

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et les Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière : Science biologiques**

**Spécialité : Biochimie appliquée**

**Par : AMINI Rayene**

**Thème**

**Étude *in silico* de l'isoaspartyl peptidase  
d'*Arthrospira platensis* pour des applications  
anticancéreuses**

**Soutenu publiquement, le 15/06/2025 devant le jury composé de :**

M. KHENE Mohammed Amine	Maitre de conférences B	Univ. Ghardaia	Président
M. BAKLI Mahfoud	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaia	Directeur de mémoire
M. LINANI Abderahmane	Maitre de conférences B	Univ. Ghardaia	Examineur

**Année universitaire : 2024/2025**

## **Remerciements**

En premier lieu, je remercie Dieu, le Tout-Puissant, pour m'avoir donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Mes remerciements vont tout particulièrement à Monsieur BAKLI Mahfoud, mon directeur de mémoire, pour sa disponibilité, ses conseils avisés et ses encouragements constants. Son regard formateur et sa rigueur méthodologique ont grandement contribué à l'avancement de ce travail. Sous sa direction, j'ai pu progresser non seulement sur le plan scientifique, mais aussi développer des qualités essentielles telles que la discipline, l'organisation et le professionnalisme.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur Mohammed Amine KHENE et Monsieur Abderahmane LINANI, membres du jury, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer ce travail et pour l'intérêt qu'ils lui ont accordé.

Ce mémoire est l'aboutissement de cinq années d'efforts et d'apprentissage, un chemin que je n'aurais pu parcourir seule. Je tiens à remercier chaleureusement l'ensemble du personnel de la faculté des sciences de la nature de la vie et science de la terre, ainsi que tous les enseignants du département de Biologie, pour la richesse de leurs enseignements et leur engagement. Leur contribution, à la fois sur le plan théorique et pratique, a été précieuse. Je leur dois en grande partie mon évolution personnelle et académique.

## **Dédicace**

**A la mémoire de mon cher grand père,** Si aujourd'hui j'arrive au terme de ce parcours, c'est en partie grâce à vous. Bien que vous ne soyez plus là pour tourner ces pages avec moi, je sais, au plus profond de mon cœur, que vous seriez fier.

**A mon très cher père,** Votre tendresse, votre courage et votre soutien ont été ma force tout au long de ce parcours.

**A ma très chère mère,** Merci pour les valeurs que vous m'avez transmises, pour cette exigence douce qui m'a poussé à toujours donner le meilleur de moi-même.

**À mes sœurs, mon frère, mes grands-parents, ma famille et mes amis,** en leur souhaitant une vie remplie de bonheur, de santé et de succès.

## Abstract

Isoaspartyl peptidase, present in higher plants, animal and certain bacteria, plays a key role in medicine, particularly in oncology. This enzyme catalyzes the cleavage of  $\beta$ -linked Asp residues from the N-terminus of polypeptides, a mechanism that contributes to its protein repair function and potential therapeutic applications. However, enzymes derived from cyanobacteria, such as *Arthrospira platensis* (*A.platensis*), remain underexplored despite their promising biotechnological potential. This study focuses on the characterization of an isoaspartyl peptidase from *A. platensis*, analyzing its physicochemical properties, secondary structure, and structural and functional features using bioinformatics tools. The results show that the enzyme is stable, thermostable, hydrophilic, and acidic in nature. Analysis of the secondary structure, conducted with PSIPRED and SOPMA, reveals a composition of 35.35%  $\alpha$ -helices, 49.04% disordered structures (coils), and 15.61%  $\beta$ -strands. The 3D model generated by AlphaFold, compared to those obtained with LOMETS CETHREADER, SWISS-MODEL, Phyre<sup>2</sup> and I-TASSER was selected for its high quality, validated by PROCHECK, ERRAT, and Verify 3D. Functional analysis revealed an Asparaginase\_2 domain (E-value: 1.5e-107), and protein interaction analysis identified cyanophycinas as a major partner (confidence score: 0.830). Molecular docking showed anticancer potential, with asparagine displaying the best binding affinity (VINA score: -5 kcal/mol). This study represents the first comprehensive *in silico* characterization of isoaspartyl peptidase from *Arthrospira platensis*, providing detailed information on its structural, functional, and catalytic properties. Further research is essential to validate these results experimentally and explore the full biotechnological potential of the enzyme.

**keywords:** Asparaginase, *Arthrospira platensis*, physicochemical properties, functional features, 3D model.

## Résumé

L'isoaspartyl peptidase, présente chez les plantes supérieures, les animaux et certaines bactéries, joue un rôle clé en médecine, notamment en oncologie. Cette enzyme catalyse le clivage spécifique des résidus Asp liés au  $\beta$  de l'extrémité N-terminale des polypeptides, un mécanisme impliqué dans la réparation des protéines et à ses applications thérapeutiques potentielles. Cependant, les enzymes dérivées des cyanobactéries, comme *Arthrospira platensis* (*A.platensis*), restent peu explorées malgré leur potentiel biotechnologique prometteur. Cette étude se concentre sur la caractérisation d'une isoaspartyl peptidase d'*A. platensis*, en analysant ses propriétés physicochimiques, sa structure secondaire et ses caractéristiques structurales et fonctionnelles à l'aide d'outils bioinformatiques. Les analyses révèlent une enzyme stable, thermostable, de nature hydrophile et acide. La prédiction de la structure secondaire, réalisée avec PSIPRED et SOPMA, indique une proportion de 35,35 % d'hélices  $\alpha$ , 49,04 % de structures désordonnées (boucles), et 15,61 % de brins  $\beta$ . Le modèle 3D généré par AlphaFold, comparé à ceux obtenus avec LOMETS, CEThreader, SWISS-MODEL, Phyre2 et I-TASSER a été sélectionné pour sa haute qualité, validée par PROCHECK, ERRAT, et Verify 3D. L'analyse fonctionnelle a révélé un domaine Asparaginase\_2 (valeur E : 1.5e-107), et l'analyse des interactions protéiques a identifié les cyanophycinase comme un partenaire majeur (score de confiance : 0,830). Le docking moléculaire a révélé un potentiel anticancéreux prometteur, avec l'asparagine présentant la meilleure affinité de liaison (score VINA : -5 kcal/mol), Cette étude représente la première caractérisation *in silico* complète de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis*, fournissant des informations détaillées sur ses propriétés structurales, fonctionnelles et catalytiques. D'autres recherches sont essentielles pour valider ces résultats expérimentalement et explorer tout le potentiel biotechnologique de l'enzyme.

**Mots-clés :** Asparaginase, *Arthrospira platensis*, propriétés physicochimiques, caractéristiques fonctionnelles, modèle 3D.

## ملخص

يلعب انزيم إيزوأسبارتيل بيبتيدياز، الموجود في النباتات العليا والحيوانات وبعض أنواع البكتيريا، دورًا رئيسيًا في الطب، وخاصة في علم الأورام. يحفز هذا الإنزيم الانقسام النوعي لبقايا Asp المرتبطة ب- $\beta$  من الطرف الأميني للبوليببتيدات، وهي آلية تشارك في إصلاح البروتين وتطبيقاته العلاجية المحتملة. ومع ذلك، فإن الإنزيمات المشتقة من البكتيريا الزرقاء، مثل *Arthrospira platensis* (*A.platensis*)، لا تزال غير مستكشفة على الرغم من إمكاناتها التكنولوجية الحيوية الواعدة. تركز هذه الدراسة على توصيف إيزوأسبارتيل بيبتيدياز من *A. platensis*، من خلال تحليل خصائصه الفيزيائية والكيميائية وبنية الثانوية وخصائصه البنيوية والوظيفية باستخدام أدوات المعلوماتية الحيوية. تكشف التحليلات عن وجود إنزيم مستقر، مقاوم للحرارة، محب للماء وحمضي بطبيعته. تشير التنبؤات بالبنية الثانوية، التي تم إجراؤها باستخدام PSIPRED و SOPMA، إلى نسبة 35.35% من البنية الثانوية الحلزونية  $\alpha$ ، و 49.04% من الهياكل غير المنظمة، و 15.61% من البنية الثانوية الوريقية  $\beta$ . تم اختيار النموذج ثلاثي الأبعاد الذي تم إنشاؤه بواسطة AlphaFold، بالمقارنة مع النماذج التي تم الحصول عليها باستخدام I-TASSER، LOMETS، CEThreader، SWISS-MODE، Phyre2، لجودته العالية، وتم التحقق من صحتها بواسطة ERRAT، PROCHECK و Verify 3D. كشف التحليل الوظيفي عن مجال Asparaginase\_2 (القيمة E: 1.5e-107)، كما حدد تحليل التفاعل البروتيني السيانوفيسيناز كشريك رئيسي (درجة الثقة: 0,830). أظهر الالتحام الجزيئي إمكانات واعدة لمكافحة السرطان، حيث أظهر الأسباراجين أفضل تقارب للارتباط (درجة -5: VINA كيلو كالوري/مول). تمثل هذه الدراسة أول توصيف شامل للحاسوب لإنزيم إيزوأسبارتيل بيبتيدياز *Arthrospira platensis*، مما يوفر معلومات مفصلة عن خصائصه البنيوية والوظيفية والتحفيزية. ومن الضروري إجراء المزيد من البحوث للتحقق من صحة هذه النتائج تجريبياً واستكشاف الإمكانيات التكنولوجية الحيوية الكاملة للإنزيم.

**الكلمات المفتاحية:** إنزيم الأسباراجيناز، *Arthrospira platensis*، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، الخصائص الوظيفية، نموذج ثلاثي الأبعاد.

# Table des matières

<b>Liste des figures</b> .....	<b>vii</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>viii</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>ix</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Revue bibliographique</b> .....	<b>3</b>
1. L-aspartyle et L-asparaginyle .....	3
2. Asparaginase.....	3
2.1. Classification des L-asparaginases .....	3
2.2. Mécanisme d'action .....	4
3. Isoaspartyl peptidase .....	5
3.1. Histoire et découverte .....	5
3.2. Isoaspartyl peptidase et leur classification.....	6
3.3. Aspects biologiques .....	6
3.4. Aspect structural .....	7
3.5. Caractéristiques distinctives .....	8
3.6. Application des isoaspartyl peptidase / asparaginase .....	8
4. <i>Arthrospira platensis</i> .....	9
4.1. Définition .....	9
4.2. Histoire.....	10
4.3. Classification taxonomique.....	11
4.4. Cycle biologique .....	12
4.5. Morphologie.....	13
4.6. Milieu de culture.....	14
4.7. Condition de culture.....	16

4.8. Génome.....	16
4.9. Ecologie .....	17
4.10. Ingrédients fonctionnels d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	17
4.11. Applications d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	22
4.12. Activité anticancéreuse de d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	24
<b>Matériel et méthodes</b> .....	<b>26</b>
1. Récupération et analyse de la séquence protéique.....	26
2. Analyse des propriétés physico-chimiques.....	26
3. Localisation subcellulaire .....	27
4. Prédiction de la solubilité protéique .....	27
5. Analyse de la structure secondaire.....	27
6. Analyse de la structure tertiaire .....	28
6.1. Prédiction de la structure tertiaire .....	28
6.2. Raffinement de la structure tertiaire prédite .....	28
6.3. Validation des structures tertiaires.....	28
7. Analyse fonctionnelle .....	29
7.1. Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés.....	29
7.2. Identification de motifs fonctionnels dans la séquence protéique .....	29
7.3. Interactions protéine-protéine .....	29
7.4. Docking moléculaire et Analyse de site actif .....	30
<b>Résultats et discussion</b> .....	<b>33</b>
1. Récupération et analyse de la séquence protéique.....	33
2. Analyse des propriétés physico-chimiques.....	33
3. Localisation subcellulaire .....	36
4. Prédiction de la solubilité protéique .....	36
5. Analyse de la structure secondaire.....	37
6. Analyse de la structure tertiaire .....	39

6.1. Prédiction de la structure tertiaire .....	39
6.2. Raffinement des structures tertiaire prédite .....	39
6.3. Validation des structures tertiaires.....	39
7. Analyse fonctionnelle .....	43
7.1. Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés.....	43
7.2. Recherche de motifs protéiques .....	44
7.3. Interactions protéine-protéine .....	45
7.4. Docking moléculaire et Analyse de site actif .....	46
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>55</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>56</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>I</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Activité asparaginase et isoaspartyl aminopeptidase des asparaginases végétales conduisant à la formation d'aspartate.....	7
<b>Figure 2.</b> Analyse logarithmique de la cyanobactérie <i>Arthrospira platensis</i> dans la hiérarchie des tailles cellulaires.....	10
<b>Figure 3.</b> Organisation subcellulaire d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	11
<b>Figure 4.</b> Cycle biologique de l' <i>Arthrospira platensis</i> .....	13
<b>Figure 5.</b> Représentation microscopique d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	14
<b>Figure 6.</b> Composition chimique d' <i>Arthrospira platensis</i> sur la base du poids sec et types d'acides aminés, de vitamines et de minéraux d' <i>A. platensis</i> .....	18
<b>Figure 7.</b> Bioactivités d' <i>Arthrospira platensis</i> et son application dans les industries alimentaires, de la santé et de l'alimentation animale.....	24
<b>Figure 8.</b> Résultats de la prédiction de la localisation subcellulaire de la protéine isoaspartyl peptidase (A0A3P3ZKS9) d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	36
<b>Figure 9.</b> Diagrammes d'hydropathie et de charge nette utilisée pour prédire la solubilité de l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> via le serveur SOSUI.....	37
<b>Figure 10.</b> Prédiction de la structure secondaire de l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> par le serveur PSIPRED.....	38
<b>Figure 11.</b> Résultats de la validation du model structuraux de phyre <sup>2</sup> par le diagramme de Ramachandran généré par PROCHECK (serveur SAVES).....	41
<b>Figure 12.</b> Validation de a qualité structural du model généré par AlphaFold.....	42
<b>Figure 13.</b> Structure 3D raffinée de l'enzyme isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> , générée par AlphaFold.....	43
<b>Figure 14.</b> Analyse du domaine de l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> à l'aide du programme CDD.....	43
<b>Figure 15.</b> Identification <i>in silico</i> des motifs fonctionnels conservés de l'isoaspartyl peptidase d' <i>A. platensis</i> par MOTIF Finder.....	44
<b>Figure 16.</b> Analyse du réseau d'interactions protéine-protéine de la protéine isoaspartyl peptidase identifiée à l'aide de la base de données STRING.....	45
<b>Figure 17.</b> Diagramme 2D illustrant les différents types d'interactions entre les résidus de l'enzyme isoaspartyl peptidase d' <i>A.platensis</i> et les différents ligands, tels qu'observés dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer.....	49
<b>Figure 18.</b> Analyse de l'interaction moléculaire entre le ligand asparagine et le récepteur enzymatique de l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	50
<b>Figure 19.</b> Mécanisme d'action de l'enzyme L-asparaginase.....	51

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Types d'asparaginases bactériennes : caractéristiques, fonctions et applications. ..	<b>4</b>
<b>Tableau 2.</b> Asparaginases végétales : caractéristiques, fonctions et applications.....	<b>4</b>
<b>Tableau 3.</b> Position taxonomique d' <i>Arthrospira platensis</i> . .....	<b>12</b>
<b>Tableau 4.</b> Composants utilisés dans le médium de Zarrouk.....	<b>15</b>
<b>Tableau 5.</b> Teneur moyenne et principales fonctions des pigments de l' <i>Arthrospira platensis</i> . .....	<b>21</b>
<b>Tableau 6.</b> Les caractéristiques chimiques des ligands sélectionnés pour l'amarrage moléculaire du récepteur de l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> . .....	<b>32</b>
<b>Tableau 7.</b> Propriétés de la séquence requête de l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira Platensis</i> . .....	<b>33</b>
<b>Tableau 8.</b> Propriétés physicochimiques de l'isoaspartyl d' <i>Arthrospira Platensis</i> . .....	<b>33</b>
<b>Tableau 9.</b> Identification des régions hydrophobes et de leur localisation dans la séquence de l'isoaspartyl peptidase d' <i>A.platensis</i> à l'aide de l'outil ProtScale.....	<b>36</b>
<b>Tableau 10.</b> Prédiction de la structure secondaire de l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> par SOPMA.....	<b>38</b>
<b>Tableau 11.</b> Analyse du tracé de Ramachandran des modèles d'isoaspartyle peptidase d' <i>A.platensis</i> générés à l'aide de l'outil PROCHECK. ....	<b>40</b>
<b>Tableau 12.</b> Partenaires protéiques fonctionnels prédits par l'isoaspartyl peptidase d' <i>Arthrospira platensis</i> . .....	<b>46</b>
<b>Tableau 13.</b> Énergie de liaison minimale et taille de cavité prévue pour l'isoaspartyl peptidase à l'aide des scores Vina de l'interface Web CB-DOCK. ....	<b>47</b>
<b>Tableau 14.</b> Variation des résidus du site actif et de l'affinité de liaison de l'asparaginase pour la L-asparagine chez différents organismes. ....	<b>52</b>
<b>Tableau 15.</b> Valeur Km et valeur kcat (extraite de la littérature) de l'enzyme asparaginase envers la L-asparagine de différentes espèces.....	<b>53</b>

## Liste des abréviations

**A<sup>3</sup> : Angström cube**

**AA : Acide aminé**

**AGL : Acide  $\gamma$ -linoléinique**

**AI : Aliphatic index (l'indice aliphatique)**

**AND : Acide désoxyribonucléique**

***A. platensis* : *Arthrospira platensis***

**ARN : Acide ribonucléique**

**ASRGL1 : Isoaspartyl peptidase 1**

**°C : Degré Celsius**

**CDD : Conserved Domain Database**

**CE : Coefficient d'extinction**

**CEthreader : Contact Eigenvector-based threader**

**CNP: Carcinome du nasopharynx**

**DA : Daltons**

**DHA : Acide docosahexaénoïque**

**DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane**

***E. Coli* : *Escherichia coli***

**ECAIII : *E. coli* Amidohydrolase III**

**EPA : Acide eicosapentaénoïque**

**ERK : Extracellular Signal-Regulated Kinase**

**ERO : Espèces réactives de l'oxygène**

**eNOS : Oxyde nitrique synthase endothéliale**

**ExPASy : Expert Protein Analysis System**

**FASTA : FAST Alignment**

**g : grammes**

**GABA : Acide gamma-aminobutyrique**

**Gravy : Grand Average of Hydropathy (Grande moyenne d'hydropathie)**

**I-TASSER : Iterative Threading ASSEMBly Refinement**

**IaaA : Isoaspartyl peptidase**

**IadA : Isoaspartyl dipeptidase**

**II : Indice d'instabilité**

**Kcal : Kilocalorie**

**Kcat : Constante catalytique**

**Km : Constante de Michaelis-Menten**

**LAL : Leucémie aiguë lymphoblastique**

**LIA : *Lupinus luteus* Amidohydrolase**

**LOMETS : Local Meta-Threading-Server**

**Max, Min : Maximum, Minimum**

**mg : Milligramme**

**mM : Millimolaire**

**MW : Molecular weight (poids moléculaire)**

**NCBI : National Center for Biotechnology Information**

**PDB : Protein Data Bank**

**PFAM : Protein families**

**pH : Potentiel hydrogène**

**Phyre<sup>2</sup> : Protein Homology/analogY Recognition Engine V 2.0**

**pI : point isoélectrique**

**PSIPRED : PSI-BLAST-based secondary structure PREDiction**

**R+/-R : Nombre de résidus chargés positivement / négativement**

**ReA : *Rhizobium etli***

**SDS PAGE : Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis**

**SAVES : Structural Analysis and Verification Server**

**SDF : Structured Data File**

**shRNA : ARN court en épingle à cheveux**

**SOD : Superoxyde dismutase**

**SOPMA : Self-Optimized Prediction Method with Alignment**

**STRING : Search Tool for the Retrieval of Inter- acting Genes/Proteins**

**TNT : Trinitrotoluène**

**Uniprot : the Universal Protein resource**

**3D : tridimensionnelle**

**μm : Micromètre**

# *Introduction*

## Introduction

Les protéines synthétisées subissent fréquemment des transformations chimiques qui influencent profondément leur comportement cellulaire. Des phénomènes de désamidation et d'isomérisation concernent la transformation spontanée de certains acides aminés principalement l'asparagine (Asn) et l'aspartate (Asp) en isoaspartate (isoAsp) par la formation de liaisons peptidiques isoaspartyles et le processus associé à la désamidation de l'asparagine (Asn) spontanément sous des conditions physiologiques. Cette modification structurale, irréversible en l'absence d'intervention enzymatique, compromet gravement l'activité biologique des protéines concernées (Gary & Clarke, 1995; Wang *et al.*, 2022).

Pour remédier à ces modifications, il existe un système de conversion des résidus L-isoaspartate par une méthyltransférase, mais qui présente comme limites l'accessibilité aux résidus endommagés et une forte affinité pour un seul ensemble de protéines, ce qui suggère l'existence de systèmes supplémentaires de réparation, notamment des voies de catabolisme couplées à une activité isoaspartyl peptidase, qui catalysent spécifiquement l'hydrolyse des peptides contenant des résidus L-isoaspartyle, sans cliver les dipeptides aspartyles normaux (Gary & Clarke, 1995).

Sur le plan structural, les isoaspartyl peptidases restent encore peu étudiées. À ce jour, seules vingt structures tridimensionnelles de cette enzyme ont été résolues et déposées dans la Protein Data Bank (PDB, [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) (consultée le 6 mai 2025). Un grand nombre de ces protéine n'ont pas encore été entièrement purifiées ni caractérisées par rapport au nombre de séquences existantes sur la base de données UniProt (consultée le 6 mai 2025). En outre, les méthodes expérimentales utilisées pour identifier la structure tridimensionnelle des protéines sont souvent complexes, demandent un temps considérable et impliquent des coûts élevés. En revanche, les outils d'analyse structurale *in silico* constituent une alternative fiable, économique et rapide, permettant d'identifier les enzymes prometteuses et d'en faciliter l'exploitation (Bakli *et al.*, 2024).

Cette étude s'appuie sur une approche bioinformatique pour caractériser de manière approfondie l'isoaspartyl peptidase produite par *Arthrospira platensis*, une cyanobactérie filamenteuse également connue sous le nom de spiruline. Distinguée par sa forme spiralée et ses propriétés biochimiques, *A.platensis* est particulièrement prometteuse pour des études visant des utilisations thérapeutiques (Jiménez-Muñoz *et al.*, 2025).

## ***Introduction***

Le choix de cet organisme s'explique par sa capacité naturelle à produire cette enzyme spécifique, ce qui en fait un modèle biologique pertinent pour l'exploration de cette peptidase. L'objectif principal de cette étude est d'explorer les caractéristiques physico-chimiques de l'enzyme isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis*, d'examiner sa structure primaire, sa localisation subcellulaire potentielle et sa solubilité théorique. De plus, des prédictions concernant sa structure secondaire et tertiaire seront réalisées, accompagnées d'une analyse fonctionnelle incluant l'identification de domaines conservés, de motifs structuraux et de sites actifs potentiels.

*Revue*  
*Bibliographique*

# Revue bibliographique

## 1. L-aspartyle et L-asparaginyle

Les résidus d'aspartate (L-aspartyle) et d'asparagine (L-asparaginyle) jouent un rôle clé dans la dégradation spontanée des protéines. Ces acides aminés peuvent subir des réactions intramoléculaires spontanées, générant des produits modifiés tels que des isoformes désamidés, racémisés ou isomérisés. La principale modification observée est la conversion en isoaspartate, où la liaison peptidique s'établit via le carboxyle  $\beta$  plutôt que  $\alpha$ , perturbant ainsi la structure du polypeptide. Parallèlement, la désamidation de l'asparagine peut également compromettre l'activité biologique de la protéine (Gary & Clarke, 1995).

## 2. Asparaginase

La L-asparaginase (EC 3.5.1.1) est une enzyme clivant l'asparagine (Asn) en aspartate (Asp) et ammoniacque par hydrolyse du groupe amide. Présente chez divers organismes (micro-organismes, plantes, animaux, archées et bactéries), elle occupe une place centrale dans le métabolisme des acides aminés (da Silva *et al.*, 2018).

