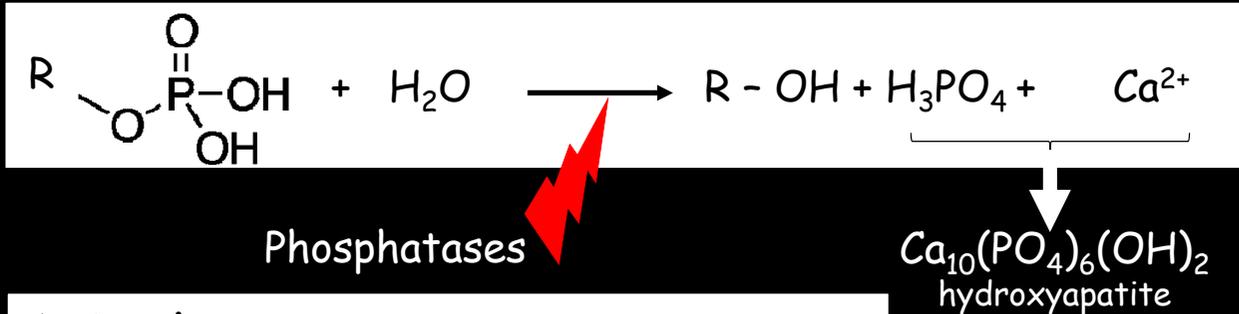
Cubo-Octaèdre allongé

- faces octaédrales {111}
- faces hexagonales {110}
- faces cubiques {100}

D'après Golden et al. (2004), les faces {110} sont des arêtes, d'après Thomas-Keprta et al. (2002) ce sont des petites faces

**Il existe des problèmes méthodologiques**

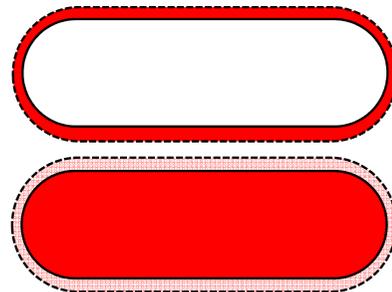
# Des OGM pour étudier la biominéralisation de l'hydroxyapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )



## ★ Souche sauvage:



## ★ Souches mutantes :



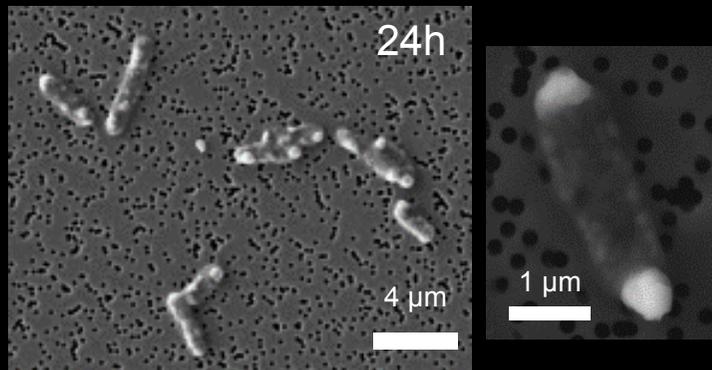
 Niveau basal d'expression

 Surexpression de l'enzyme

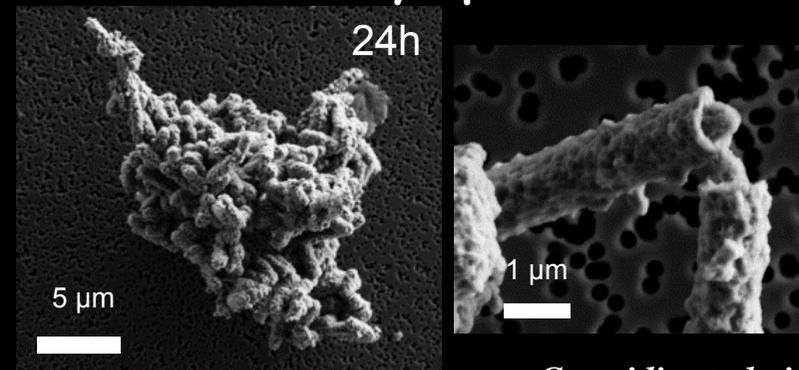
Etude de la cristallogenèse  
chez les différents mutants

# La surexpression de la phosphatase induit la calcification

Sauvage

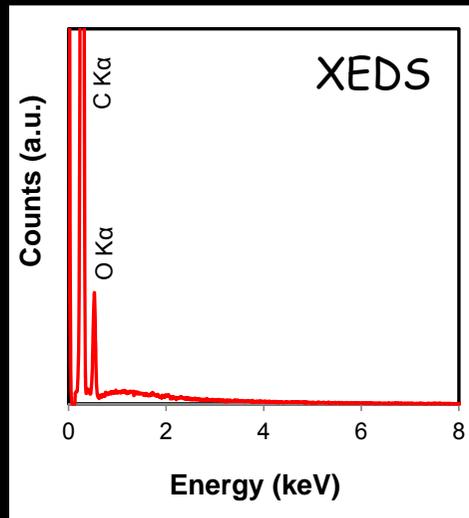


Mutant surexprimant la phosphatase dans le cytoplasme

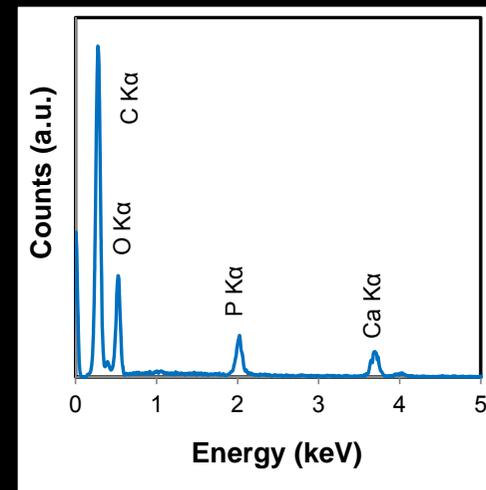


Microscopie électronique à balayage

*Cosmidis et al., in prep*



Pas de précipitation



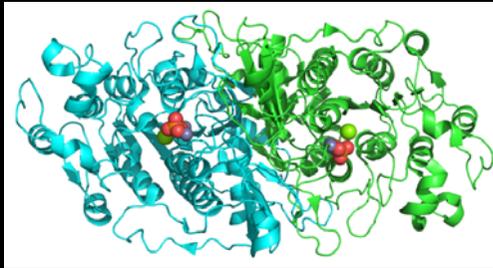
Précipitation d'hydroxyapatite

Ca/P ~ 1,4

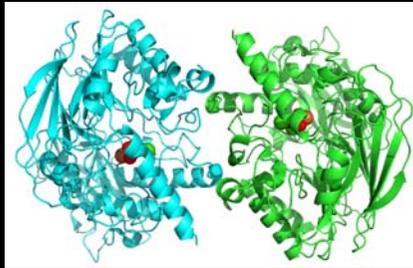
Hydroxyapatite nanocristalline, déficiente en Ca, orientation cristallographique selon l'axe *c* dans la paroi des cellules