Son importance biotechnologique est notable, tant pour ses applications médicales que industrielles. En oncologie, elle constitue un traitement essentiel contre la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) et certains cancers hématologiques, en privant les cellules cancéreuses d'asparagine, indispensable à leur prolifération (da Silva *et al.*, 2018). Dans le secteur agroalimentaire, la L-asparaginase suscite un intérêt croissant pour son rôle dans la diminution de l'acrylamide, un composé suspecté d'être cancérigène, formé lors des cuissons à haute température (da Silva *et al.*, 2018).

### 2.1. Classification des L-asparaginases

Selon da Silva *et al.*, les L-asparaginases sont divisées en trois groupes principaux; L-asparaginases bactériennes (types I et II), L-asparaginases végétales (type III) et enzymes similaires à l'asparaginase thermolabile de *rhizobium etli* (da Silva *et al.*, 2018).

#### 2.1.1. L-asparaginases bactériennes (types I et II)

Les L-asparaginases bactériennes sont classées en deux types principaux (I et II) selon leur localisation cellulaire, leur affinité pour le substrat et leur rôle physiologique présenté dans le **Tableau 1**.

**Tableau 1. Types d'asparaginases bactériennes : caractéristiques, fonctions et applications.**

Type	Localisation	Affinité pour L-asparagine	Fonction principale	Organismes
Type I	Cytosolique	Faible	Métabolisme général	Bactéries
Type II	Périplasmique	Forte	Détoxification Utilisation thérapeutique	Bactéries Gram- négatives

### 2.1.2. L-asparaginases végétales (type III)

Les asparaginases végétales classées comme type III, présentant des caractéristiques uniques qui les distinguent clairement des types bactériens I et II, comme décrit dans le **Tableau 2**.

**Tableau 2. Asparaginases végétales : caractéristiques, fonctions et applications.**

Type	Localisation	Affinité pour L-asparagine	Fonction principale	Organismes
Type III	/	Moyenne à variable	Recyclage des protéines Réponse au stress Hydrolyse l'isoaspartyl	Plantes, insectes, micro-organismes et humain

### 2.1.3. Enzymes similaires à l'asparaginase thermolabile de *Rhizobium etli*

La troisième catégorie d'asparaginases regroupe une enzyme thermolabile identifiée chez *Rhizobium etli* (ReA), une bactérie symbiotique des légumineuses présente dans le sol, capable d'utiliser la L-asparagine comme source unique de carbone et d'azote. Cette enzyme ne présente aucune similarité avec d'autres protéines dont la fonction est connue. Elle est impliquée dans le métabolisme de *R. etli*, en participant à des réactions fournissant des sources de carbone et d'azote (López-Guerrero *et al.*, 2012).

## 2.2. Mécanisme d'action

Les L-asparaginases d'origine bactérienne catalysent la rupture du groupe amide de la L-asparagine, ce qui conduit à la formation d'acide L-aspartique et d'ammoniac. En revanche, les asparaginases provenant des plantes, ainsi que leurs homologues bactériens apparentés, ciblent les liaisons amides latérales de la L-asparagine ainsi que celles des dipeptides isoaspartyl, aboutissant à la libération de L-aspartate (Van Kerckhoven *et al.*, 2017).

### **3. Isoaspartyl peptidase**

L'isoaspartyl peptidase, ou  $\beta$ -aspartyl peptidases (EC 3.4.19.5), sont des enzymes qui hydrolysent les liaisons  $\beta$ -peptidiques impliquant un résidu d'acide aspartique anormalement positionné sur la chaîne latérale. Elles agissent en particulier en clivant un résidu Asp lié en bêta à partir de l'extrémité N-terminale d'un polypeptide, ce qui permet d'éliminer des peptides modifiés ou dégradés. Deux grandes classes enzymatiques assurant cette activité ont été identifiées jusqu'à présent (Michalska & Jaskolski, 2013).

#### **3.1. Histoire et découverte**

En 1968, Haley a identifié chez *Escherichia coli* une activité enzymatique de type métallopeptidase, ciblant spécifiquement les dipeptides contenant de l'isoaspartate. Cette enzyme a ensuite été associée au produit du gène IadA (isoaspartyl dipeptidase) (Haley, 1968). Puis, Dorer et ses collaborateurs ont mis en évidence dans des tissus de rat une  $\beta$ -aspartyl peptidase capable de dégrader des di- et tripeptides. Contrairement à l'enzyme de *E. coli*, cette dernière ne voyait pas son activité inhibée par l'EDTA, suggérant qu'elle appartient à une autre famille que celle des métallopeptidases. Toutefois, cette enzyme d'origine animale n'a jamais été catégorisée de manière définitive (Dorer *et al.*, 1968).

Ultérieurement, une enzyme bactérienne dont la classification est bien établie et dont les caractéristiques rappellent celles de l'enzyme de rat a été décrite. En étudiant des mutants de *Salmonella enterica* dépourvus du gène IadA, Larsen et ses collègues ont constaté que ces bactéries conservaient malgré tout une capacité d'hydrolyse, des peptides isoaspartyl (Larsen *et al.*, 2001). Cela a permis d'identifier un second gène, IaaA codant une isoaspartyl peptidase distincte de IadA, et présentant une spécificité enzymatique plus large que celle de IadA. Des homologues de cette enzyme ont également été identifiés chez *E. coli* et chez le lupin jaune (*Lupinus luteus*), désignés respectivement par les noms EcAIII et LIA. La lettre « A » témoigne leur activité enzymatique initialement caractérisée en tant qu'asparaginases (EC 3.5.1.1), à fonction amidohydrolase (Michalska & Jaskolski, 2013).

### **3.2. Isoaspartyl peptidase et leur classification**

Des recherches ont mis en évidence l'existence de deux types distincts d'isoaspartyl peptidases.

#### **3.2.1. Métallopeptidases**

Incluant les enzymes produites par *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*, toutes deux synthétisées à partir du gène IadA. L'analyse de la séquence de l'enzyme IadA chez *E. coli* a montré des similarités avec les dihydroorotases et les imidases bactériennes, des protéines impliquées dans la dégradation des pyrimidines. De plus, la résolution de la structure cristallographique d'IadA chez *E. coli* a révélé une analogie avec ces enzymes, ainsi que la présence de zinc au niveau du site catalytique (Michalska *et al.*, 2005).

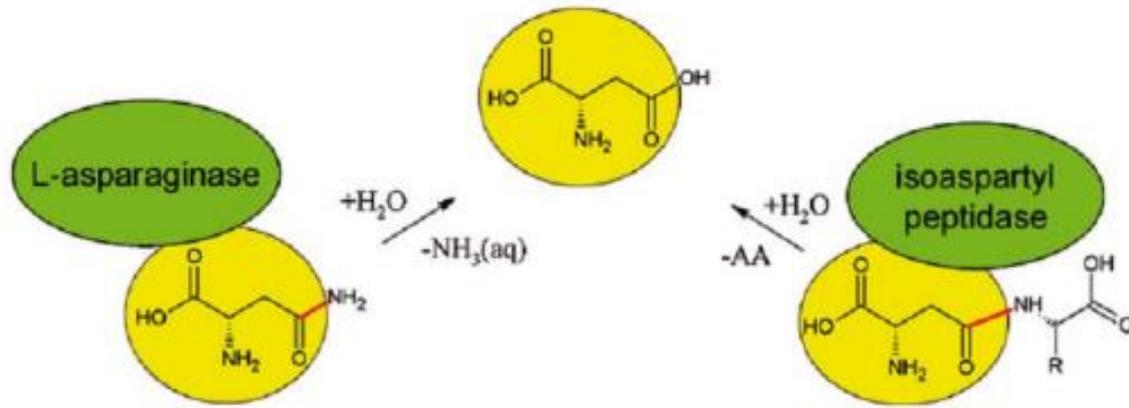
#### **3.2.2. Ntn (nucléophiles N-terminaux) hydrolases**

Représentée par le produit du gène IaaA d'*Escherichia* et son homologue de *Salmonella enterica*. Les Ntn-hydrolases sont initialement synthétisées sous forme de précurseurs inactifs, qui acquièrent leur activité enzymatique après une étape d'autoprotéolyse. Ce processus aboutit à la formation de deux fragments distincts : une sous-unité  $\alpha$  (N-terminale) et une sous-unité  $\beta$  (C-terminale). Le résidu situé à l'extrémité N-terminale de la sous-unité  $\beta$ , qui peut être une thréonine, une sérine ou une cystéine, joue un rôle clé en agissant comme nucléophile dans la réaction catalytique (Michalska *et al.*, 2005).

### **3.3. Aspects biologiques**

#### **3.3.1. Isoaspartyls peptidase des plantes**

Chez les végétaux, l'enzyme présente une expression maximale dans l'embryon des graines en cours de maturation, avec une diminution notable environ 4 550 jours après la floraison. Durant cette phase critique, la protéine exerce principalement sa fonction de L-asparaginase plutôt que d'isoaspartyl peptidase (**Figure 1**). Le mécanisme implique la libération d'ammoniac à partir de l'asparagine, qui constitue la principale source d'azote végétal, permettant ainsi son incorporation dans les protéines de réserve en formation, l'activité isoaspartyl peptidase pourrait jouer un rôle plus important ultérieurement, lors de la germination (Michalska & Jaskolski, 2013).



**Figure 1. Activité asparaginase et isoaspartyl aminopeptidase des asparaginases végétales conduisant à la formation d'aspartate.** (La liaison clivée est marquée en rouge) (Kobercová, 2014).

### 3.3.2. Isoaspartyls peptidase bactériennes

L'isoaspartyl peptidase (IaaA) reste une enzyme peu étudiée chez les bactéries, et son rôle physiologique n'est pas clairement établi. A notre connaissance aucune donnée expérimentale ne relie directement une baisse d'activité de cette enzyme à des modifications phénotypiques ou métaboliques chez ces microorganismes. De plus, d'autres enzymes comme IadA pour l'isoaspartyl peptidase et les L-asparaginases de types I/II, peuvent compenser partiellement ses fonctions. Par conséquent, une perte de fonction d'IaaA n'aurait probablement pas d'impact majeur sur la viabilité bactérienne (Michalska & Jaskolski, 2013).

### 3.4. Aspect structural

Les analyses cristallographiques ont montré que ces protéines, bien que présentant des séquences d'acides aminés très divergentes, adoptent une architecture structurale commune. Leur chaîne polypeptidique se replie en une structure de « sandwich » composée de deux feuillets  $\beta$  parallèles, encadrés latéralement par des hélices  $\alpha$ . Cette organisation caractéristique, désignée sous le nom du repliement  $\alpha\beta\beta\alpha$ , reflète l'arrangement tridimensionnel des éléments de structure secondaire. Dans le cas des hétérotétramères de type Ntn, les deux sites actifs situés au niveau des extrémités N-terminales des sous-unités  $\beta$  agissant comme nucléophiles se positionnent à l'interface entre les feuillets  $\beta$  (Michalska *et al.*, 2005).

### **3.5. Caractéristiques distinctives**

L'isoaspartyl aminopeptidase de type thréonine se distingue des autres enzymes apparentées par son mécanisme unique de maturation. Contrairement aux autres protéases, elle subit un clivage autoprotéolytique à partir d'un précurseur inactif, générant ainsi deux sous-unités qui s'assemblent pour former l'enzyme active. Ce processus de maturation, qui peut être suivi par l'électrophorèse SDS-PAGE en raison de sa cinétique lente, constitue une signature moléculaire caractéristique de cette famille enzymatique (Michalska & Jaskolski, 2013).

### **3.6. Application des isoaspartyl peptidase / asparaginase**

L'interférence ARN ciblant l'isoaspartyl peptidase 1 et l'asparaginase (ASRGL1) s'est avérée efficace pour inhiber la croissance des cellules du carcinome du nasopharynx (CNP). Cette approche utilise un ARN court en épingle à cheveux (shRNA) pour réduire l'expression d'ASRGL1, entraînant une diminution de la prolifération, de la migration et de l'invasion des cellules cancéreuses, tout en favorisant l'apoptose et le stress oxydatif dans les lignées cellulaires C666-1 et SUN-1. Ces résultats suggèrent qu'ASRGL1 joue un rôle crucial dans la progression du CNP, en faisant une cible thérapeutique prometteuse (Feng *et al.*, 2024).

Le mécanisme d'action repose sur la régulation négative d'ASRGL1 par shASRGL1, ce qui provoque une baisse des niveaux d'ATP, une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et une induction de la ferroptose, ce qui entraîne à la mort cellulaire. Des études *in vitro* ont confirmé l'inhibition de la viabilité et de la migration des cellules CNP, tandis que des modèles *in vivo* de xéno greffe ont reproduit ces effets antitumoraux, renforçant le potentiel thérapeutique de cette approche (Feng *et al.*, 2024).

## **4. *Arthrospira platensis***

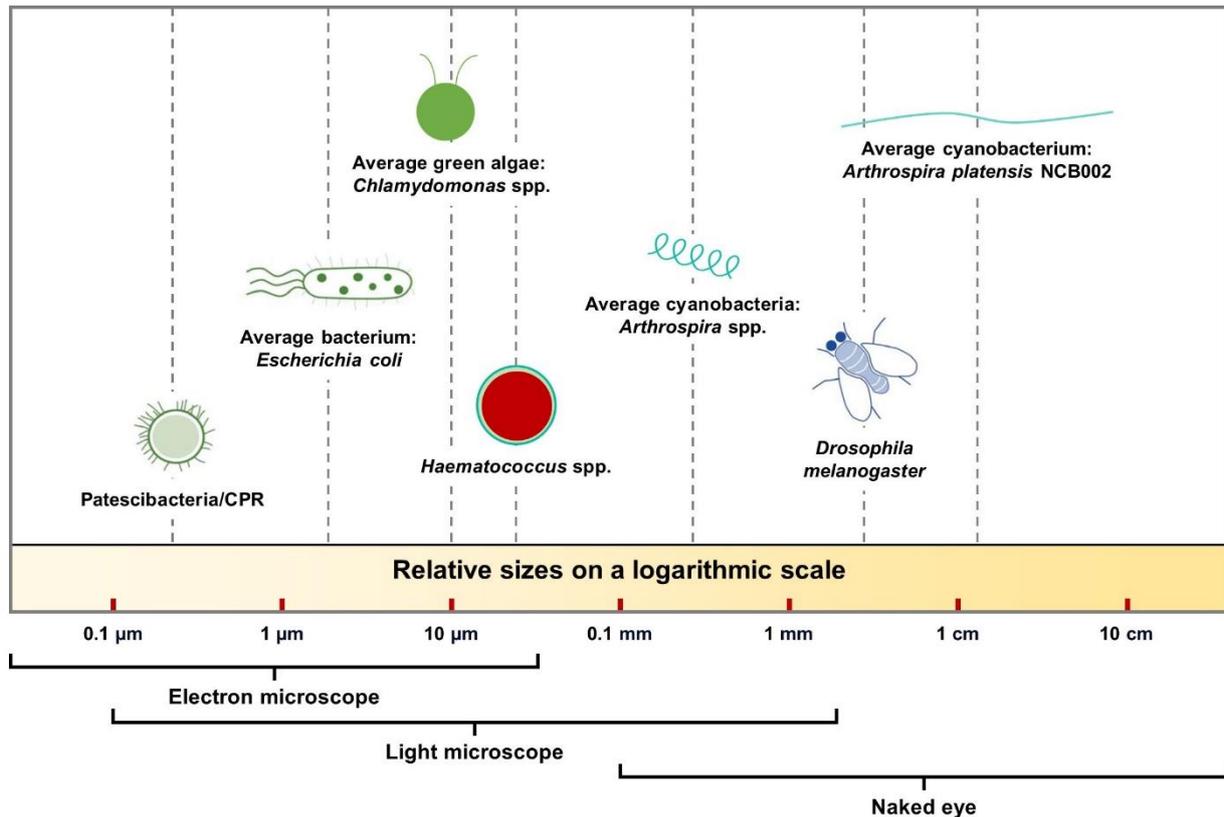
### **4.1. Définition**

La spiruline (*Arthrospira platensis*) est une cyanobactérie filamenteuse photosynthétique (**Figure 2**), reconnaissable à sa couleur bleu-vert. Elle prolifère dans divers milieux aquatiques, notamment les eaux douces, saumâtres et marines. Cette microalgue présente une particularité écologique intéressante : elle se développe optimalement dans des conditions de forte alcalinité (pH 10–12) et sous des températures élevées, généralement comprises entre 30 °C et 40 °C (Manet, 2016).

Bien qu'étant un organisme procaryote, la spiruline partage avec les plantes supérieures la capacité d'effectuer la photosynthèse oxygénique. Grâce à ses pigments, dont la chlorophylle, elle convertit l'énergie lumineuse en énergie chimique, assimilant ainsi le CO<sub>2</sub> et rejetant de l'oxygène, tout en synthétisant des composés organiques à partir des sels minéraux et d'eau (Branyikova & Lucakova, 2021).

Les études indiquent qu'elle a joué un rôle clé dans l'oxygénation de l'atmosphère primitive bien avant l'émergence des plantes terrestres, contribuant ainsi à façonner les conditions environnementales propices au développement de la vie complexe (Choopani *et al.*, 2016).

Aujourd'hui, la spiruline est cultivée à grande échelle pour ses nombreuses applications, notamment comme complément alimentaire riche en protéines, vitamines et antioxydants, ou encore dans le domaine de la biorestauration en raison de sa capacité à capter le CO<sub>2</sub> (Luo *et al.*, 2024).



**Figure 2.** Analyse logarithmique de la cyanobactérie *Arthrospira platensis* dans la hiérarchie des tailles cellulaires (Lee *et al.*, 2024).

#### 4.2. Histoire

Appartenant aux premières formes de vie sur Terre, la spiruline existe depuis environ 3,5 milliards d'années selon les études géologiques. Son histoire humaine remonte à l'époque précolombienne où les Aztèques la consommaient régulièrement sous forme de galettes séchées qu'ils nommaient "tecuitlatl" (Fox, 1999).

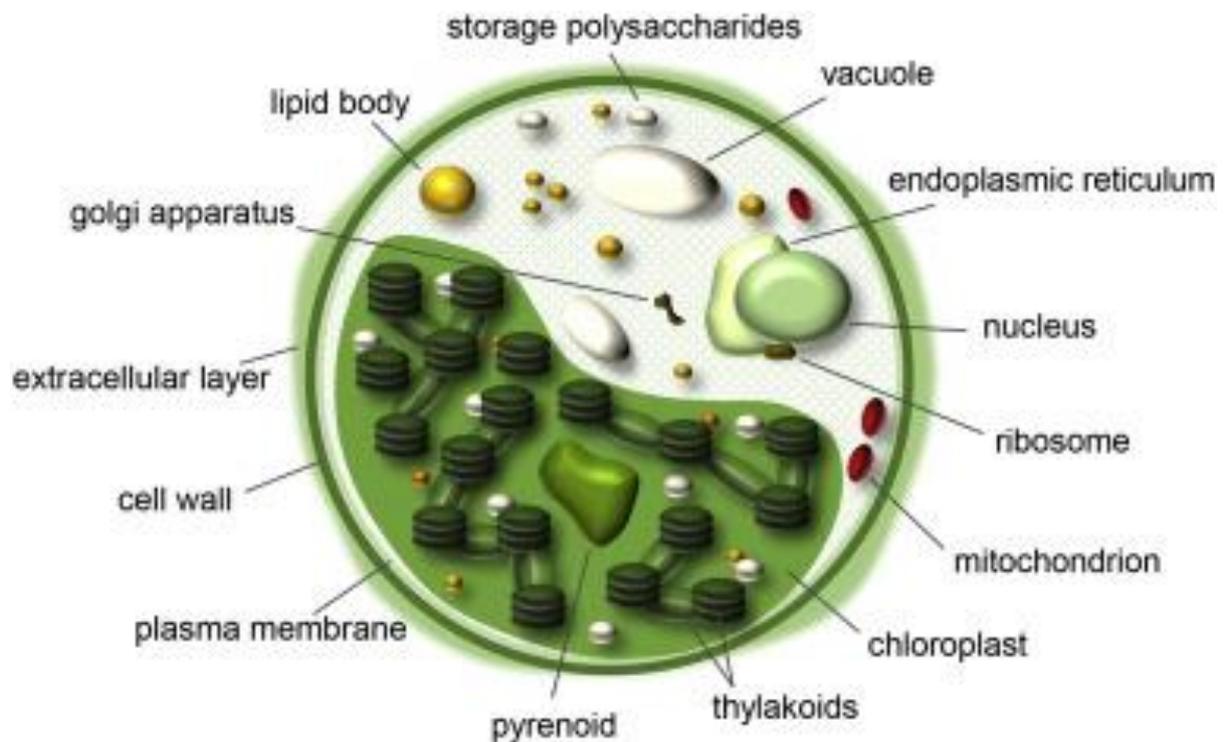
La première mention écrite par un Européen date de 1492, lorsque Christophe Colomb relate dans son journal de bord avoir observé des indigènes consommer une "poudre verte aux vertus énergisantes". Pendant près de quatre siècles (Fox, 1999).

Après avoir sombré dans l'oubli pendant plusieurs siècles, la spiruline fit l'objet d'une redécouverte majeure dans les années 1940, lorsque des anthropologues observèrent son usage traditionnel par les populations vivant autour du lac Tchad. Cette trouvaille marqua le début d'un regain d'intérêt scientifique pour cette ressource ancienne, qui a pris son essor après 1946, lorsque des chercheurs commencèrent à étudier sérieusement son potentiel comme source alimentaire abordable et nutritive (Fox, 1999).

### 4.3. Classification taxonomique

La position systématique de la spiruline a fait l'objet de révisions majeures au cours de l'histoire de la biologie. Initialement classée parmi les algues en raison de sa morphologie filamenteuse et de sa capacité photosynthétique, cette classification a été remise en cause avec les progrès de la microscopie électronique et de la biologie moléculaire (Vonshak, 1997).

Les travaux pionniers de Stanier et ses collaborateurs dans les années 1960 (Stanier & van Niel, 1962) ont révélé la nature procaryote de cet organisme, mettant en évidence l'absence d'organites caractéristiques des eucaryotes (**Figure 3**). Ces découvertes furent confirmées par des études ultérieures démontrant, sans équivoque, que ce qu'on appelait alors "algue bleu-vert" appartenait en réalité au domaine des bactéries (STANIER, 1974).



**Figure 3. Organisation subcellulaire d'*Arthrospira platensis*** (Assunção *et al.*, 2023).

Cette clarification taxonomique aboutit en 1974 à l'inclusion officielle de la spiruline dans le prestigieux Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, actant définitivement son statut de cyanobactérie (**Tableau 3**). Cette reclassification illustre parfaitement comment les avancées technologiques peuvent conduire à une meilleure compréhension de la biodiversité microbienne (Vonshak, 1997).

**Tableau 3. Position taxonomique d' *Arthrospira platensis* (Castenholz, 2001).**

<b>Règne</b>	Monera ou Bacteria
<b>Sous-règne</b>	Prokaryota
<b>Phylum ou Division</b>	Cyanophyta ou Cyanobacteria
<b>Classe</b>	Cyanophyceae
<b>Ordre</b>	Oscillatoriales
<b>Famille</b>	Oscillatoriaceae
<b>Genre</b>	<i>Arthrospira</i>
<b>Espèce</b>	<i>Platensis</i>

Les récentes avancées en biotechnologie ont permis de mieux comprendre la spiruline. Aujourd'hui, les scientifiques distinguent trois genres principaux : *Spirulina*, *Arthrospira* et *Limnospira*. Ce dernier inclut désormais les souches les plus répandues dans la production à grande échelle (Santos *et al.*, 2023).

La distinction entre *Arthrospira* et *Limnospira* a fait l'objet de nombreuses révisions. Autrefois classées dans le genre *Arthrospira*, plusieurs espèces ont été reclassées dans *Limnospira* après des analyses approfondies de leur ADN, de leur structure et de leur habitat. L'exemple le plus marquant est celui de *Limnospira platensis* (anciennement *Arthrospira platensis*), dont le transfert a été validé par des études phylogénétiques et écologiques (Santos *et al.*, 2023).

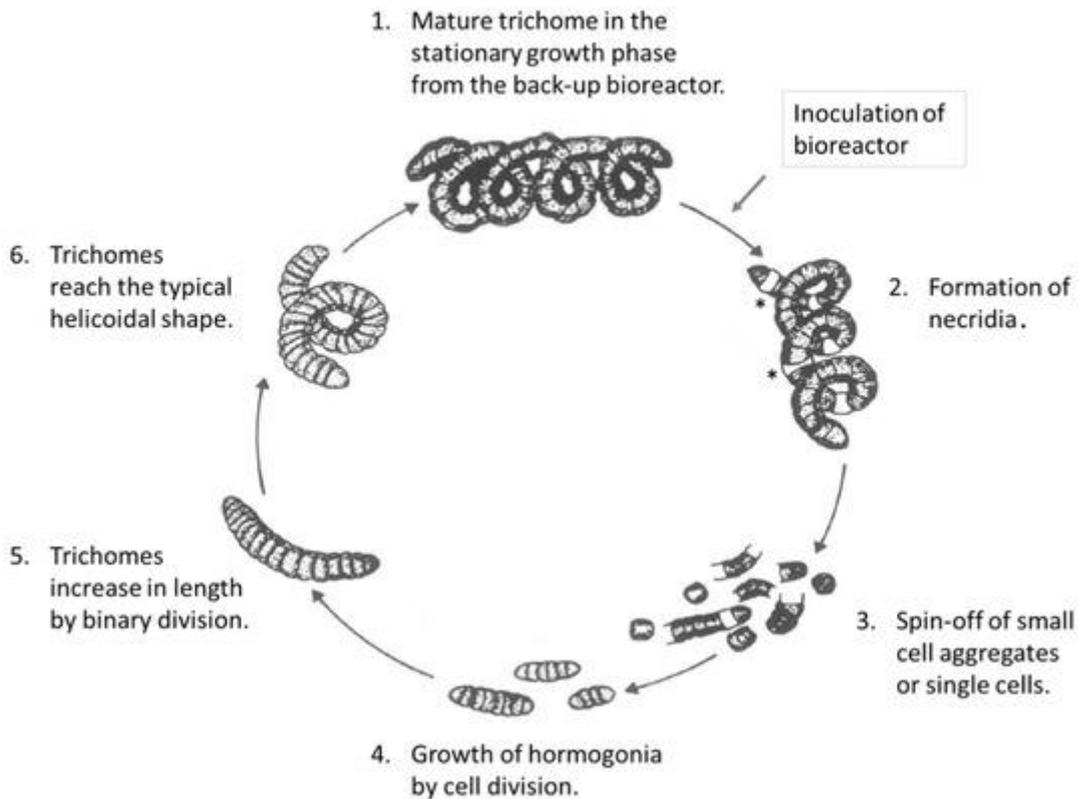
#### **4.4. Cycle biologique**

La cyanobactérie *Arthrospira platensis* se développe selon un rythme exponentiel remarquable, avec une croissance quotidienne pouvant atteindre 25% et un doublement de la biomasse en seulement 4 jours. Des études en conditions optimales ont révélé un temps de génération minimal de 7 heures. Son cycle de développement complet comprend trois étapes distinctes : une fragmentation initiale des trichomes, suivie d'une phase d'élongation et maturation cellulaire,

aboutissant à une division terminale produisant des filaments spirales caractéristiques (**Figure 4**) (Zarrouk, 1966).

Les filaments matures ont développé des structures spécialisées appelées nécriidies, des cellules différenciées à morphologie biconcave, qui jouent un rôle essentiel dans la fragmentation contrôlée des trichomes et la formation d'hormogonies, de jeunes filaments composés de 2 à 4 cellules (Zarrouk, 1966).

La forme hélicoïdale finale, s'acquiert progressivement au cours de la croissance des hormogonies par divisions binaires successives. Cette organisation biologique unique explique en grande partie sa capacité d'adaptation exceptionnelle, sa croissance rapide en milieu favorable et son important potentiel pour les cultures intensives (Sanchez *et al.*, 2003).



**Figure 4.** Cycle biologique de l'*Arthrospira platensis* (Ciferri, 1983; Jung *et al.*, 2021).

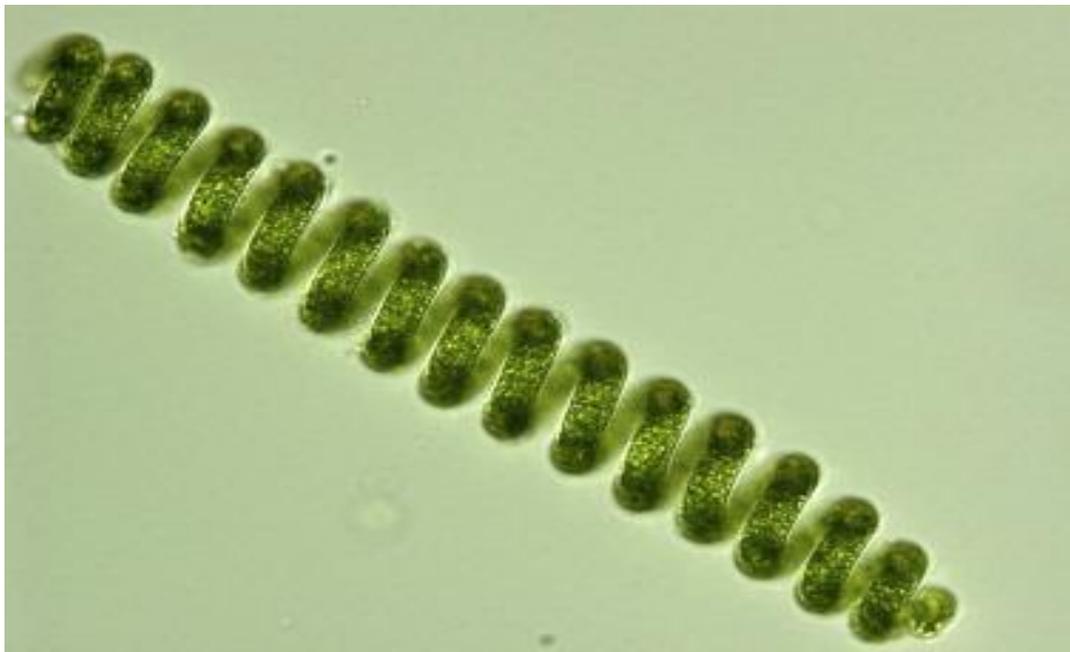
#### 4.5. Morphologie

D'un point de vue structural, *A. platensis* se distingue par son architecture filamenteuse, pouvant présenter une organisation unicellulaire ou pluricellulaire. En tant que procaryote, cette cyanobactérie possède une paroi membranaire complexe constituée de quatre couches

superposées. L'appellation "spiruline" trouve son origine dans la disposition hélicoïdale caractéristique de ses filaments, dérivant du terme latin "spira" signifiant enroulement ou spirale (**Figure 5**) (Manet, 2016).

Ces filaments, appelés trichomes, présentent en moyenne une longueur de 250  $\mu\text{m}$  pour 7 spires, avec un diamètre compris entre 10 et 12  $\mu\text{m}$ . Cependant, les dimensions précises (épaisseur, longueur) peuvent différer selon les études (Cruchot, 2008).

Des investigations complémentaires ont révélé que divers paramètres environnementaux, incluant notamment la température et les caractéristiques physico-chimiques du milieu, pourraient exercer une influence modulatrice sur les caractéristiques géométriques de ces structures hélicoïdales (Mühling *et al.*, 2003).



**Figure 5.** Représentation microscopique d'*Arthrospira platensis* (Borowitzka, 2018).

#### 4.6. Milieu de culture

Le milieu de culture artificiel de l'*A. platensis* est conçu pour reproduire les conditions alcalines de son habitat naturel. Il s'agit d'une solution aqueuse contenant un mélange précis de sels minéraux essentiels, dont les principaux sont l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K), comme l'a documenté (Bellahcen *et al.*, 2013). Ce milieu natroné, caractérisé par un pH élevé (généralement entre 9 et 11), fournit à la spiruline tous les éléments nécessaires à son développement optimal. La composition exacte de ce milieu type, incluant à la fois les

macronutriments et les oligo-éléments indispensables, a été standardisée et présentée en détail dans le **Tableau 4** de l'étude de (Amara & Steinbüchel, 2013; Fox, 1999). Cette formulation scientifique permet non seulement de mimer l'environnement naturel des lacs alcalins où prospère la spiruline, mais aussi d'optimiser les paramètres de croissance pour la production à grande échelle, tout en préservant les qualités nutritionnelles de la biomasse produite.

**Tableau 4. Composants utilisés dans le médium de Zarrouk** (Amara & Steinbüchel, 2013).

<b>Composants</b>	<b>Gramme par litre(g/L)</b>	<b>Molarité (mol/L)</b>
<b>NaNO<sub>3</sub> (nitrate de sodium)</b>	1,5	5,7
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(phosphate dipotassique)</b>	0,02	0,08
<b>MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (sulfate de magnésium)</b>	0,075	0,284
<b>CaCl<sub>2</sub> (chlorure de calcium)</b>	0,036	0,136
<b>NaCl (chlorure de sodium)</b>	0,01	0,038
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (carbonate de sodium)</b>	0,001	0,0038
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (acide borique)</b>	0,0003	0,0011
<b>MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (chlorure de manganèse)</b>	0,0016	0,0061
<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (sulfate de zinc)</b>	0,00022	0,00083
<b>MoO<sub>3</sub> (molybdate de sodium)</b>	0.00005	0,00019
<b>CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (sulfate de cuivre)</b>	0,000036	0,00014
<b>CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (chlorure de cobalt)</b>	0,00002	0,000076
<b>FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (sulfate ferreux)</b>	0,00002	0,000076
<b>EDTA</b>	0.1	0,38
<b>NaOH</b>	pour ajusté le pH à 9,5	

#### **4.7. Condition de culture**

La culture réussie de spiruline nécessite le contrôle de trois paramètres clés :

##### **1. Température:**

- Optimale à 37°C
- Mortelle au-delà de 40°C
- Croissance nulle en dessous de 20°C

##### **2. Lumière:**

- Éclairage modéré nécessaire pour la photosynthèse
- Ensemencement dense pour filtrer la lumière
- Agitation régulière pour éviter la sur-exposition

##### **3. pH:**

- Plage idéale : 8,5-10,5
- La spiruline alcalinise naturellement son milieu

Des facteurs secondaires comme la salinité et l'agitation complètent ces exigences. Le maintien de ces conditions permet de reproduire l'environnement naturel des lacs alcalins où prospère la spiruline, assurant ainsi une croissance optimale (Jourdan, 2006).

#### **4.8. Génome**

La souche *A. platensis* NIES-39 a été la première de son espèce à faire l'objet d'un séquençage génomique. Réalisée par une équipe japonaise, cette étude pionnière a permis, en mars 2010, l'enregistrement de son génome dans la base de données mondiale GenBank. Il s'agissait alors du tout premier séquençage d'une cyanobactérie filamenteuse non fixatrice d'azote (Fujisawa *et al.*, 2010).

Le génome complet de cette souche, d'environ 6,8 mégabases est organisé sous la forme d'un seul chromosome circulaire, ce qui est typique des cyanobactéries. Ce génome est assez compact et renferme environ 6 630 gènes codant des protéines. Parmi ces gènes, environ 78 % présentent des similitudes avec des gènes d'autres organismes, ce qui suggère une certaine conservation génétique avec d'autres espèces prokaryotes (Fujisawa *et al.*, 2010).

Les progrès récents en génomique ont permis de séquencer les génomes de 19 souches différentes d'*A. platensis*. Sur Genbank (consultée le 22 Mai 2025).

### **4.9. Ecologie**

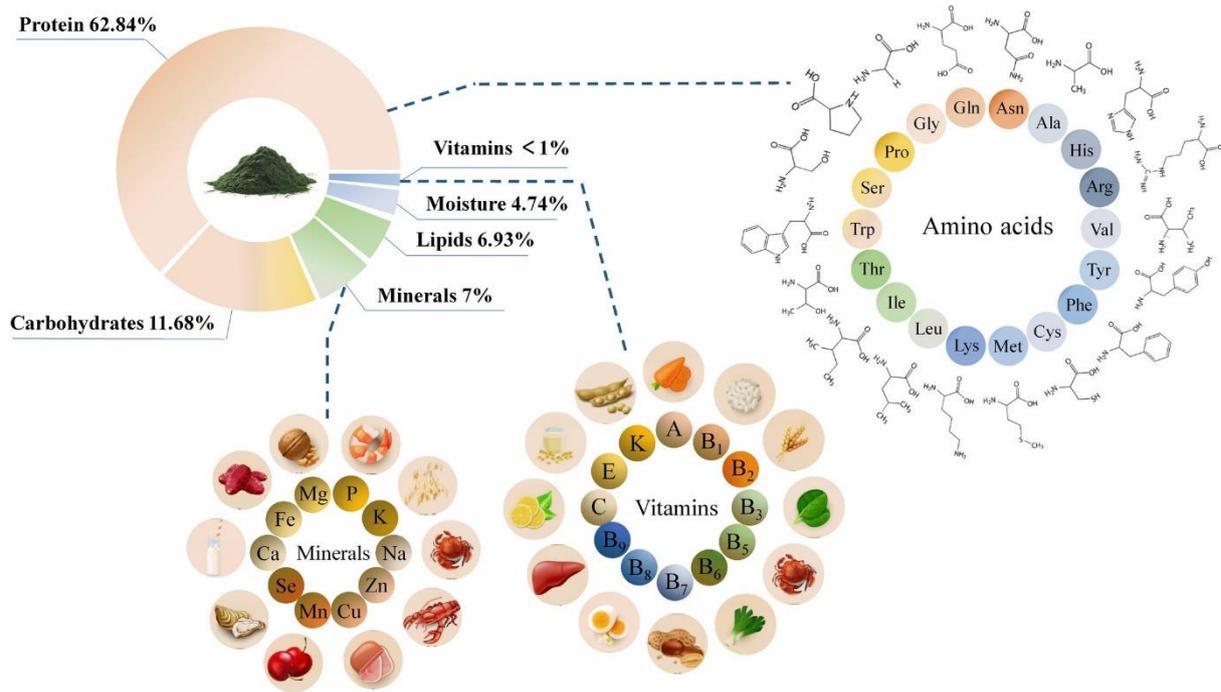
Contrairement aux autres cyanobactéries, les espèces du genre *Arthrospira* présentent une niche écologique tout à fait particulière. Ces micro-organismes se développent exclusivement dans des milieux aquatiques aux conditions extrêmes : des eaux sur salées, fortement alcalines et chaudes. Un tel environnement, généralement inhospitalier pour la majorité des espèces, devient paradoxalement un refuge écologique pour ces cyanobactéries.

Leur stratégie écologique repose sur trois mécanismes synergiques, une modification active de leur environnement par consommation des ions carbonates/bicarbonates, augmentant encore davantage le pH déjà élevé, La formation de biofilms denses, par leur structure filamenteuse et leurs pigments, interceptent la lumière et privent les espèces concurrentes de cette ressource essentielle, et la production de composés antimicrobiens spécifiques inhibant la croissance des organismes compétiteurs.

Un aspect fascinant de leur écologie réside dans leur mode de dispersion. Les filaments nains (*Phoeniconaias minor*), en se nourrissant des tapis de spiruline, deviennent des vecteurs involontaires en transportant des cellules viables vers d'autres plans d'eau, contribuant ainsi à la colonisation de nouveaux habitats (Cruchot, 2008).

### **4.10. Ingrédients fonctionnels d'*Arthrospira platensis***

Reconnue depuis des siècles pour ses vertus nutritionnelles, la spiruline (*A. platensis*) représente une source alimentaire exceptionnelle (Maddiboyina *et al.*, 2023). Cette cyanobactérie se caractérise par une composition nutritionnelle remarquablement complète (**Figure 6**), comprenant :



**Figure 6.** Composition chimique d'*Arthrospira platensis* sur la base du poids sec et types d'acides aminés, de vitamines et de minéraux d' *A. platensis* (Chang *et al.*, 2024).

**a) Protéine**

La spiruline (*A. platensis*) est une microalgue particulièrement prisée pour sa teneur élevée en protéines (60 à 70 % de son poids sec), ce qui en fait l’une des sources les plus riches. De plus, elle se distingue par son profil complet en acides aminés essentiels, indispensables à l’organisme. Cette combinaison en fait un aliment de choix, une source de protéines aussi durable qu'efficace, qui se positionnent comme une solution viable face aux sources conventionnelles, animales ou végétales (García-Encinas *et al.*, 2025).

Les études révèlent que ces composés bioactifs, obtenus par hydrolyse enzymatique des protéines de la spiruline, présentent des propriétés nutritionnelles supérieures comparées aux protéines natives ou aux simples mélanges d'acides aminés (Donadio *et al.*, 2021).

Plus précisément, ces peptides bioactifs montrent :

- Une meilleure biodisponibilité nutritionnelle
- Des propriétés fonctionnelles améliorées pour la formulation alimentaire
- Une potentielle santé accrue grâce à leur structure moléculaire spécifique

Ces avantages technologiques et nutritionnels positionnent les hydrolysats peptidiques de spiruline comme des ingrédients innovants pour l'industrie nutraceutique (Donadio *et al.*, 2021).

### **b) Lipides**

La spiruline (*A. platensis*) se distingue par son profil lipidique exceptionnel, contenant plusieurs acides gras polyinsaturés essentiels au métabolisme humain. Des recherches ont mis en évidence la présence significative d'acide  $\gamma$ -linoléinique (AGL) et d'acide linoléique, dont les concentrations surpassent celles des huiles végétales courantes comme le soja ou le colza (Draaisma *et al.*, 2013).

La spiruline contient également des acides gras oméga-3 à longue chaîne, notamment l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA), reconnus pour leur rôle crucial dans le développement neurologique précoce. Ces composés lipidiques participent activement à la maturation du système nerveux central chez le fœtus et le nourrisson, ainsi qu'au bon développement de la fonction visuelle (Buckley *et al.*, 2017).

Cette cyanobactérie représente la seule source autotrophe connue produisant naturellement de l'AGL en quantité notable. Ces acides gras essentiels exercent des effets physiologiques bénéfiques démontrés, notamment sur la régulation tensionnelle, le métabolisme cholestérolémique et la prévention des pathologies cardiovasculaires (Dolganyuk *et al.*, 2020).

### **c) Polysaccharides**

La teneur en glucides d'*A. platensis* représente généralement 15 à 20 % de sa matière sèche, avec une prédominance d'hétéropolysaccharides acides dont le degré de sulfatation varie considérablement (0,06 à 20 %). Les analyses structurales révèlent que ces polysaccharides complexes sont principalement constitués de trois oses majeurs : glucose, mannose et rhamnose (Cai *et al.*, 2022). On y trouve également des monosaccharides minoritaires comme l'arabinose, le fucose et le galactose, dont les proportions relatives fluctuent en fonction de plusieurs paramètres (Ai *et al.*, 2023).

Les polysaccharides extraits de l'*A. platensis* présentent un large éventail d'activités biologiques bénéfiques pour la santé humaine. Des études scientifiques ont mis en évidence leurs multiples effets physiologiques notamment : la neutralisation des radicaux libres et protection contre le stress oxydatif, l'inhibition de la prolifération cellulaire cancéreuse, la stimulation sélective du

système immunitaire, l'action hypoglycémisante et la réduction des marqueurs de l'inflammation (Luo *et al.*, 2024).

**d) Vitamines et minéraux**

*Arthrospira platensis* se distingue par sa richesse en vitamines, avec une concentration remarquable atteignant  $1,32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , surpassant ainsi de nombreux aliments de base comme le soja et les céréales, avec des concentrations particulièrement élevées en : Niacine (B3) : 14 mg/100 g, Pyridoxine (B6) : 0,8 mg/100 g, Cobalamine (B12) : 0,32 mg/100 g, Phylloquinone (K) : 2,2 mg/100 g (Gentscheva *et al.*, 2023). Cette densité nutritionnelle permet de couvrir les besoins quotidiens en micronutriments essentiels avec une consommation modérée de seulement 15 g de spiruline séchée par jour (Chang *et al.*, 2024).

De plus, la spiruline se caractérise par une teneur remarquable en minéraux essentiels, avec des concentrations particulièrement élevées en potassium (1400 mg/100g), sodium (900 mg/100g), phosphore (800 mg/100g), calcium (700 mg/100g), magnésium (400 mg/100g) et fer (100 mg/100g) (Gentscheva *et al.*, 2023).

La teneur exceptionnelle en fer (0,58 mg/g), supérieure à celle des produits carnés, confère à cette cyanobactérie un intérêt nutritionnel particulier pour la prévention et le traitement des carences martiales. Son fer hautement assimilable en fait un complément alimentaire de choix pour les populations à risque d'anémie, notamment les femmes enceintes, les enfants et les végétariens (Chang *et al.*, 2024).

**e) Pigments naturels**

La spiruline possède un système pigmentaire complexe et dynamique qui varie en fonction de facteurs intrinsèques (souche génétique) et extrinsèques (conditions environnementales). Cette plasticité lui confère une capacité d'adaptation exceptionnelle à différents milieux. Les principaux groupes pigmentaires comprennent : les caroténoïdes, le chlorophylle et la phycocyanine, leurs propriétés et concentrations respectives sont détaillées dans le **Tableau 5** (Furmaniak *et al.*, 2017).

**Tableau 5. Teneur moyenne et principales fonctions des pigments de l'*Arthrospira platensis* (Furmaniak et al., 2017; Liu et al., 2016; Vidalo, 2008).**

	<b>Pigments</b>	<b>Teneur moyenne dans 10g</b>	<b>Principales fonctions</b>
	<b>de spiruline</b>		
Caroténoïdes	Lutéine	0,2 mg	Vision
	Zéaxanthine	11 mg	Vision
	β-carotène	15à 24 mg	Croissance Vision Antioxydant
	Chlorophylle	60 mg	Chélateur des métaux lourds Protecteur digestif
	Phycocyanine	100-160 mg	Antioxydant Anti-inflammatoire Immunostimulant, Antitumoral

**f) Enzymes**

Les enzymes, principalement de nature protéique, agissent comme des catalyseurs biologiques essentiels au fonctionnement des organismes vivants. *A. platensis* (spiruline) synthétise naturellement une diversité d'enzymes aux fonctions variées, dont certaines présentent un intérêt majeur en biotechnologie (Ioannou & Labrou, 2022).

Parmi les enzymes produites par *A. platensis*, la superoxyde dismutase (SOD) joue un rôle clé dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (radicaux libres), contribuant ainsi à la protection cellulaire contre le stress oxydatif (Falquet & Hurni, 2006). En outre, cette microalgue possède d'autres enzymes de détoxification, comme la peroxydase et la glutathion-S-transférase, dont l'activité s'intensifie en réponse à des stress environnementaux, tels que l'exposition aux pesticides (Touzout *et al.*, 2023).

Outre, son système de défense antioxydant, *A. platensis* produit des enzymes protéolytiques aux applications prometteuses. Des études ont identifié deux protéases majeures dans son lysat, susceptibles d'être intégrées dans des formulations d'hydrogels (Ioannou & Labrou, 2022).

#### **4.11. Applications d'*Arthrospira platensis***

La spiruline, une cyanobactérie hautement nutritive, se distingue par sa richesse en protéines, acides aminés essentiels, vitamines, minéraux et composés bioactifs. Cette composition exceptionnelle lui confère une grande polyvalence, avec des applications variées dans les domaines de la nutrition, de la pharmacie, de la cosmétique, de l'agriculture et du développement durable (**Figure7**). Grâce à ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, elle représente une ressource précieuse tant pour la santé humaine que pour la protection de l'environnement.