# Quelles espèces bactériennes induisent le plus la précipitation d'hydroxyapatite?

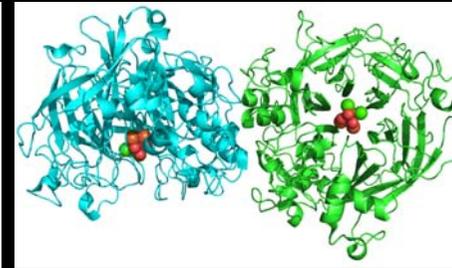
PhoA



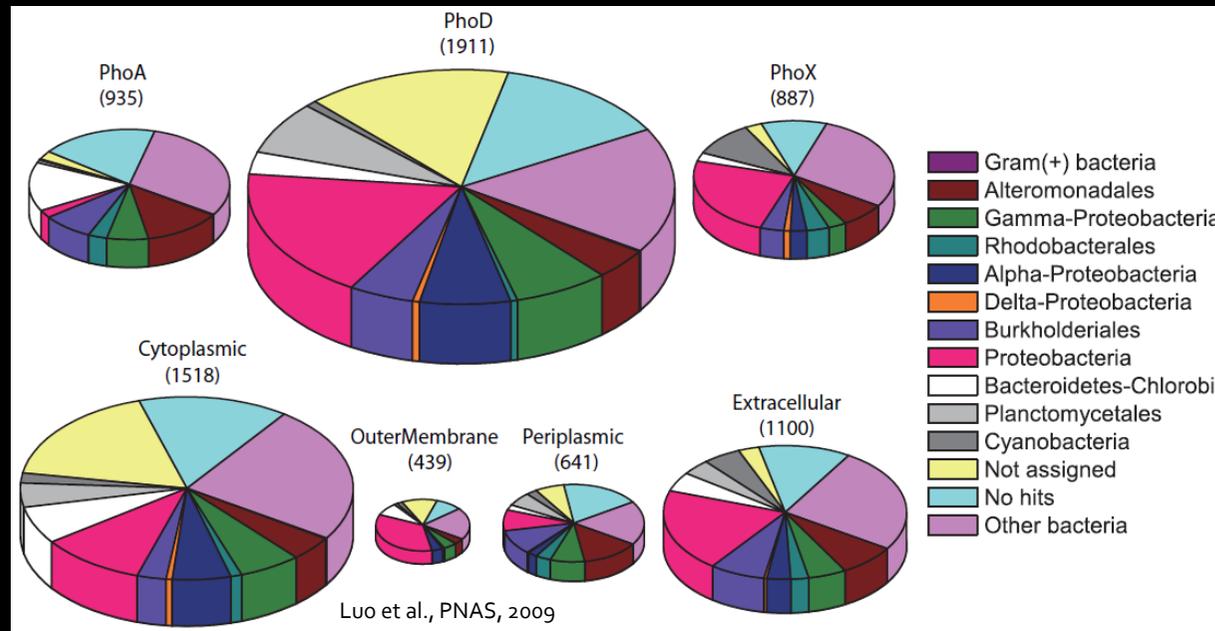
PhoD



PhoX

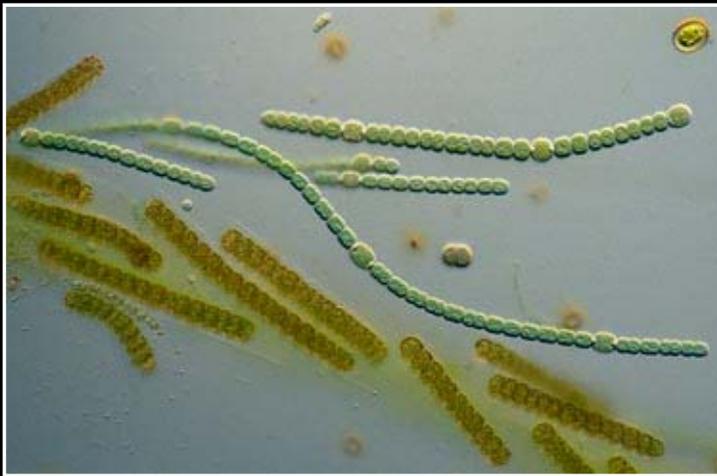


Importance de la diversité du vivant. Besoin de la génomique  
→ Mariage du minéralogiste avec les bioinformaticiens!



## Un défi majeur de la biominéralogie : l'étude de phases amorphes

Cyanobactéries = bactéries très importantes réalisant la photosynthèse oxygénique