##### **a) L'alimentation animale**

L'utilisation d'*A. Platensis* dans l'alimentation animale a connu une évolution significative. Initialement employée pour les espèces aquatiques, cette microalgue est désormais largement intégrée comme additif nutritionnel dans les productions animales et aquacoles. Son rôle dans la chaîne alimentaire écosystémique est particulièrement pertinent, étant donné que les algues représentent une source nutritive fondamentale pour les organismes aquatiques (Chang *et al.*, 2024).

D'une part, le peptidoglycane, principal constituant de sa paroi cellulaire, présente une excellente biodisponibilité, facilitant sa digestion et son assimilation par les animaux. D'autre part, ses composés bioactifs, tels que les polysaccharides et l'acide  $\gamma$ -linoléique, contribuent à renforcer les défenses immunitaires et à augmenter les taux de survie. Enfin, ses pigments naturels, dont la C-phycoyanine, la chlorophylle et le  $\beta$ -carotène, jouent un rôle notable dans l'amélioration de la pigmentation des coquillages et autres espèces aquatiques (Altmann & Rosenau, 2022).

##### **b) Les produits laitiers**

L'utilisation des probiotiques est nécessaire dans la production de yaourt en catalysant l'acidification du milieu, un processus clé responsable de la gélification du lait et du développement des caractéristiques sensorielles typiques du yaourt. Des études ont montré que l'ajout d'*A. platensis* améliore significativement la viabilité des probiotiques et intensifie la production d'acide, optimisant ainsi la fermentation (Beheshtipour *et al.*, 2012; Niccolai *et al.*, 2019), notent que à dose optimale, il préserve les qualités sensorielles tout en réduisant le temps de fermentation et en stabilisant la couleur lors du stockage (Barkallah *et al.*, 2017).

**c) Les produits de santé**

L'*Arthrospira platensis*, riche en composés bioactifs (protéines, polyphénols, pigments et vitamines), fait l'objet d'une production industrielle des suppléments nutritionnels en raison de ses bienfaits pour la santé. Commercialisée sous différentes formes (poudre, gélules, comprimés), elle est appréciée pour ses propriétés nutraceutiques (Chang *et al.*, 2024).

Des études ont montré que les teneurs en acide L-glutamique (L-Glu) et en acide gamma-aminobutyrique (GABA) chez *Arthrospira platensis* pourraient exercer un effet modulateur sur l'excitabilité neuronale, contribuant ainsi à prévenir une activation excessive des neurones (Chang *et al.*, 2024). Par ailleurs, un décapeptide bioactif isolé à partir de cette cyanobactérie a démontré une capacité à stimuler l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS), conférant des propriétés vasoprotectrices et hypotensives (Münzel & Daiber, 2019).

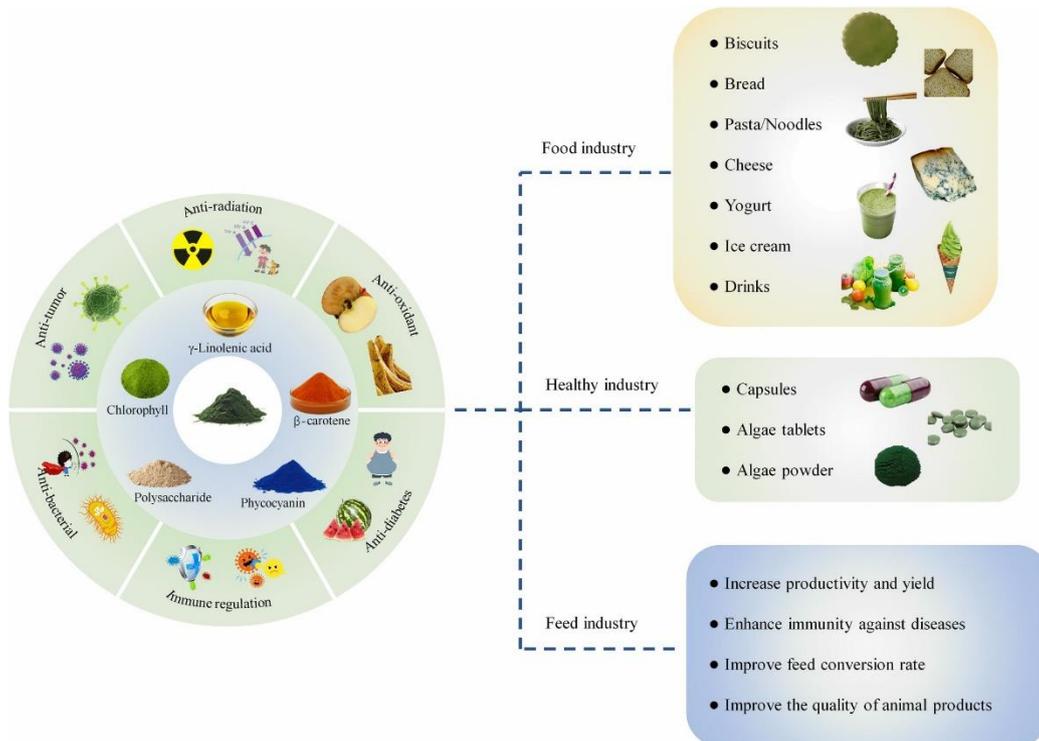
**d) La bioremédiation**

Les recherches récentes mettent en évidence le potentiel remarquable d'*A. platensis* dans la décontamination des eaux polluées. Cette cyanobactérie s'est avérée particulièrement efficace pour éliminer trois contaminants majeurs (Tabagari *et al.*, 2019) :

Le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), Le trinitrotoluène (TNT) et les ions césium radioactifs.

Les essais en conditions contrôlées ont révélé des performances exceptionnelles de biodépollution :

- **Traitement du TNT** : À une concentration initiale de 56 mg/L, une élimination de 97% a été observée après 14 jours d'exposition.
- **Dégradation du DDT** : Un taux d'abattement de 90% a été atteint pour une concentration de 10 mg/L.
- **Fixation du césium** : La souche a montré une efficacité totale sur des solutions contenant jusqu'à 100 mg/L d'ions césium.



**Figure 7. Bioactivités d' *Arthrospira platensis* et son application dans les industries alimentaires, de la santé et de l'alimentation animale (Chang *et al.*, 2024).**

#### 4.12. Activité anticancéreuse d'*Arthrospira platensis*

*Arthrospira platensis*, ou spiruline, présente une activité anticancéreuse remarquable grâce à la diversité de ses composés bioactifs et à ses mécanismes d'action multiples. Elle exerce des effets anti-angiogéniques en supprimant l'activation d'ERK (Extracellular Signal-Regulated Kinase) et les voies associées, comme démontré dans des modèles de cancer du pancréas, Cette inhibition entraîne une réduction de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, privant ainsi les tumeurs de leur approvisionnement nutritif essentiel à leur croissance (Marková *et al.*, 2020).

Par ailleurs, les nanoparticules d'argent issues de cette cyanobactérie induisent efficacement l'apoptose et l'autophagie des cellules cancéreuses comme les cellules MCF-7, tout en limitant les effets secondaires des traitements classiques (PAIVA *et al.*, 2024).

En outre, son potentiel chimiopréventif a été mis en évidence par la diminution de l'incidence des tumeurs mammaires chez l'animal, en lien avec l'activation de gènes suppresseurs de tumeurs. La phycocyanine, pigment clé de la spiruline, complète cette action par ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (Braune *et al.*, 2021).

Ces résultats positionnent *A. platensis* comme un candidat prometteur dans le développement de stratégies anticancéreuses innovantes.

*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*

# Matériel et méthodes

## 1. Récupération et analyse de la séquence protéique

La base de données Universal Protein Knowledgebase (UniProt, <https://www.uniprot.org/>), a été consultée pour obtenir les séquences protéiques primaires au format FASTA de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis*. La recherche, ciblée avec le mot-clé « *Arthrospira platensis* isoaspartyl peptidase », a permis d'identifier une séquence spécifique portant le numéro d'accès A0A3P3ZKS9. Cette séquence a été caractérisée et utilisée comme séquence de requête dans le cadre des analyses bioinformatiques ultérieures.

## 2. Analyse des propriétés physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques de la séquence protéique de l'isoaspartyl peptidase de *A. platensis* ont été analysées grâce à l'outil ExPASy ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/protparam.html>) (Gasteiger *et al.*, 2005b). L'analyse a permis d'obtenir des informations sur la composition en acides aminés, le poids moléculaire, le point isoélectrique (pI), le nombre de résidus chargés négativement et positivement (R+/-R), le coefficient d'extinction (CE), la demi de vie, l'indice d'instabilité (II), l'indice aliphatique (AI), ainsi que l'hydrophilie moyenne globale (GRAVY).

L'indice aliphatique (AI) reflète la proportion de chaînes latérales aliphatiques dans la protéine, un facteur connu pour jouer un rôle dans la stabilité thermique de la structure protéique (Panda & Chandra, 2012). Cette stabilité structurelle peut influencer le comportement de la protéine en solution, notamment en modifiant son point isoélectrique (pI), qui correspond au pH auquel sa charge nette est nulle, l'empêchant ainsi de migrer dans un champ électrique (Smoluch *et al.*, 2016). Par ailleurs, l'indice d'instabilité (II) est une mesure prédictive de la stabilité de la protéine, calculée en fonction de la fréquence des dipeptides associés aux protéines instables (Guruprasad *et al.*, 1990).

En complément, pour évaluer la concentration d'une protéine en solution, le coefficient d'extinction (CE) est un outil essentiel, car il permet de relier l'absorbance mesurée à la concentration molaire de la protéine (Scientific, 2012).

Enfin, la solubilité et l'affinité pour l'eau d'une protéine peu être quantifiée à l'aide du serveur ExPASy ProtScale (<https://web.expasy.org/protscale/>) (Brass, 2023) par l'indice GRAVY

(Grand average of hydropathicity), qui utilise l'échelle de Kyte et Doolittle (Kyte & Doolittle, 1982) pour déterminer si une protéine est plutôt hydrophile ou hydrophobe.

Ces différents indices et paramètres sont interconnectés et fournissent une vue d'ensemble des propriétés et du comportement des protéines dans divers contextes biologiques et expérimentaux.

### 3. Localisation subcellulaire

Le serveur DeepLoc-1.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/DeepLocPro-1.0/>) (Moreno *et al.*, 2024) a été employé pour prédire la localisation subcellulaire de l'enzyme. Les résultats obtenus incluent un score reflétant la fiabilité de la prédiction ainsi que la précision attendue de l'analyse.

### 4. Prédiction de la solubilité protéique

Le serveur en ligne SOSUI (<https://harrier.nagahama-i-bio.ac.jp/sosui/>) permettant de prédire si une séquence protéique donnée est soluble ou membranaire. Cette prédiction repose sur l'analyse de propriétés physicochimiques spécifiques, telles que la longueur de la séquence, l'indice d'hydropathie, l'amphiphilie et la charge des acides aminés (Hirokawa, Boon-Chieng, & Mitaku, 1998).

### 5. Analyse de la structure secondaire

La structure secondaire de la séquence étudiée a été prédite à l'aide de deux outils bioinformatiques, SOPMA et PSIPRED.

SOPMA (Self-Optimized Prediction Method with Alignment) ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=/NPSA/npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)), permet de déterminer les conformations secondaires des protéines, en identifiant quatre états structuraux distincts : les hélices  $\alpha$ , les brins  $\beta$ , les coudes et les boucles. Cette méthode s'appuie sur une base de données contenant des chaînes protéiques non homologues, permettant de générer des prédictions basées sur des similarités structurales et évolutives (Geourjon & Deleage, 1995).

En complément de cette méthode, PSIPRED (PSI-BLAST-based secondary structure PREDiction) (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>) a été employée pour analyser les séquences protéiques issues de PSI-BLAST. Cette approche permet d'identifier les états conformationnels des protéines avec une grande précision (Buchan & Jones, 2019).

## **6. Analyse de la structure tertiaire**

### **6.1. Prédiction de la structure tertiaire**

La prédiction de la structure tridimensionnelle de la séquence de cible de l'isoaspartyl peptidase a été réalisée à l'aide de six outils bioinformatiques, y compris SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) (Arnold *et al.*, 2006), Phyre<sup>2</sup> (<https://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>) (Kelley *et al.*, 2015), AlphaFold (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) (Jumper *et al.*, 2021), I-TASSER (Iterative Threading Assembly Refinement) (<https://zhanggroup.org/I-TASSER/>) (Yang *et al.*, 2015), LOMETS (Local Meta-Threading-Server, <https://zhanggroup.org/LOMETS/>) (Wu & Zhang, 2007) et CEthreader (<https://zhanggroup.org/CEthreader/>) (Zheng *et al.*, 2019). Ces serveurs ont été utilisés pour élaborer des modèles structuraux 3D basés sur des techniques de modélisation par homologie.

Les structures de référence employées pour analyser la séquence protéique ont été validées antérieurement par des méthodes expérimentales, notamment la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la cristallographie aux rayons X (Pellequer, 1999).

### **6.2. Raffinement de la structure tertiaire prédite**

Galaxy WEB (<https://galaxy.seoklab.org/cgi-bin/submit.cgi?type=REFINE>) est un algorithme spécialisé dans le raffinement des structures protéiques, il est spécialement conçu pour optimiser les structures protéiques issues de la modélisation par homologie ou d'autres méthodes de prédiction. Il utilise des techniques de dynamique moléculaire et d'optimisation énergétique pour ajuster la géométrie des protéines, corriger les erreurs potentielles de modélisation, minimiser les conflits stériques et affiner les interactions non covalentes (Heo *et al.*, 2013). Cet outil a été utilisé pour affiner les modèles prédictifs de la protéine cible générés par différents serveurs, afin d'obtenir des structures à haute résolution avec une topologie précise et des détails structuraux approfondis. Les modèles 3D raffinés ont ensuite été optimisés et visualisés à l'aide du logiciel PyMOL, version 2.3.

### **6.3. Validation des structures tertiaires**

Pour évaluer la qualité stéréochimique des structures protéiques initiales et raffinées, plusieurs outils ont été employés. Le logiciel PROCHECK, disponible sur la plateforme SAVES (Structural Analysis and Verification Server) v6.1, a permis de générer des diagrammes de Ramachandran afin d'analyser la conformation des résidus (Laskowski *et al.*, 2006).

Parallèlement, l'outil ERRAT qui procède à l'analyse des statistiques des interactions non spécifiques entre différents types d'atomes et trace la fonction d'erreur, calculée sur une fenêtre glissante de 9 résidus, en la comparaison aux distributions enregistrées dans des structures de référence hautement raffinées (Colovos & Yeates, 1993), ainsi l'outil Verify3D qui évalue la compatibilité entre la séquence et la structure en attribuant à chaque résidu une classification basée sur sa conformation ( $\alpha$ -hélice, feuillet  $\beta$ , ou boucle) et son environnement (polaire ou apolaire) (Lüthy *et al.*, 1992), ont été utilisés pour vérifier la fiabilité des interactions atomiques et la compatibilité de la séquence avec la structure 3D, respectivement. Ces analyses comparatives ont permis d'évaluer les améliorations apportées par le raffinement du modèle.

## **7. Analyse fonctionnelle**

### **7.1. Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés**

Pour identifier les domaines fonctionnels conservés dans la séquence de l'enzyme isoaspartyl peptidase, la base de données CDD (Conserved Domain Database) du NCBI a été utilisée, un outil permettant d'identifier et de comparer les régions conservées dans les séquences protéiques. Cette approche bioinformatique permet d'effectuer une annotation précise des régions structurales et fonctionnelles dans une séquence protéique (Wang *et al.*, 2023).

### **7.2. Identification de motifs fonctionnels dans la séquence protéique**

La séquence de la protéine isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* a été analysée via MOTIF Finder (<http://www.genome.jp/tools/motif/>) en utilisant la base Pfam, permettant d'identifier ses motifs fonctionnels et son appartenance à une famille protéique spécifique.

### **7.3. Interactions protéine-protéine**

La base de données STRING (version 11.5) (Szklarczyk *et al.*, 2021), accessible via (<https://string-db.org/>), a été utilisée pour l'analyse des interactions protéine-protéine. Cet outil permet de regrouper des données sur les interactions connues ou prédites entre protéines, provenant de différentes sources (expérimentales, bioinformatiques ou enjeux de la littérature). L'analyse a été réalisée afin de construire un réseau d'interaction centré sur la protéine isoaspartyl peptidase d'*A. platensis*, dans le but d'identifier ses partenaires fonctionnels potentiels.

#### **7.4. Docking moléculaire et Analyse de site actif**

L'analyse des interactions moléculaires a été initiée par la sélection de 7 ligands (**Tableau 6**) issus de la banque de composés PubChem (Kim *et al.*, 2024). Les structures chimiques, initialement au format SDF, ont été converties en format PDB grâce au logiciel PyMOL (v2.3) puis optimisées énergétiquement via Chem3D Ultra 8.0. Le docking moléculaire (l'amarrage moléculaire) a été réalisé sur la plateforme CB-DOCK2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/index.php>) (Liu *et al.*, 2022) en utilisant comme récepteur la meilleure structure raffinée de l'isoaspartyl peptidase.

Le choix des ligands se justifie par la volonté d'explorer le potentiel thérapeutique de l'enzyme en lien avec des composés bioactifs pouvant interagir de manière spécifique ou significative avec son site actif. L'objectif est de mieux comprendre les interactions possibles entre l'enzyme et ces molécules, et d'identifier d'éventuelles pistes de valorisation pharmacologique dans le contexte des applications anticancéreuses.

L'exploration systématique des sites de liaison a révélé cinq cavités potentielles, permettant d'évaluer différents modes d'interaction, le complexe présentant la meilleure affinité, caractérisé par le score Vina le plus bas, a été sélectionné pour une analyse structurale détaillée. Les interactions clés entre les résidus aminés et le ligand ont finalement été visualisées et interprétées à l'aide du logiciel BIOVIA Discovery Studio Visualizer, fournissant ainsi une compréhension des mécanismes moléculaire (Baroroh *et al.*, 2023).

L'estradiol, tout comme l'estriol, est reconnu comme un agent prolifératif majeur dans les cancers hormono-dépendants, en particulier le cancer du sein. Des études ont montré que ces œstrogènes peuvent significativement augmenter la viabilité et la prolifération des cellules cancéreuses, notamment lorsqu'ils sont associés à des facteurs de croissance tels que l'IGF-1 (Girgert *et al.*, 2014).

L'asparagine joue un rôle clé dans le métabolisme du cancer, en tant qu'acide aminé essentiel à la croissance et à la survie des cellules tumorales. Ces cellules présentent fréquemment une dépendance marquée à l'asparagine, en raison d'une synthèse endogène limitée, ce qui les rend fortement tributaires des apports exogènes (Hanada *et al.*, 2025).

La citrulline joue un rôle complexe dans le cancer, influençant à la fois la croissance tumorale, la réponse immunitaire et les stratégies thérapeutiques.

Cependant, certaines études suggèrent qu'elle pourrait également favoriser l'agressivité des cellules cancéreuses, en particulier dans les cancers du poumon et du col de l'utérus (Meng *et al.*, 2024).

La chloroquine est employée dans le traitement de multiples pathologies grâce à son mécanisme d'action inhibant l'acidification lysosomale. Dans le domaine oncologique, elle est fréquemment associée à la chimiothérapie et à la radiothérapie, où elle potentialise leur efficacité en favorisant l'élimination des cellules cancéreuses. Par ailleurs, la chloroquine et ses dérivés sont approuvés en pratique clinique pour leur rôle d'inhibiteurs de l'autophagie (Guzhova *et al.*, 2025).

Le thiorphan, ainsi que ses dérivés, s'est imposé comme un candidat prometteur dans le traitement du cancer en raison de ses multiples activités biologiques. Les recherches montrent que ces composés possèdent des propriétés anticancéreuses significatives, agissant notamment par l'induction de l'apoptose et l'altération chromosomique des cellules tumorales (Franco *et al.*, 2022).

Le darunavir, principalement utilisé comme inhibiteur de la protéase du VIH, a également montré un potentiel prometteur dans la recherche contre le cancer, en particulier pour le cancer de la vessie, grâce au développement de ses dérivés. Bien que le darunavir lui-même ait une efficacité limitée contre les cellules cancéreuses, des études récentes suggèrent que ses analogues pourraient présenter des propriétés anticancéreuses significatives (Pereira & Vale, 2024).

**Tableau 6. Les caractéristiques chimiques des ligands sélectionnés pour l'amarrage moléculaire du récepteur de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis*.**

<b>Ligand</b>	<b>Pubchem CID</b>	<b>Formule moléculaire</b>	<b>Poids moléculaire (g/mol)</b>	<b>Nature</b>
<b>Estradiol</b>	5757	C18H24O2	272.4	Hormone œstrogénique
<b>Estriol</b>	5756	C18H24O3	288.4	Œstrogène faible
<b>Asparagine</b>	6267	C4H8N2O3	132.12	Acide aminé
<b>Citrulline</b>	9750	C6H13N3O3	175.19	Acide aminé non protéinogène
<b>Chloroquine</b>	2719	C18H26ClN3	319.9	Antipaludique
<b>Thiorphan</b>	3132	C12H15NO3S	253.32	Inhibiteur de l'enzyme néprilysine
<b>Darunavir</b>	213039	C27H37N3O7S	547.7	Antirétroviral inhibiteur de protéase

*Résultats*  
*et*  
*Discussion*

## Résultats et discussion

### 1. Récupération et analyse de la séquence protéique

La récupération de la séquence FASTA de la protéine isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis* à partir de la base de données UniProt a permis de caractériser ses propriétés, présentées dans le **Tableau 7**.

**Tableau 7. Propriétés de la séquence requête de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira Platensis*.**

Nom	Numéro d'accèsion	Nombre d'acides aminés	Organisme	Souche
isoaspartyl peptidase	A0A3P3ZKS9	314 Aa	<i>Arthrospira Platensis</i> <i>Limnospira Platensis</i>	<i>Arthrospira Platensis C1</i>

### 2. Analyse des propriétés physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques de l'enzyme isoaspartyl peptidase d'*A. Platensis* ont été mis en évidence. Parmi les caractéristiques étudiées figurent le point isoélectrique (pI), le nombre de résidus chargés négativement (Asp), le nombre de résidus chargés positivement (Arg), ainsi que le coefficient d'extinction (EC), l'indice d'instabilité (II), la demi-vie estimée, l'indice aliphatique (AI) et la valeur GRAVY (grande moyenne d'hydrophatie). Les résultats correspondants sont résumés dans le **Tableau 8**.

**Tableau 8. Propriétés physicochimiques de l'isoaspartyl d'*Arthrospira Platensis*.**

Propriétés	Valeur
Nombre d'acides aminés (AA)	314
Poids moléculaire (Da)	33310.68
pI théorique	5.07
Nombre total de résidus chargés négativement (Asp + Glu)	39
Nombre total de résidus chargés positivement (Arg + Lys)	31
Coefficient d'extinction (CE)	18450

**Tableau 8. Propriétés physicochimiques de l'isoaspartyl d'*Arthrospira Platensis* (suite).**

Propriétés	Valeur
<b>Demi-vie</b>	30 h
<b>Indice d'instabilité (II)</b>	37.2 (stable)
<b>Indice aliphatique (AI)</b>	94.78
<b>Moyenne générale d'hydropathicité (GRAVY)</b>	-0.082

Le calcul de la masse moléculaire repose sur la somme des masses atomiques moyennes de chaque résidu d'acide aminé constituant la protéine, à laquelle s'ajoute la masse moléculaire de l'eau (18.015 Da). L'approche, décrite par Gasteiger et al (2005), permet d'exprimer la masse protéique en Daltons (Da). Cette valeur constitue un paramètre fondamental pour diverses applications en biochimie, notamment en électrophorèse ou spectrométrie de masse.

L'isoaspartyl peptidase présente un point isoélectrique (pI) de 5,07, déterminé par l'analyse de sa séquence d'acides aminés selon la méthode de (Bjellqvist *et al.*, 1993). Cette valeur, inférieure à la plage habituellement rapportée de 7,5 à 9 pour une isoaspartyl peptidase de *Colwellia psychrerythraea* (Park *et al.*, 2017), indique que la protéine cible atteint sa neutralité électrique dans un milieu acide. En effet, au pI, les charges positives et négatives s'équilibrent (Godara *et al.*, 2022).

La charge globale d'une protéine dépend principalement de la proportion de résidus basiques (Arg + Lys) et acides (Asp + Glu). Le pI relativement bas de cette enzyme suggère une prédominance de résidus acides dans sa structure primaire, conférant à la molécule un caractère globalement acide (Gasteiger *et al.*, 2005a).

Cette différence de pI par rapport à d'autres isoaspartyl peptidases pourrait refléter des adaptations structurales ou fonctionnelles spécifiques, influencées par l'environnement ou le rôle biologique de l'enzyme.

Le coefficient d'extinction (EC) représente la capacité d'une protéine à absorber la lumière à 280 nm, ce qui est crucial pour sa quantification par spectrophotométrie, contrairement aux résidus de tyrosine (Tyr) et de tryptophane (Trp) qui possèdent eux même des cycles aromatiques, la cystéine absorbe peu dans cette région spectrale, notamment au-delà de 260 nm (Gasteiger *et al.*, 2005a). Pour cela ces mesures reposent sur l'hypothèse que les résidus de cystéine (Cys) sont soit sous forme oxydée (cystines formant des ponts disulfures), soit sous forme réduite, déterminée à  $18\,450\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

L'analyse de la demi-vie protéique permet d'estimer la durée nécessaire pour que la concentration cellulaire d'une protéine diminue de moitié après sa synthèse. Dans le cas de l'isoaspartyl peptidase cible, l'analyse computationnelle réalisée avec l'outil ProtParam (Gasteiger *et al.*, 2005a) a permis d'estimer cette valeur. L'approche prend en compte divers paramètres structuraux, notamment la nature du résidu amino-terminal (en l'occurrence une méthionine dans ce cas). Les résultats indiquent une demi-vie prédite de 30 heures dans un système de réticulocytes de mammifères en conditions *in vitro*.

L'indice d'instabilité (II) constitue un paramètre prédictif important pour évaluer la stabilité des protéines *in vitro*. Selon les critères établis par (Gasteiger *et al.*, 2005a), une protéine est considérée comme stable lorsque son indice d'instabilité est inférieur à 40, tandis qu'une valeur supérieure à ce seuil indique une tendance à l'instabilité. L'indice de stabilité pour la protéine cible d'*A.platensis* était fixé à 37.2, ce qui signifie que cette isoaspartyl peptidase est une protéine stable.

Le volume proportionnel qu'occupent les chaînes latérales aliphatiques, associées aux acides aminés tels que l'alanine (Ala), la valine (Val), l'isoleucine (Ile) et la leucine (Leu), dans une protéine est désigné par l'indice aliphatique (AI) (Ikai, 1980). Plus les valeurs sont hautes, plus la protéine présente une stabilité thermique (Panda & Chandra, 2012). Un indice aliphatique haut (94,78) suggère que la protéine possède une certaine thermostabilité, une propriété biochimique clés, particulièrement importantes pour de nombreuses applications industrielles. C'est le cas de l'enzyme provenant de *Colwellia psychrerythraea* qui présente une stabilité thermique. Son activité optimale se manifeste à un pH compris entre 8 et 8,5 et à une température de 45 °C, tandis qu'elle devient totalement inactive à 60 °C. Cela est probablement dû à sa structure octamérique, qui favorise sa stabilité thermique (Park *et al.*, 2017).

L'évaluation quantitative de l'hydropathie protéique a été réalisée par le calcul de l'indice GRAVY (Grand Average of Hydropathicity), un paramètre clé permettant de caractériser les interactions protéine-eau. La valeur obtenue (-0.082) pour cette isoaspartyl peptidase indique clairement sa nature hydrophile, révélant ainsi sa forte affinité pour les environnements aqueux (Kyte & Doolittle, 1982).

La répartition des résidus hydrophobes le long de la séquence de l'isoaspartyl peptidase d'*A.platensis*, en identifiant les zones présentant les scores hydropathiques les plus élevés et les plus faibles est présenté dans le **Tableau 9** à l'aide de l'outil en ligne ExPASy ProtScale.

**Tableau 9. Identification des régions hydrophobes et de leur localisation dans la séquence de l'isoaspartyl peptidase d'*A.platensis* à l'aide de l'outil ProtScale.**

Numéro d'accèsion	Position		Score	
	Min	Max	Min	Max
A0A3P3ZKS9	155	240	-3.111	1.8222

### 3. Localisation subcellulaire

L'isoaspartyl peptidase a été identifiée comme étant sécrétée dans la zone cytoplasmique avec un score de 0.9881 par le serveur de localisation subcellulaire DeepLoc-1.0, ce qui est précisé dans la **Figure 8**.

tr\_A0A3P3ZKS9\_A0A3P3ZKS9\_ARTPT  
 Predicted localization: Cytoplasmic

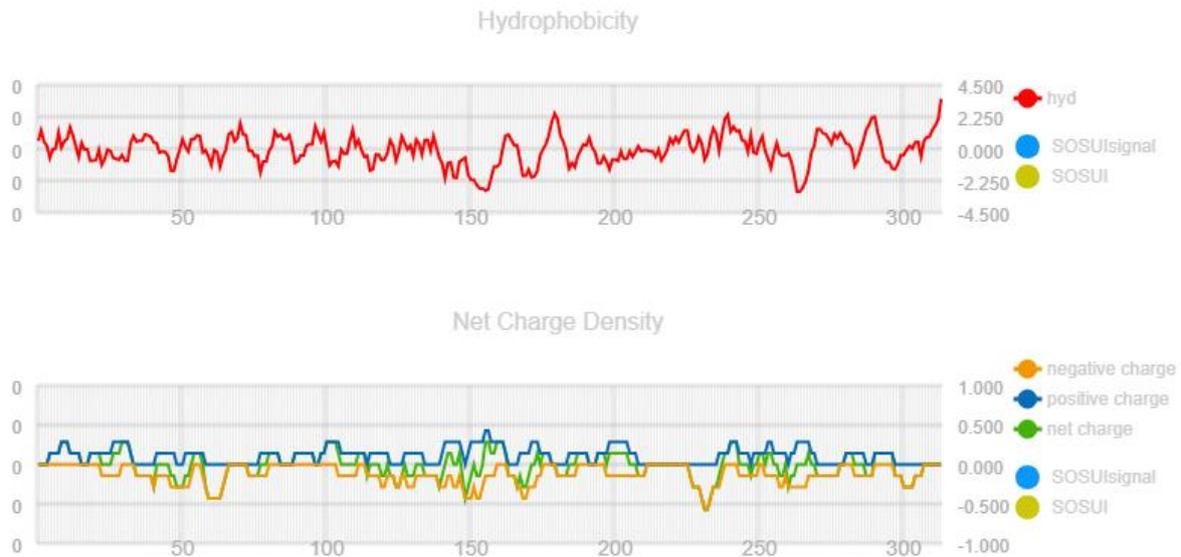
Localization	Cell wall & surface	Extracellular	Cytoplasmic	Cytoplasmic Membrane	Outer Membrane	Periplasmic
Probability	0.0001	0.006	0.9881	0.0005	0.0048	0.0005

**Figure 8. Résultats de la prédiction de la localisation subcellulaire de la protéine isoaspartyl peptidase (A0A3P3ZKS9) d'*Arthrospira platensis*.**

### 4. Prédiction de la solubilité protéique

Le logiciel SOSUI détermine la nature soluble ou transmembranaire des protéines en analysant deux paramètres clés : l'hydrophobicité moyenne et la densité de charge nette, avec une fiabilité atteignant 99%.

L'analyse de la séquence protéique de *A. platensis*, illustrée par la **Figure 9**, révèle un profil typique des protéines solubles. Cette conclusion s'appuie notamment sur l'absence de domaine hydrophobe caractéristique des hélices transmembranaires, généralement situé dans les régions terminales des protéines transmembranaires (Hirokawa *et al.*, 1998).



**Figure 9. Diagrammes d'hydropathie et de charge nette utilisée pour prédire la solubilité de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis* via le serveur SOSUI.**

Les analyses physicochimiques précédentes révèlent une forte cohérence avec les profils illustrés dans les graphiques. Un score GRAVY négatif (-0,082) confirme la présence majoritaire de régions hydrophiles, ce qui est clairement visible sur le premier graphique. Par ailleurs, la balance entre résidus chargés (39 négatifs contre 31 positifs, soit un excès net de +8) correspond au profil de charge globalement équilibré, bien qu'avec une légère tendance négative, comme le montre le second graphique. Cette bonne adéquation entre les données analytiques et les représentations graphiques conforte l'hypothèse d'une protéine soluble.

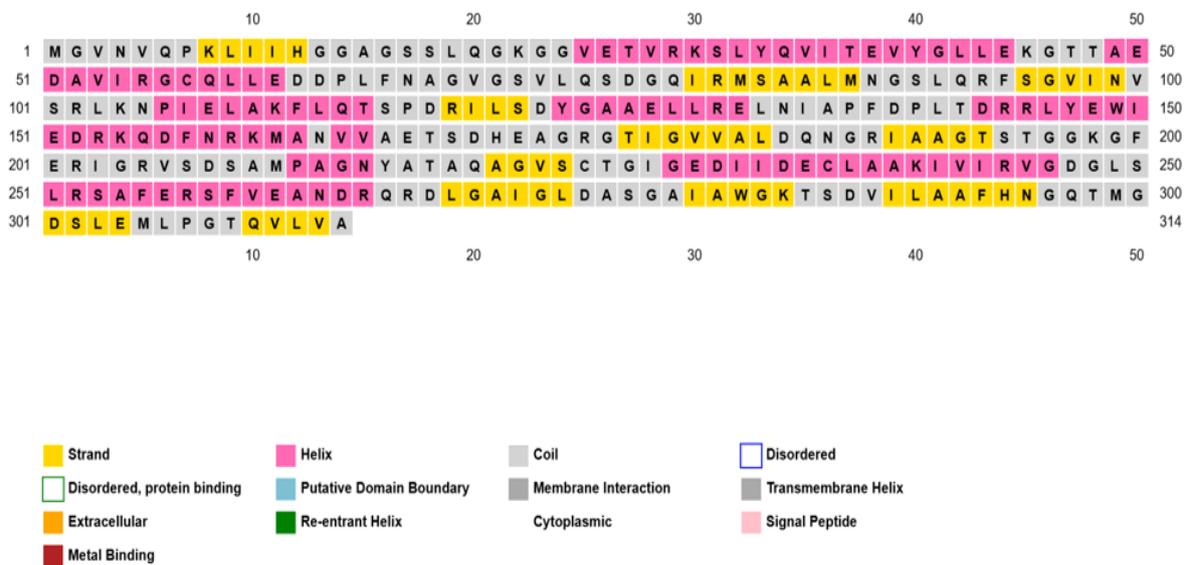
### 5. Analyse de la structure secondaire

Selon les prédictions obtenues via SOPMA (paramètres par défaut: fenêtre de 17 acides aminés, seuil de similarité à 8 et 3 états de structure), l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* présente principalement des boucles (Random coils, 154 résidus), devant les hélices  $\alpha$  (111 résidus) et les feuilletts  $\beta$  (Extended strand, 49 résidus), comme illustré dans le **Tableau 10**.

**Tableau 10. Prédiction de la structure secondaire de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis* par SOPMA.**

hélices $\alpha$	Random coils	Extended strand
35.35%	49.04%	15.61%

L'analyse de la séquence protéique a été complétée par le logiciel PSIPRED, qui a permis de prédire la structure secondaire avec une grande fiabilité. Comme le montre la **Figure 10**, cet outil a fourni à la fois une annotation détaillée de la séquence et des représentations graphiques claires de la structure prédite. Les résultats obtenus confirment l'absence de peptide signal ainsi que de toute hélice transmembranaire dans la séquence analysée. Les représentations graphiques mettent en évidence une excellente fiabilité des éléments structuraux prédits.



**Figure 10. Prédiction de la structure secondaire de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis* par le serveur PSIPRED. Diagramme d'annotation de séquence. (brins  $\beta$ :jaune, hélices  $\alpha$ :rose et boucles: gris).**

## **6. Analyse de la structure tertiaire**

### **6.1. Prédiction de la structure tertiaire**

La structure tertiaire de la protéine cible d'isoaspartyl peptidase a été modélisée en utilisant six approches différentes de prédiction structurale. Parmi les outils employés, certains s'appuient sur des méthodes basées sur l'homologie, tels que SWISS-MODEL, Phyre<sup>2</sup>, I-TASSER, LOMETS et CEThreader, qui comparent la séquence cible à des protéines de structure connue. En complément, AlphaFold, un algorithme avancé reposant sur l'intelligence artificielle (IA), a également été utilisé pour générer un modèle prédictif. Un modèle initial a été produit pour chaque serveur afin de comparer et valider les résultats.

### **6.2. Raffinement des structures tertiaire prédite**

Après optimisation à l'aide de l'outil GalaxyWeb, cinq modèles distincts ont été générés pour chaque modèle protéique à partir des différents serveurs de prédiction. Le modèle final a été sélectionné sur la base de critères de qualité structurale, en privilégiant les scores MolProbity et Clash les plus bas, ainsi que la meilleure favorabilité selon l'analyse Ramachandran (Rama). Les données détaillées des évaluations sont disponibles dans **les Tableaux supplémentaires (S1 à S6)**.

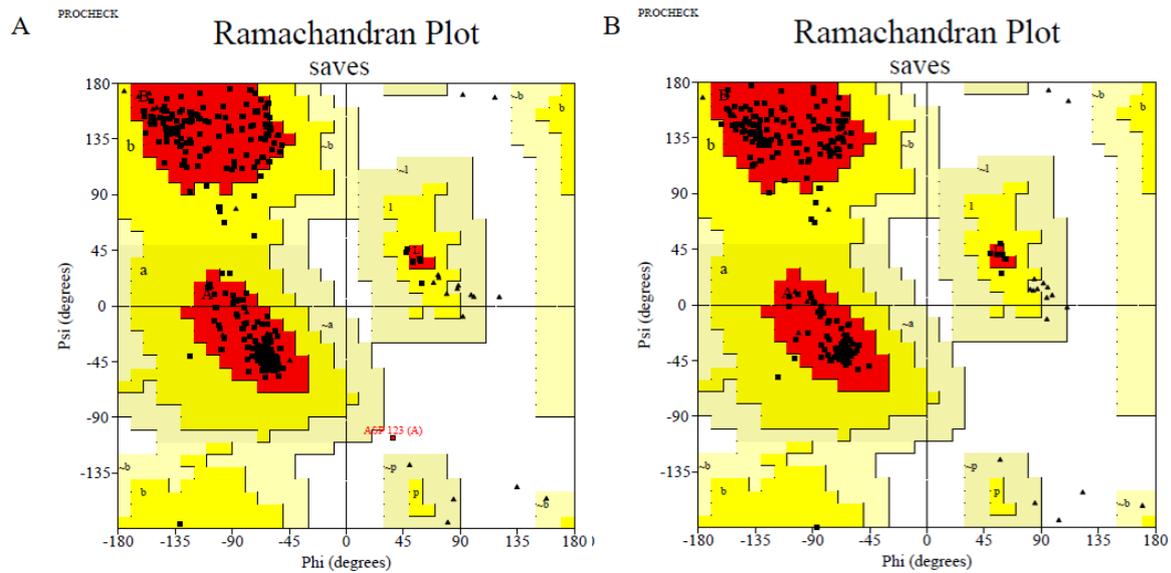
### **6.3. Validation des structures tertiaires**

La validation du modèle structural optimal a été réalisée à l'aide de plusieurs outils intégrés dans le serveur SAVE. Parmi ceux-ci, **PROCHECK** qui a permis une évaluation approfondie de la qualité stéréochimique des modèles grâce à l'analyse des diagrammes de Ramachandran. Une comparaison systématique a été effectuée entre les profils conformationnels des modèles initiaux et raffinés, dont les résultats quantitatifs sont présentés dans le **Tableau 11**.

**Tableau 11. Analyse du tracé de Ramachandran des modèles d'isoaspartyle peptidase d'*A.platensis* générés à l'aide de l'outil PROCHECK.**

Modèle	Type de modèle	Région favorable	Région autorisée supplémentaire	Région autorisée généreusement	Région interdite
SWISS-MODEL	Initiale	93.2%	6.1%	0.4%	0.4%
	Raffinée	96.2%	3.4%	0.0%	0.4%
AlphaFold	Initiale	93.6%	6.0%	0.0%	0.4%
	Raffinée	<b>96.2%</b>	3.8%	0.0%	0.0%
Phyre <sup>2</sup>	Initiale	88.7%	9.1%	1.7%	0.4%
	Raffinée	89.3%	9.8%	1.0%	0.0%
I-TASSER	Initiale	79.7%	16.2%	1.9%	2.3%
	Raffinée	88.7%	9.4%	0.4%	1.5%
LOMETS	Initiale	83.5%	11.3%	4.1%	1.1%
	Raffinée	87.6%	9.0%	1.1%	2.3%
CEthreader	Initiale	88.0%	9.8%	1.1%	1.1%
	Raffinée	91.0%	6.4%	0.8%	1.9%

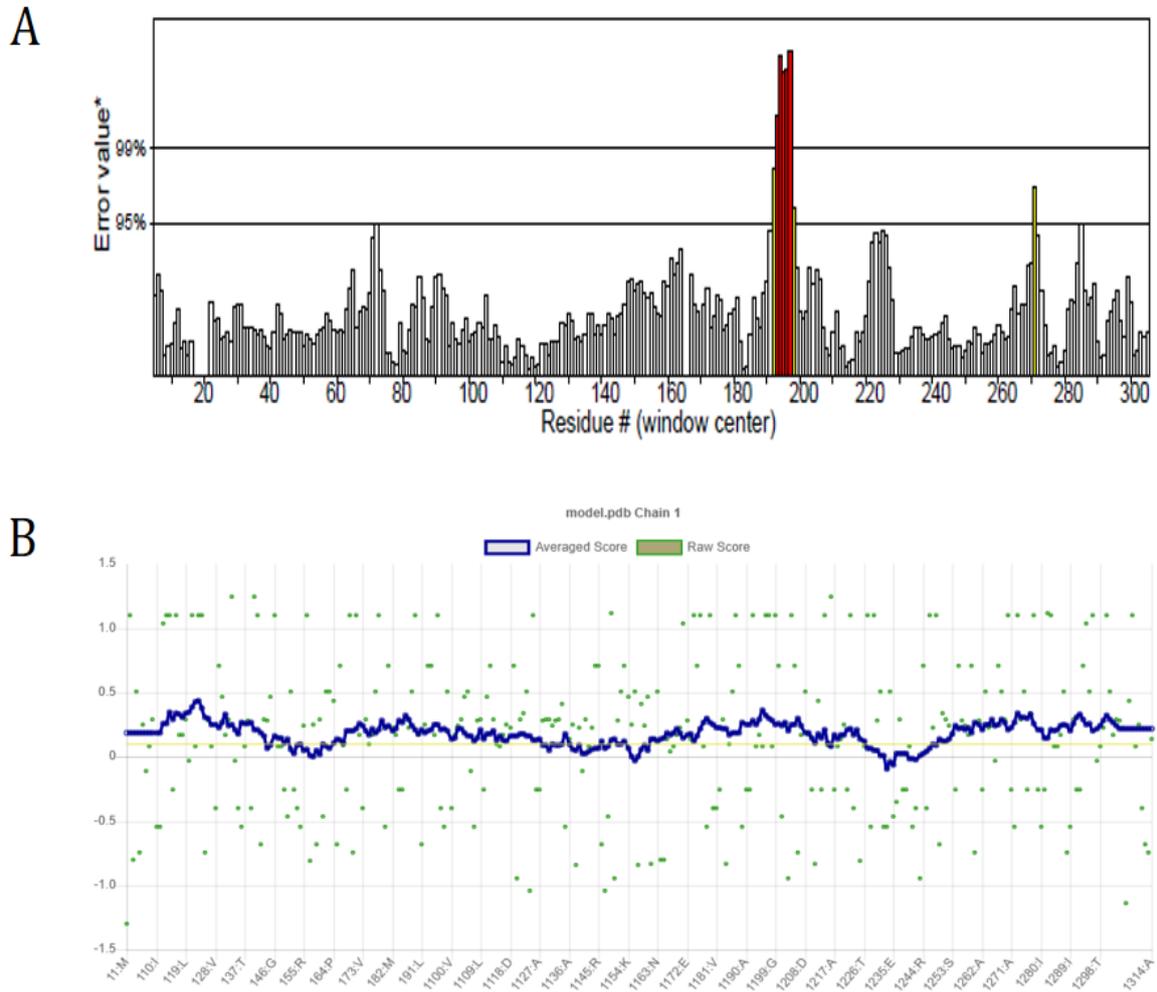
Après raffinement, le modèle produit par AlphaFold a été retenu comme structure optimale en raison de ses propriétés stéréochimiques remarquables. Plus précisément, l'analyse révèle que **96,2%** des résidus se situent dans les régions favorables du diagramme de Ramachandran (**Figure 11**), un score dépassant les standards de qualité du PDB (généralement >90% pour les structures expérimentales de haute résolution) (Williams *et al.*, 2018).



**Figure 11. Résultats de la validation du modèle structuraux de phyre<sup>2</sup> par le diagramme de Ramachandran généré par PROCHECK (serveur SAVES). A) Modèle initial. B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires a, b, l et p (en jaune), les régions généreusement autorisées ~a, ~b, ~l et ~p (en jaune clair), et les régions non autorisées en blanc. Les résidus non glyciniques et non proliniques sont représentés par des carrés remplis de noir, et les glycines non-terminales sont représentées par des triangles remplis de noir.**

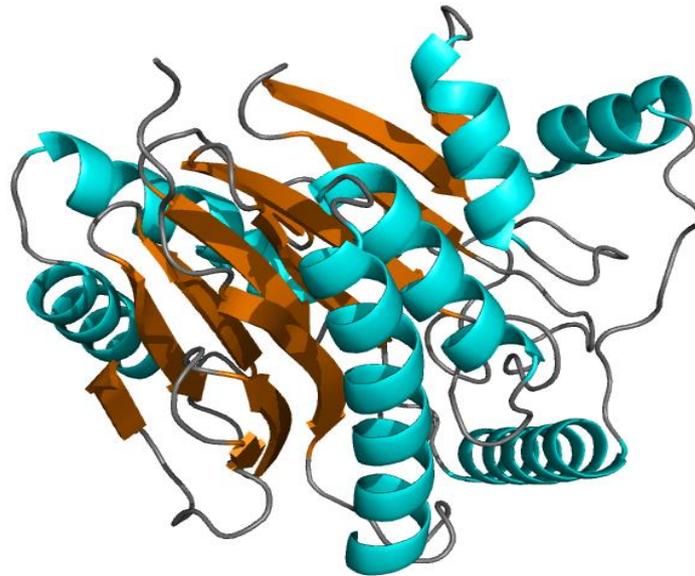
L'évaluation de la qualité du modèle protéique a été réalisée grâce à une approche complémentaire combinant les outils ERRAT et Verify3D. L'analyse par ERRAT a révélé un score exceptionnel de 97.306, témoignant d'une très haute fiabilité structurale avec une occurrence négligeable d'erreurs conformationnelles, L'étude Verify3D a quant à elle démontré que 81.53% des résidus présentaient une adéquation satisfaisante entre leur positionnement tridimensionnel et leurs caractéristiques physico-chimiques, validant ainsi la pertinence du repliement protéique obtenu (**Figure 12**).

Ces résultats convergents attestent de la qualité supérieure du modèle généré, le rendant parfaitement adapté à des études structurales et fonctionnelles ultérieures. La cohérence interne des données obtenues par ces deux méthodes distinctes renforce considérablement la validité du modèle moléculaire.