Cyanobactéries (*Anabaena*) microscopie optique



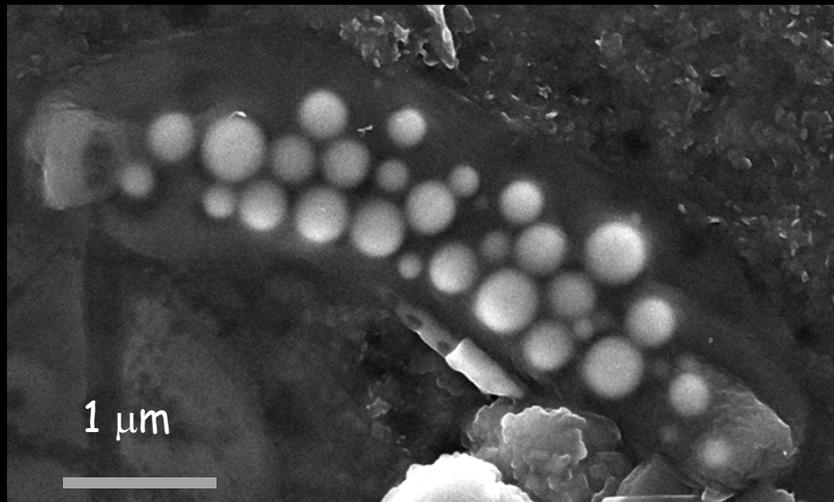
Bloom de Cyanobactéries dans une mare

- ★ Producteurs majeurs de carbone organique pendant des milliards d'années
- ★ Ont permis l'oxygénation de l'atmosphère il y a 2.3 Ga
- ★ Induisent la précipitation de carbonate de calcium

Jusqu'ici, précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par les cyanobactéries  
était considérée comme exclusivement extracellulaire

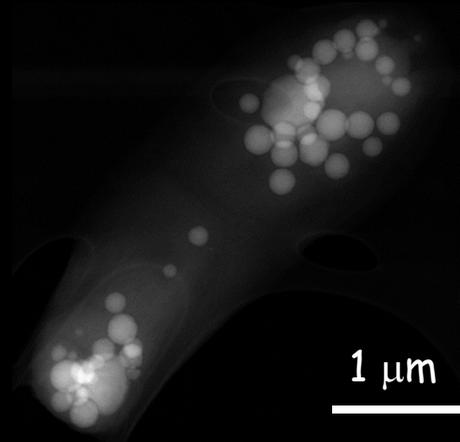


Mais, nous avons découvert des cyanobactéries formant des  
carbonates de calcium intracellulaires

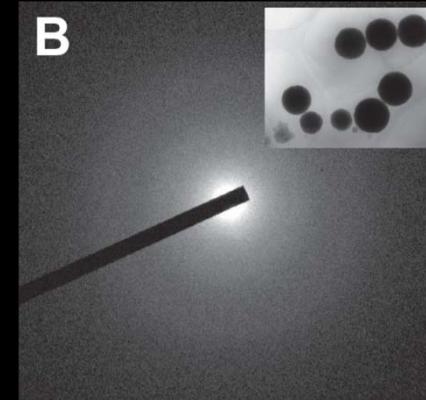
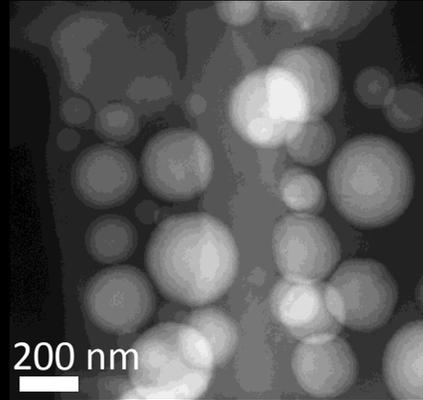