**Figure 12. Validation de a qualité structurale du modèle généré par AlphaFold. A)** Analyse de la qualité structurale du modèle protéique à l'aide de l'outil « ERRAT ». Le graphique présente le score de qualité basé sur les interactions non liées entre les atomes. **B)** Évaluation de la compatibilité 3D–1D du modèle protéique à l'aide de l'outil Vérifier 3D, Le graphique montre la moyenne (ligne bleue) et les scores bruts (points verts).

Ces résultats convergents attestent de la qualité supérieure du modèle généré, le rendant parfaitement adapté à des études structurales et fonctionnelles ultérieures. La cohérence interne des données obtenues par ces deux méthodes distinctes renforce considérablement la validité du modèle moléculaire (**Figure 13**).

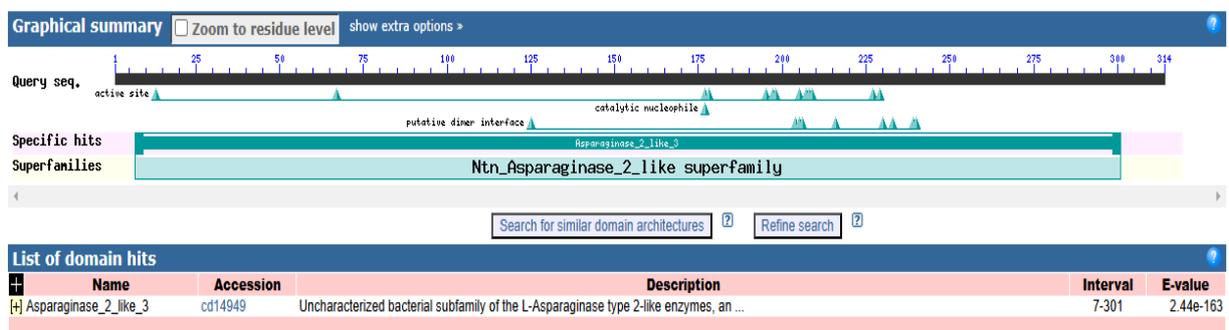


**Figure 13.** Structure 3D raffinée de l'enzyme isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis*, générée par AlphaFold.

## 7. Analyse fonctionnelle

### 7.1. Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés

Les protéines doivent leurs propriétés fonctionnelles à des unités structurales fondamentales appelées domaines. Ces éléments architecturaux, hautement conservés au cours de l'évolution, déterminent à la fois la conformation tridimensionnelle et l'activité biologique des protéines (Fong & Marchler-Bauer, 2008). contrairement à la majorité des protéines qui présentent une organisation multimodulaire complexe (Vogel *et al.*, 2004), Certaines protéines de petite taille ont une structure simple, avec un seul domaine fonctionnel. Cette particularité structurale est clairement mise en évidence dans nos résultats (**Figure 14**), confirmant les observations antérieures (Schmidt & Davies, 2007).



**Figure 14.** Analyse du domaine de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis* à l'aide du programme CDD.

L'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* est classée à l'origine comme une nouvelle asparaginase de type végétal, en raison d'une forte homologie de séquence avec des enzymes supposées fonctionner comme des l- asparaginases végétales. Cette enzyme appartient à la famille des Ntn (nucléophiles N-terminaux) hydrolases , classées pour la première fois par (Brannigan *et al.*, 1995).

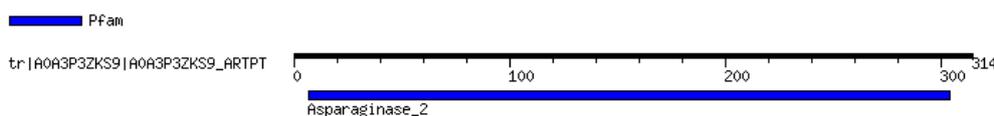
Tous les membres identifiés de cette famille possèdent un nucléophile catalytique caractéristique situé à l'extrémité N-terminale, généré lors de l'autoactivation au sein du repliement structural  $\alpha\beta\alpha$  typique, qui joue un rôle essentiel en servant de cadre catalytique, facilitant l'étape d'activation autocatalytique qui libère le nucléophile N-terminal, lequel constitue ensuite le site actif de l'enzyme (Linhorst & Lübke, 2022).

## 7.2. Recherche de motifs protéiques

L'exploration bioinformatique de la séquence de l'isoaspartyl peptidase a permis d'identifier un motif structural significatif par le serveur MOTIF finder. L'analyse a mis en évidence la présence du domaine Asparaginase\_2 (accession PF01112 dans la base de données Pfam), un élément fonctionnel bien caractérisé dans cette famille d'enzymes, localisé entre les positions 7 et 304, avec une valeur E de 1,5e-107,confirment le résultat obtenue par la base de données CDD (Figure 15).

### Result of MotifFinder

Number of found motif: 1 



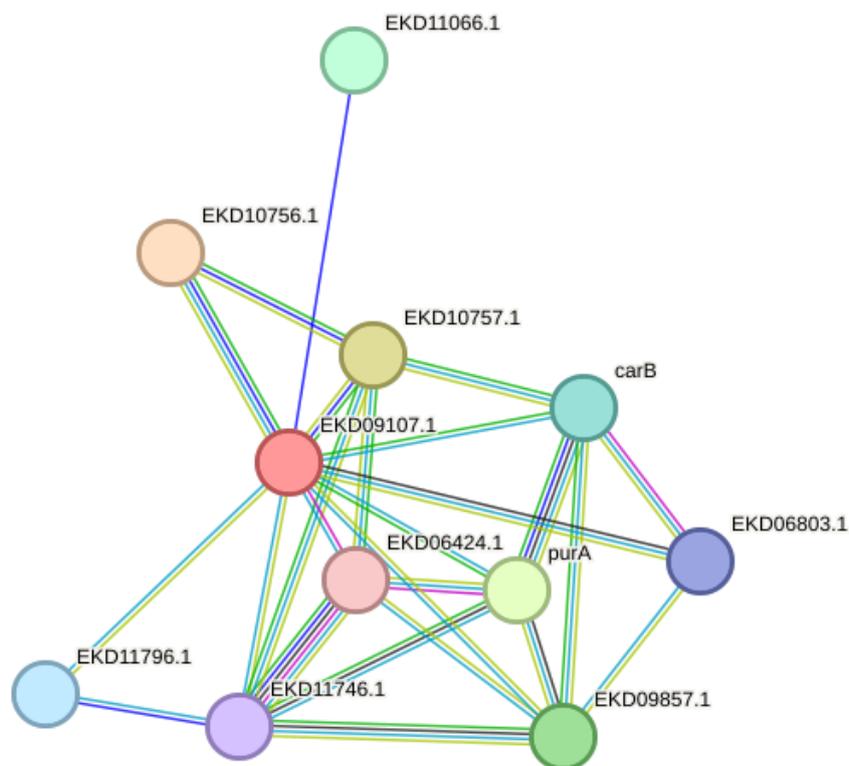
Pfam (1 motif)

Pfam	Position(Independent E-value)	Description
<a href="#">Asparaginase_2</a>	7..304(1.5e-107) <a href="#">Detail</a>	PF01112, Asparaginase

**Figure 15. Identification *in silico* des motifs fonctionnels conservés de l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* par MOTIF Finder.**

### 7.3. Interactions protéine-protéine

La séquence de l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* (EKD09107.1) a servi de requête pour établir son réseau d'interactions potentielles à l'aide de la base STRING v11.5. Cette plateforme intègre à la fois des données expérimentales validées et des prédictions bioinformatiques pour reconstituer les associations moléculaires. L'analyse a identifié dix partenaires d'interaction présentant des scores de confiance compris entre 0,564 et 0,830. La cyanophycinase EKD10756.1 montre l'affinité la plus élevée (un score de 0,830), tandis que l'aspartate aminotransférase EKD06424.1 présente l'association la plus faible (un score de 0,564). Les résultats, sont illustrés dans la **Figure 16** et détaillés au **Tableau 12**.



**Figure 16. Analyse du réseau d'interactions protéine-protéine de la protéine isoaspartyl peptidase identifiée à l'aide de la base de données STRING.** Ses partenaires fonctionnels attendus chez *Arthrospira platensis* étaient indiqués par le nœud rouge (protéine isoaspartyl peptidase) et d'autres nœuds.

**Tableau 12. Partenaires protéiques fonctionnels prédits par l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis*.**

Nœud	Annotation	score
EKD10756.1	Cyanophycinase	0,830
EKD10757.1	Cyanophycine synthétase	0,663
purA	Adénylosuccinate synthétase	0,617
EKD09857.1	Asparagine synthase	0,606
EKD11066.1	Protéine hypothétique	0,593
glucideB	Grande sous-unité de la carbamoyl-phosphate synthase	0,577
EKD11796.1	L-asparaginase II.	0,569
EKD06803.1	Agmatinase	0,568
EKD11746.1	Aspartate kinase	0,564
EKD06424.1	Aspartate aminotransférase	0,564

#### 7.4. Docking moléculaire et Analyse de site actif

Une étude de docking moléculaire a été menée afin d'examiner les interactions potentielles entre divers ligands et l'isoaspartyl peptidase, l'enzyme cible d'*A. platensis*. L'analyse a été effectuée à l'aide du serveur CB-Dock2, en utilisant la meilleure structure raffinée de l'enzyme et la structure 3D minimisée pour chacun des ligands sélectionnés. L'arrangement a été réalisé pour 7 ligands candidats.

Les données obtenues révèlent un spectre d'affinités remarquable parmi les ligands testés. Deux composés se distinguent par leur forte interaction avec le site actif : l'estradiol (-7 kcal/mol) et le Darunavir (-6,8 kcal/mol), présentant les énergies de liaison les plus favorables. Une classe intermédiaire inclut l'estriol (-6,7 kcal/mol), le thiorphan (-5,6 kcal/mol) et la citrulline (-5,4 kcal/mol), montrant des affinités modérées. À l'autre extrémité du spectre, la chloroquine et l'asparagine affichent des interactions plus faibles, avec des scores similaires autour de -5 kcal/mol (**Tableau 13**).

L'analyse CB-Dock2 a identifié le ligand le plus optimal en fonction de l'énergie de liaison la plus faible, telle que déterminée par les scores Vina et la taille estimée de la cavité. Cinq modèles d'interaction potentiels ont été générés pour évaluer l'affinité de liaison entre le modèle enzymatique de l'isoaspartyl peptidase et les ligands sélectionnés.

**Tableau 13. Énergie de liaison minimale et taille de cavité prévue pour l'isoaspartyl peptidase à l'aide des scores Vina de l'interface Web CB-DOCK.**

<b>Ligand</b>	<b>Pubchem CID</b>	<b>Score de Vina (kcal/mol)</b>	<b>Volume de la cavité (Å<sup>3</sup>)</b>
<b>Estradiol</b>	5757	-7	108
<b>Estriol</b>	5756	-6.7	108
<b>Asparagine</b>	6267	-5	1078
<b>Citrulline</b>	9750	-5.4	610
<b>Chloroquine</b>	2719	-5.1	108
<b>Thiorphan</b>	3132	-5.6	1078
<b>Darunavir</b>	213039	-6.8	108

La présente étude *in silico* a révélé pour la première fois que cette gamme de ligands peuvent se lier fortement à l'isoaspartyl peptidase dépassant même l'affinité du ligand asparagine habituellement docké au L-asparaginase (-5kcal/mol).

Ces résultats fournissent des données précieuses pour comprendre les propriétés de fixation de cette enzyme, ouvrant des perspectives pour des applications biotechnologiques ou pharmacologiques.

L'étude du complexe enzymatique révèle que l'estradiol présente la meilleure affinité de liaison avec l'isoaspartyl peptidase (**Figure 17.A**), caractérisée par une énergie de liaison prédite de -7 kcal/mol. La poche de liaison, d'un volume de 108 Å<sup>3</sup>, est constituée de 5 résidus principalement en interaction, ARG159, ASN163, ALA166, HIS171, GLU201. L'analyse des interactions révèle que la liaison est médiée par des liaisons hydrogène, des liaisons conventionnel carbone-hydrogène ainsi des interactions alkyl.

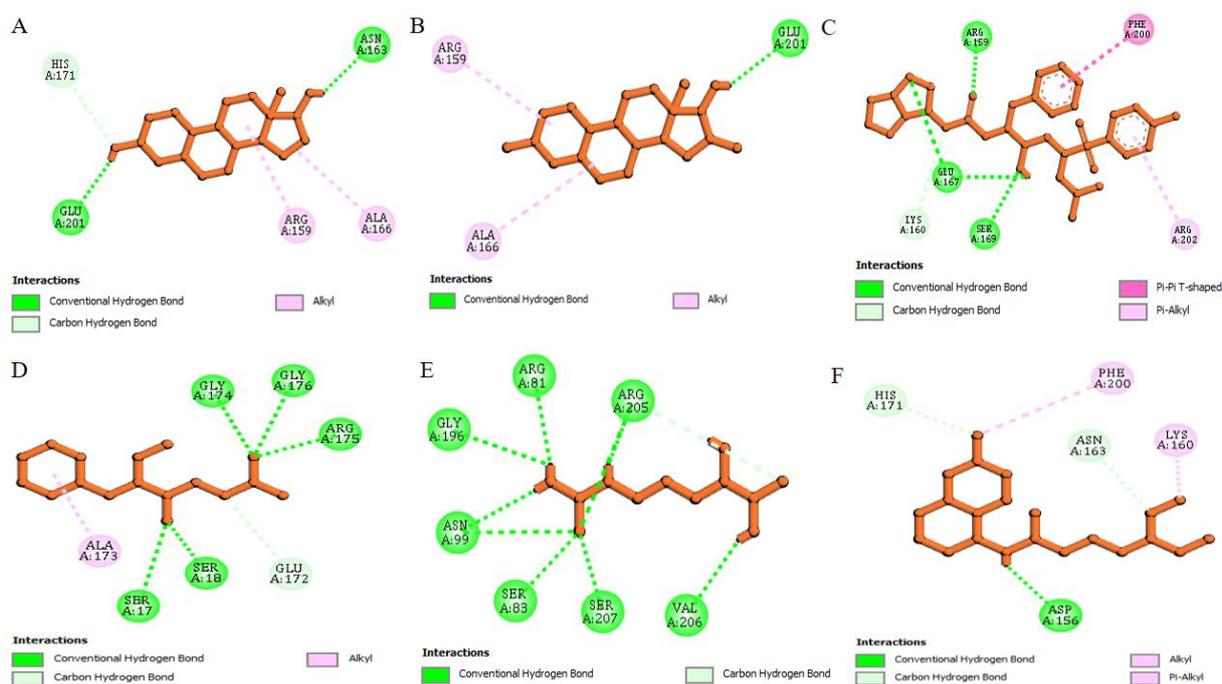
Le ligand estriol présente la meilleure affinité de liaison avec l'isoaspartyl peptidase, avec une énergie de liaison prédite de -6,7 kcal/mol. Le ligand se positionne dans une cavité de 108 Å<sup>3</sup>, établissant des interactions spécifiques avec trois résidus clés : ARG159, ALA166 et GLU201. Le complexe protéine-ligand (**Figure 17.B**) se stabilise par deux interactions de type alkyl et une liaison hydrogène conventionnelle.

Le ligand darunavir présente une forte affinité pour l'isoaspartyl peptidase, avec une énergie de liaison prédite de -6,8 kcal/mol pour son mode d'interaction le plus favorable. Le ligand s'oriente dans une cavité enzymatique de 108 Å<sup>3</sup>, établissant des interactions spécifiques avec des résidus clés du site actif, ARG159, LYS60, GLU167, SER169, PHE200 et ARG202 et se stabilise principalement par la formation des liaisons hydrogène conventionnelles, des liaisons carbone-hydrogène, ainsi des interactions Pi-Pi T-shaped et Pi-alkyl (**Figure 17.C**).

Le ligand thiorphan exhibe une affinité notable pour l'isoaspartyl peptidase, comme en témoigne son énergie de liaison prédite de -5,6 kcal/mol pour la conformation la plus stable. Le composé s'installe dans une poche catalytique de 1078 Å<sup>3</sup>, établissant des contacts moléculaires précis avec plusieurs résidus essentiels : SER17, SER18, GLU172, ALA173, GLY174, ARG175 et GLY176. L'analyse révèle trois types d'interactions moléculaires, des liaisons hydrogène conventionnelles, des liaisons carbone-hydrogène et des interactions de type alkyl (**Figure 17.D**).

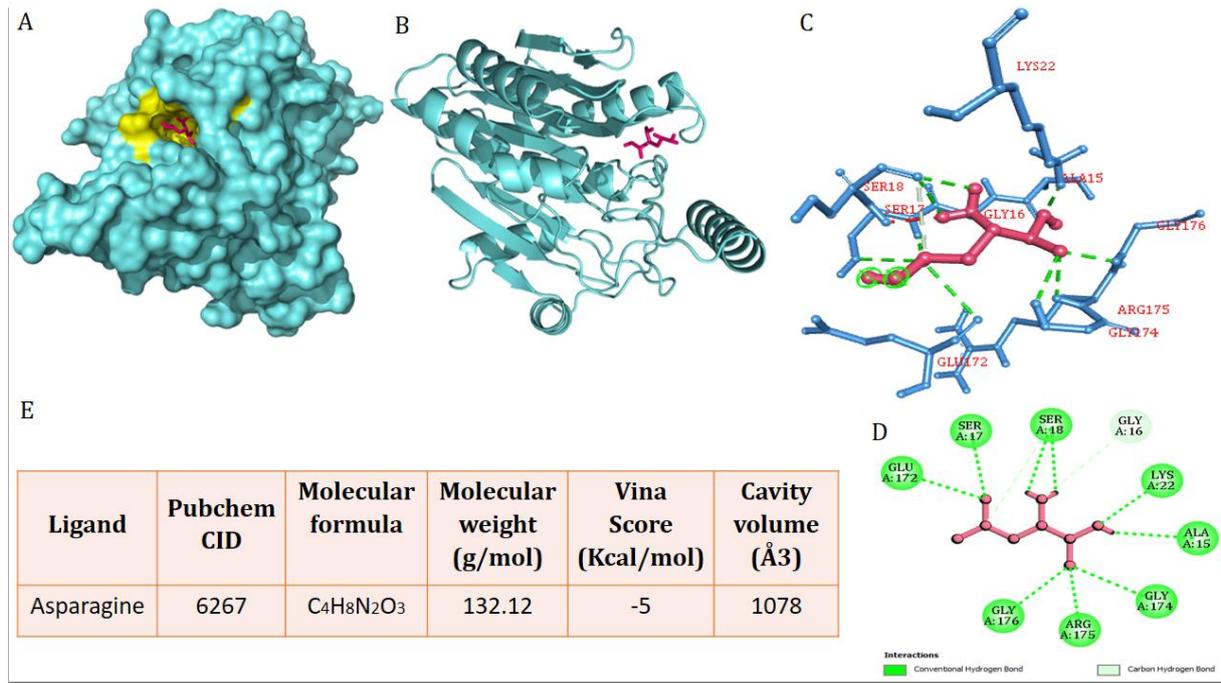
Le ligand citrulline présente une affinité marquée pour l'isoaspartyl peptidase, avec une énergie de liaison prédite de -5,4 kcal/mol pour son mode d'interaction optimal. Le ligand s'engage dans la poche catalytique de l'enzyme (volume de 610 Å<sup>3</sup>), où il établit un réseau d'interactions spécifiques avec les résidus SER207, SER83, GLY196, ARG81, ARG205, VAL206 et ASN99 (**Figure 17.E**). La stabilité du complexe résulte principalement de la formation de deux types de liaisons, des liaisons hydrogène et une liaison carbone-hydrogène.

Le ligand chloroquine présente une forte affinité pour l'isoaspartyl peptidase, avec une énergie de liaison prédite de -6,8 kcal/mol, révélant ainsi une interaction privilégiée. Le ligand s'encastre de manière optimale dans la cavité enzymatique de 108 Å<sup>3</sup>, établissant des interactions spécifiques avec les résidus HIS171, PHE200, ASN163, LYS160 et ASP156 (**Figure 17.F**). La stabilité du complexe résulte d'un réseau d'interactions variées comprenant des liaisons hydrogène conventionnelles des liaisons carbone-hydrogène, des interactions alkyl et Pi alkyl.



**Figure 17. Diagramme 2D illustrant les différents types d'interactions entre les résidus de l'enzyme isoaspartyl peptidase d'*A.platensis* et les différents ligands, tels qu'observés dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer. A). Estradiol (CID:5757), B). Estriol (CID:5756), C). Darunavir (CID:213039), D). Thiorphan (CID:3132), E). Citrulline (CID:9750), F). Chloroquine (CID:2719).**

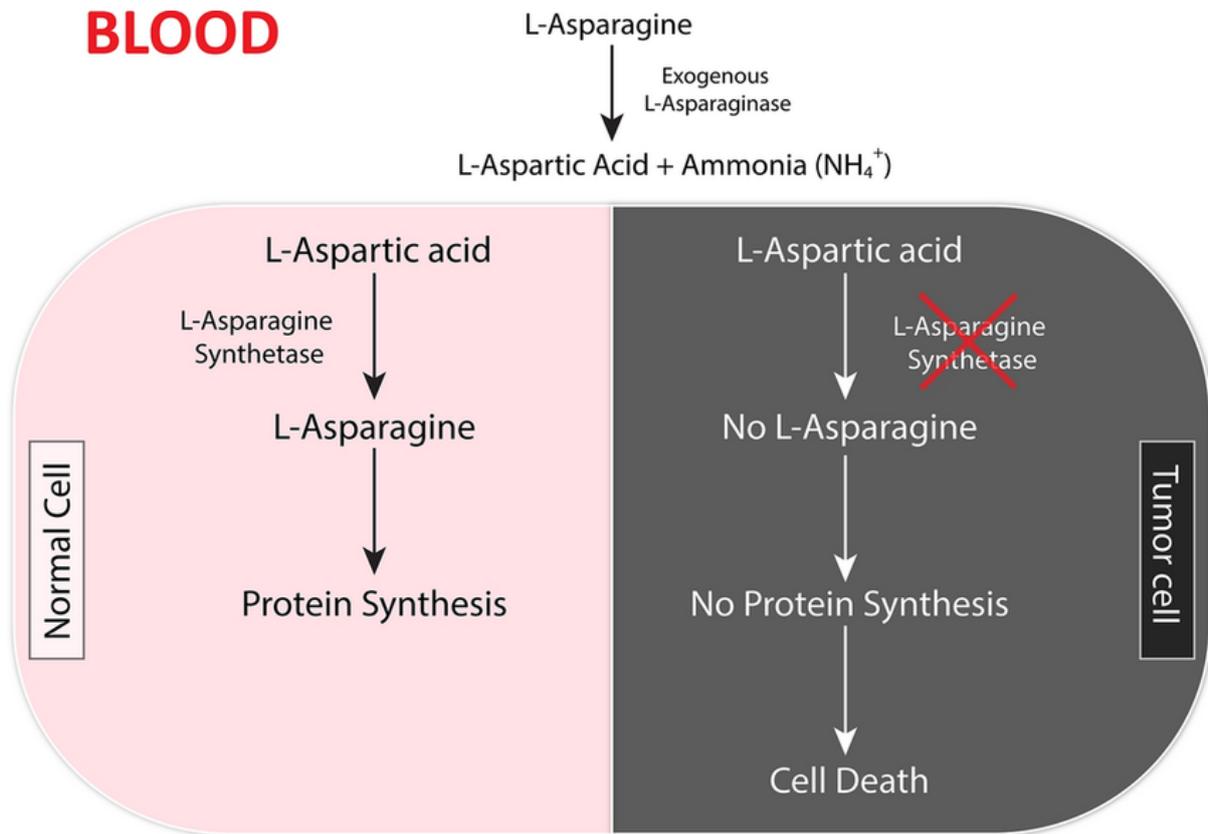
L'analyse par docking moléculaire a mis en évidence des interactions spécifiques entre l'asparagine et les résidus catalytiques Ala15, Gly16, Ser17, Ser18, Lys22, Glu172, Gly174, Arg175 et Gly176. Ces résidus participent à la stabilisation du complexe via des liaisons hydrogène conventionnelles et des liaisons carbone-hydrogène (**Figure 18**).



**Figure 18.** Analyse de l'interaction moléculaire entre le ligand asparagine et le récepteur enzymatique de l'isoaspartyl peptidase d'*Arthrospira platensis*. **A).** L'illustration de la cavité montre la zone de la surface du récepteur protéique où se produit l'interaction ligand-récepteur. **B).** La visualisation du ligand et du récepteur protéique. **C).** Les résidus du récepteur impliqués dans l'interaction avec le ligand, tels qu'observés dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer. **D).** Diagramme 2D illustrant les différents types d'interactions entre les résidus du récepteur et le ligand, tels qu'observés dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer. **E).** Énergie de liaison minimale et taille de cavité prédite pour l'utilisation des scores Vina de l'interface Web CB-DOCK2.

Ce résultat corrobore les données de (Baral *et al.*, 2021), qui ont caractérisé des asparaginases bactériennes (notamment d'*Escherichia coli* et de *Dickeya chrysanthami*), utilisées en clinique contre la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL). Cependant, leur utilisation prolongée peut induire des réactions d'hypersensibilité, motivant la recherche d'alternatives.

En effet, les asparaginases antitumorales hydrolysent la L-asparagine en acide aspartique et ammoniac. Les cellules cancéreuses, dépendantes de l'asparagine extracellulaire (incapables de la synthétiser), subissent une mort sélective, tandis que les cellules saines résistent (Mohideen, 2020) (**Figure 19**).



**Figure 19. Mécanisme d'action de l'enzyme L-asparaginase (Parashiva *et al.*, 2023).**

Une série de 23 espèces a été criblée par docking moléculaire, révélant des énergies de liaison comprises entre -4,2 et -5,1 kcal/mol (**Tableau 14**). Parmi elles, 10 espèces ont été validées expérimentalement, avec détermination de leur constante de Michaelis (Km) et de leur kcat (**Tableau 15**).

**Tableau 14. Variation des résidus du site actif et de l'affinité de liaison de l'asparaginase pour la L-asparagine chez différents organismes (Baral *et al.*, 2021).**

<b>Organisme</b>	<b>Vina score</b>	<b>Résidus du site actif</b>
<i>Streptomyces albidoflavus 1</i>	-4.8	T12, M62, R63, T94, D95
<i>Streptomyces albidoflavus 2</i>	-4.8	T12, M62, R63, T94, D95
<i>Streptomyces albidoflavus 3</i>	-4.5	T12, R63, L64, T94, D95
<i>Streptomyces aurantiacus</i>	-4.2	T13, S54, L55, T83, D84
<i>Streptomyces fradiae 1</i>	-4.9	A12, G43, A44, T75, D76
<i>Streptomyces fradiae 2</i>	-4.9	T8, S50, Y51, T83, D84
<i>Streptomyces globisporus</i>	-4.2	I12, S61, S62, T94, D95
<i>Streptomyces griseus 2</i>	-4.6	T16, P60, G61, T94, D95
<i>Streptomyces katrae</i>	-4.9	T12, S53, P54, T86, D87
<i>Streptomyces venezuelae 1</i>	-4.8	I12, S61, S62, T94, D95
<i>Bacillus licheniformis 1</i>	-4.8	T62, S109, Q110, T142, D143
<i>Bacillus licheniformis 2</i>	-4.6	T63, S110, T111, T143, D144
<i>Azobacter vinelandi</i>	-4.9	T45, S92, E93, T125, D126
<i>Pseudomonas stutzeri 2</i>	-4.9	S80, D81, T113, D114
<i>Bacillus aryabhatai</i>	-4.8	T55, S102, Q103, S135, D136
<i>Helicobacter pylori 1b</i>	-4.8	T34, S80, Q81, T113, D114
<i>Bacillus subtilis 1b</i>	-4.5	T61, S108, T109, T141, D142
<i>Pectobacterium carotovorum 1</i>	-4.4	T34, S81, E82, T114, D115
<i>Pectobacterium carotovorum 2</i>	-4.7	T34, S81, E82, T114, D115
<i>Dickeya chrysanthami 1</i>	-4.4	T36, S83, E84, T116, D117
<i>Dickeya chrysanthami 2</i>	-5	T36, S83, E84, T116, D117
<i>Escherichia coli</i>	-5.1	T34, S80, Q81, T111, D112
<i>Deftia acidovorans</i>	-5.1	T62, S109, E110, T142, D143

Tableau 15. Valeur Km et valeur kcat (extraite de la littérature) de l'enzyme asparaginase envers la L-asparagine de différentes espèces.

Organisme	Km(mM)	Kcat (s <sup>-1</sup> )	Références
<i>Streptomyces albidoflavus 1</i>	-	-	
<i>Streptomyces albidoflavus 2</i>	-	-	
<i>Streptomyces albidoflavus 3</i>	-	-	
<i>Streptomyces aurantiacus</i>	-	-	
<i>Streptomyces fradiae 1</i>	-	-	
<i>Streptomyces fradiae 2</i>	-	-	
<i>Streptomyces globisporus</i>	-	-	
<i>Streptomyces griseus 2</i>	-	-	
<i>Streptomyces katrae</i>	-	-	
<i>Streptomyces venezuelae 1</i>	-	-	
<i>Bacillus licheniformis 1</i>	0.014	2.68 × 10 <sup>3</sup>	(Mahajan et al., 2014)
<i>Bacillus licheniformis 2</i>	-	-	
<i>Azobacter vinelandi</i>	0.11	-	(Kotzia & Labrou, 2007)
<i>Pseudomonas stutzeri 2</i>	0.14	-	(Manna et al., 1995)
<i>Bacillus aryabhatai</i>	0.257	-	(Singh et al., 2013)
<i>Helicobacter pylori 1b</i>	0.29	19.26 +/- 0.56	(Cappelletti et al., 2008)
<i>Bacillus subtilis 1b</i>	0.43	-	(Jia et al., 2013)
<i>Pectobacterium carotovorum 1</i>	0.657	2.751 × 10 <sup>3</sup>	(Kumar et al., 2011)
<i>Pectobacterium carotovorum 2</i>	-	-	
<i>Dickeya chrysanthami 1</i>	-	-	
<i>Dickeya chrysanthami 2</i>	0.058	23.8 × 10 <sup>3</sup>	(Kotzia & Labrou, 2007)
<i>Escherichia coli</i>	0.015	2.4 × 10 <sup>1</sup>	(Derst et al., 2000)
<i>Deftia acidovorous</i>	0.015	-	(Davidson et al., 1977)

Les énergies de liaison obtenues sont comparables à celles de l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis*, suggérant un potentiel thérapeutique similaire. Ces résultats pourraient ouvrir la voie à une alternative aux asparaginases d'*E. coli*, associées à des effets secondaires fréquents.

Bien que prometteurs, ces résultats nécessitent une validation fonctionnelle, des analyses de simulations de dynamique moléculaire pour évaluer la stabilité des complexes, et des tests enzymatiques expérimentales pour confirmer l'activité hydrolytique. Une telle approche intégrative permettrait de combler l'écart entre modélisation informatique et efficacité biologique, accélérant le développement de thérapies plus sûres.

Cette étude révèle des données structuro-fonctionnelles importantes concernant les interactions catalytiques de l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* avec divers ligands, mettant en lumière son potentiel d'application en oncologie. L'analyse détaillée du site actif suggère que des modifications ciblées des résidus catalytiques pourraient permettre d'augmenter l'activité enzymatique et d'améliorer son efficacité thérapeutique. Les avancées récentes en génie génétique et en biotechnologie offrent des perspectives prometteuses pour l'optimisation de cette enzyme.

Au-delà de ses applications anticancéreuses, l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* présente un intérêt majeur dans le métabolisme des protéines. Son rôle dans la dégradation des protéines endommagées, notamment celles contenant des résidus d'isoaspartate accumulés, ouvre des pistes thérapeutiques pour le traitement des maladies neurodégénératives.

En effet, l'accumulation de ces résidus anormaux est impliquée dans la pathogenèse de plusieurs affections neurologiques, dont la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Wang *et al.*, 2022).

*Conclusion*  
*et*  
*Perspectives*

## Conclusion et Perspectives

L'isoaspartyl peptidase (EC 3.4.19.5) est une enzyme de la classe des amidohydrolases spécialisée dans l'hydrolyse des liaisons peptidiques impliquant des résidus isoaspartyle (isoAsp). Ces résidus anormaux résultent par désamidation des asparagines ou isomérisation des acides aspartiques, conduisant à des altérations structurales des protéines.

Cette enzyme présente donc un potentiel intéressant pour diverses applications biotechnologiques. Une caractérisation approfondie par des approches bioinformatiques s'avère nécessaire pour élucider ses propriétés structurales et fonctionnelles. Ces travaux constituent la première étude détaillée d'une isoaspartyl peptidase issue d'*Arthrospira platensis*, apportant ainsi des données novatrices sur cette protéine méconnue.

L'analyse bioinformatique de l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* a permis d'identifier plusieurs propriétés remarquables. Cette enzyme présente un caractère acide et une solubilité optimale à des pH proches de son point isoélectrique théorique. Par ailleurs, elle se distingue par son hydrophilie, sa thermostabilité et sa localisation cytoplasmique. Ces caractéristiques, notamment sa stabilité, en font un candidat prometteur pour des applications expérimentales.

D'un point de vue structural, la protéine présente une proportion importante de régions Random coils dans son arrangement tridimensionnel, ainsi qu'un domaine caractéristique de type asparaginase\_2. Ces éléments structuraux indiquent que cette enzyme appartient à la classe des hydrolases Ntn (utilisant un nucléophile N-terminal), ce qui permet de la classer parmi les asparaginases d'origine végétale.

Cette étude a mis en évidence les propriétés prometteuses de l'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* en tant que biocatalyseur multifonctionnel, notamment pour son activité apparentée à l'asparagine. La modélisation structurale réalisée grâce à différents outils, en particulier AlphaFold, a permis d'obtenir un modèle tridimensionnel précis, révélant d'importantes interactions moléculaires avec des composés comme l'estradiol et l'estriol. L'analyse de la poche active a montré une remarquable plasticité, suggérant une capacité à reconnaître divers substrats, ce qui renforce son intérêt pour des applications biotechnologiques variées notamment anticancéreuses.

*Références*  
*Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

1. Ai, X., Yu, P., Li, X., Lai, X., Yang, M., Liu, F., Luan, F., & Meng, X. J. I. J. o. B. M. (2023). Polysaccharides from *Spirulina platensis*: Extraction methods, structural features and bioactivities diversity. *231*, 123211 .
2. Altmann, B. A., & Rosenau, S. J .F. (2022). *Spirulina* as animal feed: Opportunities and challenges. *11*(7), 965 .
3. Amara, A. A., & Steinbüchel, A. J. I. J. o. B. (2013). New medium for pharmaceutical grade *Arthrospira*. *2013*(1), 203432 .
4. Arnold, K., Bordoli, L., Kopp, J., & Schwede, T. J .B. (2006). The SWISS-MODEL workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling. *22*(2), 195-201 .
5. Assunção, J., Pagels, F., & Guedes, A. C. (2023). Algae biorefinery: strategies for a sustainable industry. In *Algae Materials* (pp. 3 .(433-99Elsevier .
6. Bakli, M., Paşcalău, R., & Şmuleac, L. J. A. R. i. L. S. (2024). AlphaFold Modeling and Computational Analysis of a PHA Synthase from *Actinophytocola algeriensis*. *8*(1), 39-44 .
7. Baral, A., Gorkhali, R., Basnet, A., Koirala, S., & Bhattarai, H. K. J. J. M. (2021). Selection of the optimal L-asparaginase II against acute lymphoblastic leukemia: an in silico approach. *2*(3), e29844 .
8. Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrach, B., Mechichi, T., Ayadi, M. A., Fendri, I., Attia, H., & Abdelkafi, S. J. L. (2017). Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. *84*, 323-330 .
9. Baroroh, U., Biotek, M., Muscifa, Z. S., Destiarani ,W., Rohmatullah, F. G., & Yusuf, M. J. I. J. o. C. B. (2023). Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. *2*(1), 22-30 .
10. Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Haratian, P., Darani ,K. K. J. E. F. R., & Technology. (2012). Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *235*(4), 719-728 .
11. Bellahcen, T. O., Bouchabchoub, A., Massoui, M., & Yachioui, M. E. J. L. J. P.-I.-E.-I.-. (2013). Culture et production de *Spirulina platensis* dans les eaux usées domestiques .(14) .
12. Bjellqvist, B., Hughes, G. J., Pasquali, C., Paquet, N., Ravier, F., Sanchez, J. C., Frutiger, S., & Hochstrasser, D. J. E. (1 .(993The focusing positions of polypeptides in immobilized pH gradients can be predicted from their amino acid sequences. *14*(1), 1023-1031 .
13. Borowitzka, M. A. (2018). Biology of microalgae. In *Microalgae in health and disease prevention* (pp. 23-72). Elsevier .
14. Brannigan, J. A., Dodson, G., Duggleby, H. J., Moody, P. C., Smith, J. L., Tomchick, D. R., & Murzin, A. G. J. N. (1995). A protein catalytic framework with an N-terminal nucleophile is capable of self-activation. *378*(6555), 416-419 .
15. Branyikova, I & ,Lucakova, S. J. O. A. (2021). Technical and physiological aspects of microalgae cultivation and productivity—spirulina as a promising and feasible choice. *11*(2), 269-276 .
16. Brass, A. (2023). Protein Function Prediction. In *DNA Sequencing* (pp. 167-177) . Garland Science .
17. Braune, S., Krüger-Genge, A., Kammerer, S., Jung, F., & Küpper, J.-H. J. L. (2021). Phycocyanin from *Arthrospira platensis* as potential anti-cancer drug: review of in vitro and in vivo studies. *11*(2), 91 .

## Références Bibliographiques

18. Buchan, D. W., & Jones, D. T. J. N. a. r. (2019). The PSIPRED protein analysis workbench: 20 years on. *47*(W1), W402-W407 .
19. Buckley, M. T., Racimo, F., Allentoft, M. E., Jensen, M. K., Jonsson, A., Huang, H., Hormozdiari, F., Sikora, M., Marnetto, D., Eskin, E. J. M. b., & evolution .(2017) . Selection in Europeans on fatty acid desaturases associated with dietary changes. *34*(6), 1307-1318 .
20. Cai, B., Yi, X., Han, Q., Pan, J., Chen, H., Sun, H., Wan, P. J. F. S., & Wellness, H. (2022). Structural characterization of oligosaccharide from *Spirulina platensis* and its effect on the faecal microbiota in vitro. *11*(1), 109-118 .
21. Cappelletti, D., Chiarelli, L. R., Paschetto, M. V., Stivala, S., Valentini, G., Scotti, C. J. B., & communications, b. r. (2008). Helicobacter pylori-asparaginase: a promising chemotherapeutic agent. *377*(4), 1222-1226 .
22. Castenholz, R. J. F.-g. I. G. S. N. A. (2001). The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria .
23. Chang, M., Liu, K. J. I. J. o. F. S., & Technology. (2024). *Arthrospira platensis* as future food: A review on functional ingredients, bioactivities and application in the food industry. *59*(3), 1197-1212 .
24. Chooapani, A., Poorsoltan, M., Fazilati, M., Latifi, A. M., & Salavati, H. J. J. o. A. B. R. (2016). *Spirulina*: a source of gamma-linoleic acid and its applications. *3*(4), 483-488 .
25. Ciferri, O. J. M. r. (1983). *Spirulina*, the edible microorganism. *47*(4), 551-578 .
26. Colovos, C., & Yeates, T. O. J. P. s. (1993). Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *2* .1519-1511 ,(9)
27. Cruchot, H. (2008). *La spiruline: bilan et perspectives*
28. da Silva, R. C., Siqueira, A. S., Lima, A. R. J., de Melo Lima, A., Santos, A. S., Aguiar, D. C. F., & Gonçalves, E. C. J. J. o. M. M. (2018). In silico characterization of a cyanobacterial plant-type isoaspartyl aminopeptidase/asparaginase. *24*, 1-10 .
29. Davidson, L., Brear, D. R., Wingard, P., Hawkins, J., & Kitto, G. B. J. J. o. b. (1977). Purification and properties of L-glutaminase-L-asparaginase from *Pseudomonas acidovorans*. *129* .1386-1379 ,(3)
30. Derst, C., Henseling, J., & Röhm, K.-H. J. P. S. (2000). Engineering the substrate specificity of *Escherichia coli* asparaginase II. Selective reduction of glutaminase activity by amino acid replacements at position 248. *9*(10), 2009-2017 .
31. Dolganyuk, V., Andreeva, A., Budenkova, E., Sukhikh, S., Babich, O., Ivanova, S., Prosekov, A., & Ulrikh, E. J. B. (2020). Study of morphological features and determination of the fatty acid composition of the microalgae lipid complex. *10*(11), 1571 .
32. Donadio ,G., Santoro, V., Dal Piaz, F., & De Tommasi, N. J. N. (2021). Food matrices affect the peptides produced during the digestion of *Arthrospira platensis*-based functional aliments. *13*(11), 3919 .
33. Dorer, F. E., Haley, E. E., Buchanan, D. L. J. A. o. B., & Biophysics. (1968). The hydrolysis of  $\beta$ -aspartyl peptides by rat tissue. *127*, 490-495 .
34. Draaisma, R. B., Wijffels, R. H., Slegers, P. E., Brentner, L. B., Roy, A., & Barbosa, M. J. J. C. o. i. b. (2013). Food commodities from microalgae. *24*(2), 169-177 .
35. Falquet, J., & Hurni, J. J. A. T., Geneva. (2006). *Spirulina*, Nutritional Aspects .
36. Feng, B., Pei, Y., Zhang, W., Zheng, Q., & Zhou, Y. J. D. O. (2024). Asparaginase and isoaspartyl peptidase 1 RNA interference suppresses the growth of nasopharyngeal carcinoma cells. *15*(1), 1-10 .
37. Fong, J. H., & Marchler-Bauer, A. J. B. r. n. (2008). Protein subfamily assignment using the Conserved Domain Database. *1*, 1-6 .
38. Fox, R. D. (1999). *La spiruline: Technique, pratique et promesse*. Edisud .
39. Franco, F. N., Oliveira ,J. T., Tecchio, K. B., Santos, F. A., Rêgo, M. J., Mendonça-Júnior, F. J., Pitta, M. G., Pereira, M. C., Ribeiro, R. I., & Santos, V. J. J. E. J. o. M. C.

## Références Bibliographiques

- R. (2022). Synthetic thiophenes induce chromosomal damage and trigger apoptosis in human cancer cell lines. *4*, 100033 .
40. Fujisawa, T., Narikawa, R., Okamoto, S., Ehira, S., Yoshimura, H., Suzuki, I., Masuda, T., Mochimaru, M., Takaichi, S., & Awai, K. J. D. r. (2010). Genomic structure of an economically important cyanobacterium, *Arthrospira (Spirulina) platensis* NIES-39. *17(2)*, 85-103 .
41. Furmaniak, M. A., Misztak, A. E., Franczuk, M. D., Wilmotte, A., Waleron, M., & Waleron, K. F. J. F. i. M. (2017). Edible cyanobacterial genus *Arthrospira*: Actual state of the art in cultivation methods, genetics, and application in medicine. *8*, 2541 .
42. García-Encinas, J. P., Ruiz-Cruz, S., Juárez, J., Ornelas-Paz, J. d. J., Del Toro-Sánchez, C. L., & Márquez-Ríos, E. J. F. (2025). Proteins from Microalgae: Nutritional, Functional and Bioactive Properties. *14(6)*, 921 .
43. Gary, J. D., & Clarke, S. J. J. o. B. C. (1995). Purification and characterization of an isoaspartyl dipeptidase from *Escherichia coli*. *270(8)*, 4076-4087 .
44. Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S. e., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005a). *Protein identification and analysis tools on the ExPASy server*. Springer .
45. Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S. e., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. J. T. p. p. h. (2005b). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *571-607* .
46. Gentscheva, G., Nikolova, K., Panayotova, V., Peycheva, K., Makedonski, L., Slavov, P., Radusheva, P., Petrova, P., & Yotkovska, I. J. L. (2023). Application of *Arthrospira platensis* for medicinal purposes and the food industry: a review of the literature. *13(3)*, 845 .
47. Geourjon, C., & Deleage, G. J. B. (1995). SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments. *11(6)*, 681-684 .
48. Girgert, R., Emons, G., & Gründker, C. J. B. c. (2014). Inhibition of GPR30 by estriol prevents growth stimulation of triple-negative breast cancer cells by 17 $\beta$ -estradiol. *14*, 1-12 .
49. Godara, P., Naik, B., Meghwal, R., Ojha, R., Srivastava, V., Prajapati, V. K., & Prusty, D. J. L. S. (2022). Rational designing of peptide-ligand conjugates-based immunotherapy for the treatment of complicated malaria. *311*, 121121 .
50. Guruprasad, K., Reddy, B. B., Pandit, M. W. J. P. E., Design, & Selection. (1990). Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: a novel approach for predicting in vivo stability of a protein from its primary sequence. *4(2)*, 155-161 .
51. Guzhova, I., Mikeladze, M., Kuznetcova, L., Komarova, E., Galcheva, M., Lazarev, V., Khamaev, L., Danilova, A., Margulis, B., & Alhasan, B. (2025). Chloroquine Overcomes Chemotherapy Resistance and Suppresses Cancer Metastasis by Eradicating Dormant Cancer Cells .
52. Haley, E. E. J. J. o. B. C. (1968). Purification and properties of a  $\beta$ -aspartyl peptidase from *Escherichia coli*. *243(21)*, 5748-5752 .
53. Hanada, K., Kawada, K., & Obama, K. J. N. (2025). Targeting Asparagine Metabolism in Solid Tumors. *17(1)*, 179 .
54. Heo, L., Park, H., & Seok, C. J. N. a. r. (2013). GalaxyRefine: Protein structure refinement driven by side-chain repacking. *41(W1)*, W384-W388 .
55. Ikai, A. J. T. J. o. B. (1980). Thermostability and aliphatic index of globular proteins. *88(6)*, 1895-1898 .
56. Ioannou, E., & Labrou, N. E. J. C. (2022). Development of enzyme-based cosmeceuticals: Studies on the proteolytic activity of *Arthrospira platensis* and its efficient incorporation in a hydrogel formulation. *9(5)*, 106 .