Couradeau et al., Science 2012

## Ces carbonates sont très mal cristallisés



STEM mode HAADF



Diffraction électronique en sélection d'aire

### Carbonates de calcium amorphes = fréquents chez le vivant:

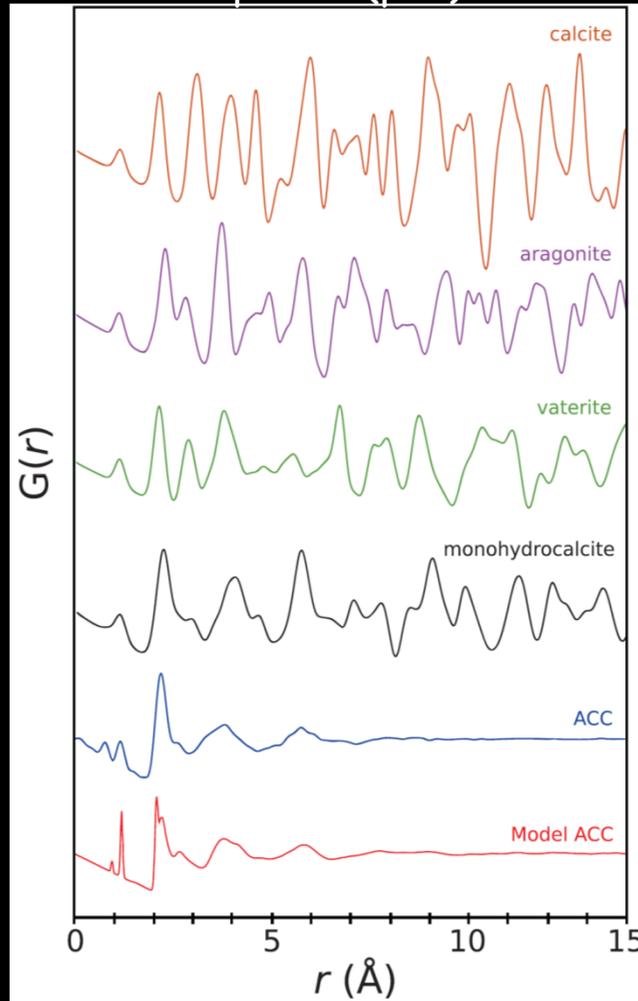
- Source facilement remobilisable de carbone inorganique
- « Brique » façonnable pour la synthèse de structures minérales avec des morphologies particulières...

#### Questions :

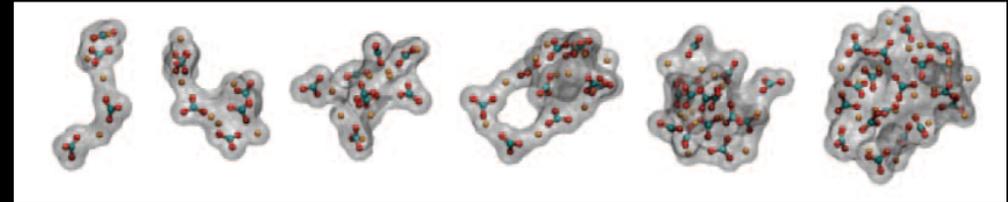
Y a-t-il une structure à courte distance contrôlant les propriétés de ces phases? Contrôlant leur devenir lors de la cristallisation?

# Cristallographie des carbonates « amorphes »

Fonction totale de distribution de paires (pdf)



Wallace et al., Science 2013



Simulation en dynamique moléculaire des premiers agrégats de carbonates hydratés

Ordre à moins de 15 Å

Besoin de connaître les propriétés thermodynamiques de ces phases pour modéliser leur formation

## Conclusions

- ★ Une diversité de bactéries forment une diversité de minéraux
- ★ Le contrôle biologique se fait sur la sursaturation des solutions, la nucléation et la croissance des cristaux
- ★ Ces processus conduisent à la formations de structures minérales uniques
- ★ Les minéraux formés ont un impact sur la biologie des microorganismes
  
- ★ Ces systèmes ouvrent des défis nouveaux :
  - Appréhender la diversité du vivant
  - Appréhender des systèmes dynamiques avec de forts gradients et déséquilibres à nano-échelle ainsi que de nombreuses boucles de régulation
  - Etudier des phases sans structures à longue distance
  
  - Besoin de coupler microbiologie, génomique, approche naturaliste et cristallographie

## Remerciements

L'union internationale de cristallographie et en particulier les organisateurs

Nicolas Menguy : IMPMC et G. Patriarche au LPN, Marcoussis, France

Julie Cosmidis, Jinhua Li : former and current PhD students/postdocs

Elodie Duprat, Fériel Skouri, Céline Férard : IMPMC

Alejandro Fernandez-Martinez : ISTerre Grenoble



Une partie des travaux présentés ici ont reçu un financement du Conseil Européen de la Recherche (ERC) dans le cadre du 7eme Programme cadre de l'Union européenne :

ERC Calcyan grant (PI: K. Benzerara)