## Références Bibliographiques

57. Jia, M., Xu, M., He, B., Rao, Z. J. J. o. a., & chemistry, f. (2013). Cloning, expression, and characterization of L-asparaginase from a newly isolated *Bacillus subtilis* B11–06. *61*(39), 9428-9434 .
58. Jiménez-Muñoz, E., Delgadillo-Díaz, J., Gómez-Quijada, X., López-Pérez, P. A., Peón, A. N.-., & Jardínez-Vera, C. J. P. B. C. d. C. B. e. I. d. I. (2025). The complexity of the genus *Arthrospira*. *13* .(25)
59. Jourdan, J.-P. J. E. A. T. p. h. w. a. c. d. m. p. (2006). Cultivez votre spiruline .
60. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Židek, A., & Potapenko, A. J. n. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *596*(7873), 583-589 .
61. Jung, C. H., Braune, S., Waldeck, P., Küpper, J.-H., Petrick, I., & Jung, F. J. L. (2021). Morphology and growth of *Arthrospira platensis* during cultivation in a flat-type bioreactor. *11*(6), 5 .36
62. Kelley, L. A., Mezulis, S., Yates, C. M., Wass, M. N., & Sternberg, M. J. J. N. p. (2015). The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *10*(6), 845-858 .
63. Kim, S., Bolton, E. E. J. O. A. D., & Discovery, D. f. D. (2024). PubChem :A Large-Scale Public Chemical Database for Drug Discovery. 39-66 .
64. Kobercová, E. (2014). Glutamin syntetázy a jejich role v metabolismu dusíku v prýtu rostlin .
65. Kotzia, G. A., & Labrou, N. E. J. J. o. b. (2007). L-Asparaginase from *Erwinia chrysanthemi* :3937 cloning, expression and characterization. *127*(4), 657-669 .
66. Kumar, S., Dasu, V. V., & Pakshirajan, K. J. B. t. (2011). Purification and characterization of glutaminase-free L-asparaginase from *Pectobacterium carotovorum* MTCC 1428. *102*(2), 2077-2082 .
67. Kyte, J., & Doolittle, R. F. J. J. o. m. b. (1982). A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *157*(1), 105-132 .
68. Larsen, R. A., Knox, T. M., & Miller, C. G. J. J. o. b. (2001). Aspartic peptide hydrolases in *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *183*(10), 3089-3097 .
69. Laskowski, R., MacArthur, M., & Thornton, J. (2006). PROCHECK: validation of protein-structure coordinates .
70. Lee, C., Han, S.-I., Na, H., Kim, Z., Ahn, J. W., Oh, B., & Kim, H. S. J. F. i. P. S. (2024). Comprehensive understanding of the mutant ‘giant’ *Arthrospira platensis* developed via ultraviolet mutagenesis. *15*, 1369976 .
71. Linhorst, A., & Lübke, T. J. C. (2022). The human Ntn-hydrolase superfamily: structure, functions and perspectives. *11*(10), 1592 .
72. Liu, Q ,Huang, Y., Zhang, R., Cai, T., Cai, Y. J. E. B. C., & Medicine, A. (2016). Medical application of *Spirulina platensis* derived C-phycoocyanin. *2016*(1), 7803846 .
73. Liu, Y., Yang, X., Gan, J., Chen, S., Xiao, Z.-X., & Cao, Y. J. N. a. r. (2022). CB-Dock2: Improved protein–ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting. *50*(W1), W159-W164 .
74. López-Guerrero, M. G., Ormeño-Orrillo, E., Acosta, J. L., Mendoza-Vargas, A., Rogel, M. A., Ramírez, M. A., Rosenblueth, M ,Martínez-Romero, J., & Martínez-Romero, E. J. P. (2012). Rhizobial extrachromosomal replicon variability, stability and expression in natural niches. *68*(3), 149-158 .
75. Luo, G., Liu, H., Yang, S., Sun, Z., Sun, L., & Wang, L. J. F. i. N. (2024). Manufacturing processes, additional nutritional value and versatile food applications of fresh microalgae *Spirulina*. *11*, 1455553 .
76. Lüthy, R., Bowie, J. U., & Eisenberg, D. J. N. (1992). Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *356*(6364), 83-85 .
77. Maddiboyina, B., Vanamamalai, H. K., Roy, H., Ramaiah, n., Gandhi, S., Kavisri, M., & Moovendhan, M. J. J. o. b. m. (2023). Food and drug industry applications of microalgae *Spirulina platensis*: A review. *63*(6), 573-583 .

## Références Bibliographiques

78. Mahajan, R. V., Kumar, V., Rajendran, V., Saran, S., Ghosh, P. C., & Saxena, R. K. J. P. O. (2014). Purification and characterization of a novel and robust L-asparaginase having low-glutaminase activity from *Bacillus licheniformis*: in vitro evaluation of anti-cancerous properties. *9*, (6)e99037 .
79. Manet, A. J. S. p. f.-f. (2016). La spiruline: indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine .
80. Manna, S., Sinha, A., Sadhukhan, R., & Chakrabarty, S. J. C. m. (1995). Purification, characterization and antitumor activity of L-asparaginase isolated from *Pseudomonas stutzeri* MB-405. *30*, 291-298 .
81. Marková, I., Koníčková, R., Vaňková, K., Leníček, M., Kolář, M., Strnad, H., Hradilová, M., Šáchová, J., Rasl, J., Klímová, Z. J. J. o. c., & medicine, m. (2020). Anti-angiogenic effects of the blue-green alga *Arthrospira platensis* on pancreatic cancer. *24*(4), 2402-2415 .
82. Meng, Q., Li, Y., Sun, Z., & Liu, J. J. E. T. (2024). Citrulline facilitates the glycolysis, proliferation, and metastasis of lung cancer cells by regulating RAB3C. *39*(9), 4372-4384 .
83. Michalska, K., Brzezinski, K., & Jaskolski, M. J. J. o. B. C. (2005). Crystal structure of isoaspartyl aminopeptidase in complex with L-aspartate. *280*(31), 28484-28491 .
84. Michalska, K., & Jaskolski, M. (2013). Isoaspartyl Aminopeptidase (Threonine Type). In *Handbook of Proteolytic Enzymes* (pp. 3705-3712). Elsevier .
85. Mohideen, A. K. S. J. E. J. (2020). Molecular docking study of L-Asparaginase I from *Vibrio campbellii* in the treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL). *4*(1), 8-16 .
86. Moreno, J., Nielsen, H., Winther, O., & Teufel, F. J. B. (2024). Predicting the subcellular location of prokaryotic proteins with DeepLocPro. *40*(12), btae677 .
87. Mühling, M., Harris, N., Belay, A., & Whitton, B. A. J. J. o. P. (2003). Reversal of helix orientation in the cyanobacterium *Arthrospira* 1. *39*(2), 360-367 .
88. Münzel, T., & Daiber, A. J. H. (2019). Antihypertensive decapeptide from cyanobacterium *Spirulina platensis*: Superfood with eNOS (Endothelial NO Synthase) enhancer properties. In (Vol. 73, pp. 291-293): Lippincott Williams & Wilkins Hagerstown, MD.
89. Niccolai, A., Shannon, E., Abu-Ghannam, N., Biondi, N., Rodolfi, L., & Tredici, M. R. J. J. o. A. P. (2019). Lactic acid fermentation of *Arthrospira platensis* (spirulina) biomass for probiotic-based products. *31*, 1077-1083 .
90. PAIVA, D. V. A., SILVA, L. C. D. A., DA SILVA, A. A. A., BATISTA, J. M. D. S., DA SILVA, M. M., & PORTO, A. L. F. J. I. J. o. H. S. (2024). POTENCIAL ANTITUMORAL DAS NANOPARTÍCULA DE PRATA BIOGÊNICAS (Bio-AgNPs) SINTETIZADAS POR *Arthrospira platensis* (Spirulina): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA. *4*(2), 87-88 .
91. Panda, S., & Chandra, G. J. B. (2012). Physicochemical characterization and functional analysis of some snake venom toxin proteins and related non-toxin proteins of other chordates. *8*(18), 891 .
92. Parashiva, J., Nuthan, B. R., Rakshith, D., & Satish, S. J. C. M. (2023). Endophytic fungi as a promising source of anticancer l-asparaginase: a review. *80*(9), 282 .
93. Park, S.-H., Lee, C. W., Lee, S. G., Shin, S. C., Kim, H. J., Park, H., & Lee, J. H. J. P. o. (2017). Crystal structure and functional characterization of an isoaspartyl dipeptidase (Cps IadA) from *Colwellia psychrerythraea* Strain 34H. *12*(7), e0181705 .
94. Pellequer, J.-L. (1999). *Modélisation moléculaire par homologie des protéines: ses applications en Biologie et en Bioinformatique* Faculté des sciences de Luminy .[
95. Pereira, M., & Vale, N. J. B. (2024). Exploring Darunavir, Rilpivirine and Etravirine as Potential Therapies for Bladder Cancer: Efficacy and Synergistic Effects. *12*(3), 647 .
96. Sanchez, M., Bernal-Castillo, J., Rozo, C., & Rodríguez, I. J. U. S. (2003). *Spirulina* (*Arthrospira*): an edible microorganism: a review. *8*(1), 7-24 .

## Références Bibliographiques

97. Santos, K. R. d. S., Hentschke, G. S., Ferrari, G., Andreote, A. P. D., Fiore, M. d. F., Vasconcelos, V., & Sant'Anna, C. L. J. F. i. E. S. (2023). Molecular, morphological and ecological studies of *Limnospira platensis* (Cyanobacteria), from saline and alkaline lakes, Pantanal Biome, Brazil. *11*, 1204787 .
98. Schmidt, E. E., & Davies, C. J. J. B. (2007). The origins of polypeptide domains. *29*(3), 262-270 .
99. Scientific, T. J. T. T. (2012). Extinction coefficients: A guide to understanding extinction coefficients with emphasis on spectrophotometric determination of protein concentration. *6* .
100. Singh, Y., Gundampati, R. K., Jagannadham, M. V., Srivastava, S. J. A. b., & biotechnology. (2013). Extracellular L-asparaginase from a protease-deficient *Bacillus aryabhatai* ITBHU02: purification, biochemical characterization, and evaluation of antineoplastic activity in vitro. *171*, 1759-1774 .
101. Smoluch, M., Mielczarek, P., Drabik, A., & Silberring, J. (2016). Online and offline sample fractionation. In *Proteomic profiling and analytical chemistry* (pp. 63-99). Elsevier .
102. STANIER, R. J. B. s. m. o. d. b. (1974). Division I. The Cyanobacteria .
103. Stanier, R. Y., & van Niel, C. B. J. A. f. M. (1962). The concept of a bacterium. *42*, 17-35 .
104. Szklarczyk, D., Gable, A. L., Nastou, K. C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., Doncheva, N. T., Legeay, M., Fang, T & „Bork, P. J. N. a. r. (2021). The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *49*(D1), D605-D612 .
105. Tabagari, I., Kurashvili, M., Varazi, T., Adamia, G., Gigolashvili, G., Pruidze, M., Chokheli, L., Khatisashvili, G., & von Fragstein und Niemsdorff, P. J. W. (2019). Application of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* against chemical pollution of water. *11*(9), 1759 .
106. Touzout, N., Ainas, M., Alloti, R., Boussahoua, C „Douma, A., Hassein-Bey, A. H., Brara, Z., Tahraoui, H., Zhang, J., & Amrane, A. J. F. i. B.-L. (2023). Unveiling the impact of thiophanate-methyl on *arthrospira platensis*: growth, photosynthetic pigments, biomolecules, and detoxification enzyme activities. *28*(10), 264 .
107. Van Kerckhoven, S. H., de la Torre, F. N., Cañas, R. A., Avila, C., Cantón, F. R., & Cánovas, F. M. J. F. i. P. S. (2017). Characterization of three L-asparaginases from maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *8*, 1075 .
108. Vidalo, J.-L. (2008) .*Spiruline: l'algue bleue de santé et de prévention* .
109. Vogel, C., Bashton, M., Kerrison, N. D., Chothia, C., & Teichmann, S. A. J. C. o. i. s. b. (2004). Structure, function and evolution of multidomain proteins. *14*(2), 208-216 .
110. Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis arthrospira: physiology, cell-biology and biotechnology*. CRC press .
111. Wang, J., Chitsaz, F., Derbyshire, M. K., Gonzales, N. R., Gwadz, M., Lu, S., Marchler, G. H., Song, J. S., Thanki, N., & Yamashita, R. A. J. N. A. R. (2023). The conserved domain database in 2023. *51*(D1), D384-D388 .
112. Wang, J., Mukherjee, S., & Zubarev, R. A. J. A. (2022). Isoaspartate and neurodegeneration. *14*(22), 8882 .
113. Williams, C. J., Headd, J. J., Moriarty, N. W., Prisant, M. G., Videau, L. L., Deis, L. N., Verma, V „Keedy, D. A., Hintze, B. J., & Chen, V. B. J. P. S. (2018). MolProbity: more and better reference data for improved all-atom structure validation. *27*(1), 293-315 .
114. Wu, S., & Zhang, Y. J. N. a. r. (2007). LOMETS: a local meta-threading-server for protein structure prediction. *35*(10), 3375-3382 .
115. Yang, J., Yan, R., Roy, A., Xu, D., Poisson, J., & Zhang, Y. J. N. m. (2015). The I-TASSER Suite: protein structure and function prediction. *12*(1), 7-8 .

### ***Références Bibliographiques***

116. Zarrouk, C. J. U. o. P., France. (1966). Contribution a l'étude d'une cyanobactérie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setchell et Gardner) Geitler .
117. Zheng, W., Wuyun, Q., Li, Y., Mortuza, S., Zhang, C., Pearce, R., Ruan, J., & Zhang, Y .J. P. c. b. (2019). Detecting distant-homology protein structures by aligning deep neural-network based contact maps. *15*(10), e1007411 .

# *Annexes*

## Annexes

Figure S1. Résultats de la validation du model structuraux de SWISS-MODEL par le

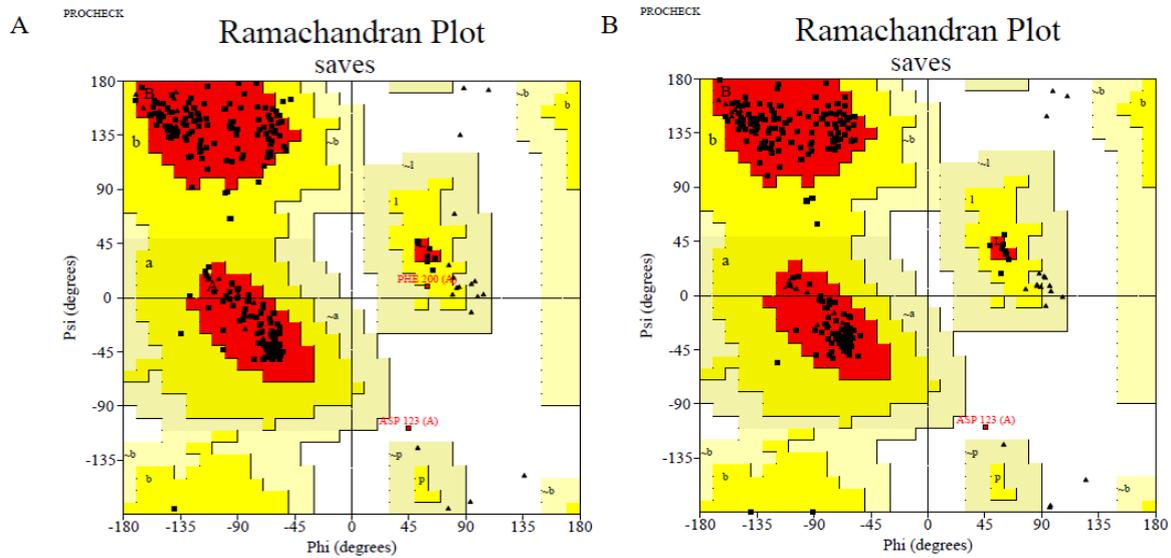


diagramme de Ramachandran généré par PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires a, b, l et p (en jaune), les régions généreusement autorisées ~a, ~b, ~l et ~p (en jaune clair), et les régions non autorisées en blanc. Les résidus non glyciniques et non proliniques sont représentés par des carrés remplis de noir, et les glycines non-terminales sont représentées par des triangles remplis de noir.

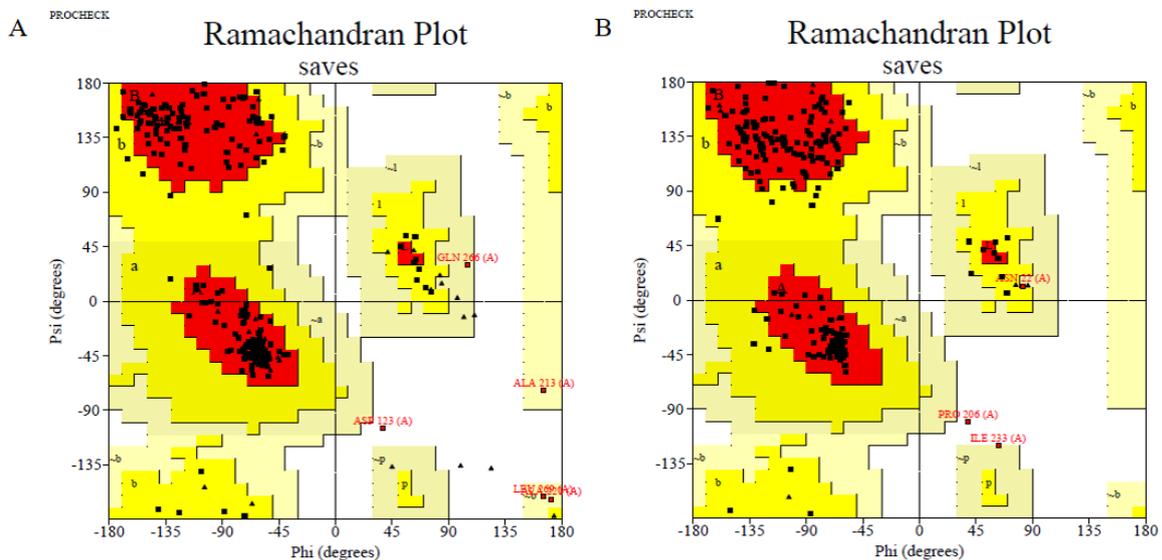
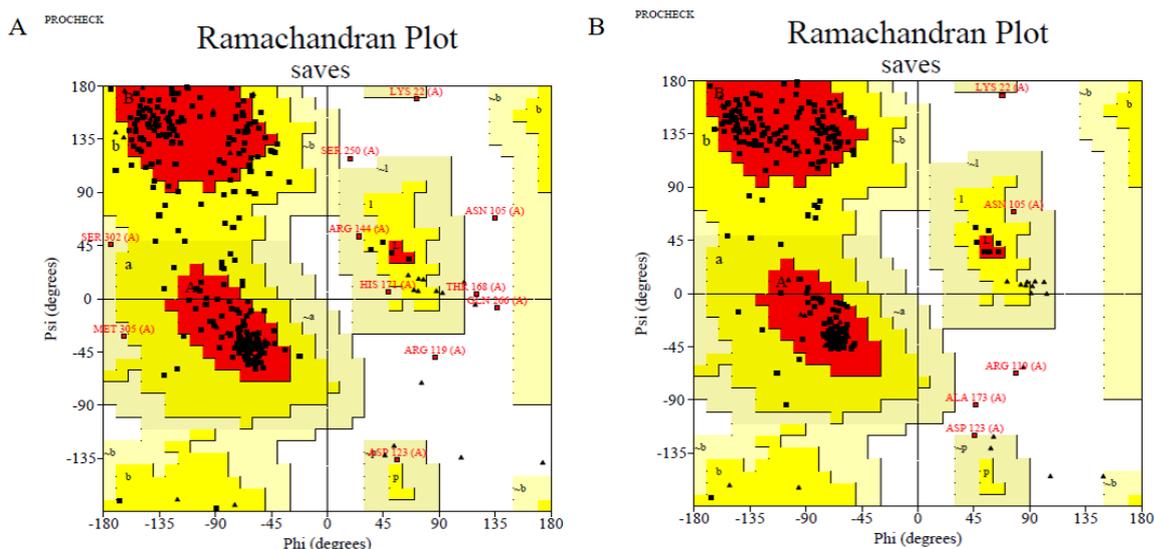
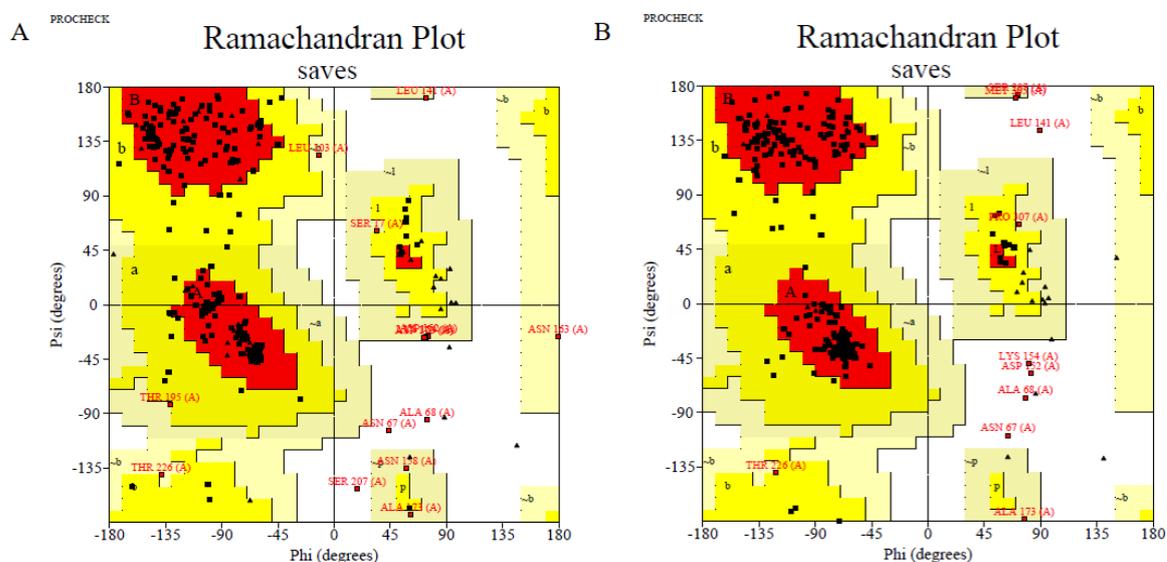


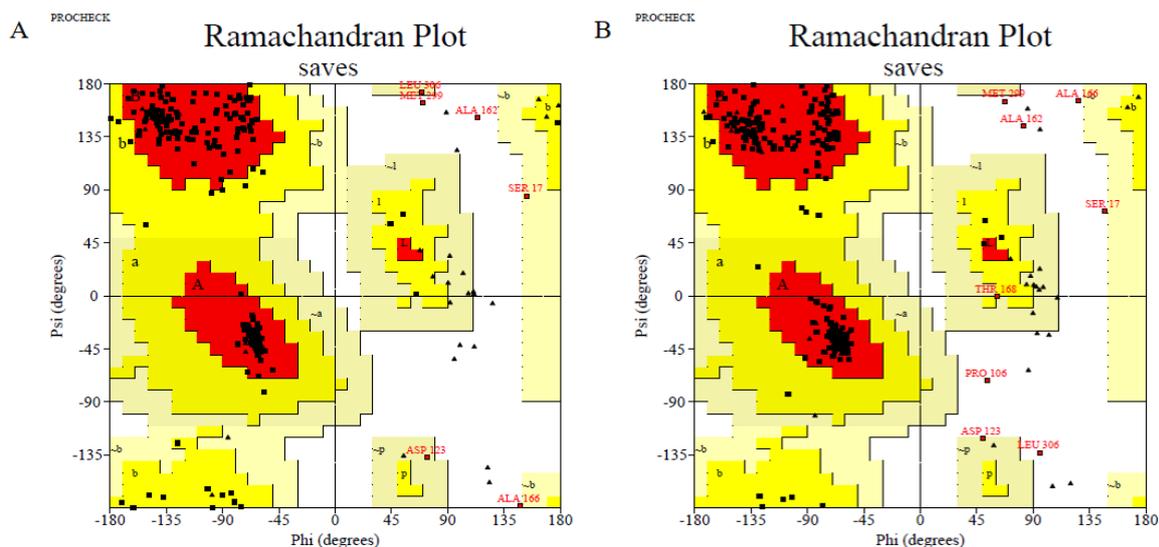
Figure S2. Résultats de la validation du model structuraux de phyre<sup>2</sup> par le diagramme de Ramachandran généré par PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires a, b, l et p (en jaune), les régions généreusement autorisées ~a, ~b, ~l et ~p (en jaune clair), et les régions non autorisées en blanc. Les résidus non glyciniques et non proliniques sont représentés par des carrés remplis de noir, et les glycines non-terminales sont représentées par des triangles remplis de noir.



**Figure S3. Résultats de la validation du modèle structuraux de I-TASSER par le diagramme de Ramachandran généré par PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné.** Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires a, b, l et p (en jaune), les régions généreusement autorisées ~a, ~b, ~l et ~p (en jaune clair), et les régions non autorisées en blanc. Les résidus non glyciniques et non proliniques sont représentés par des carrés remplis de noir, et les glycines non-terminales sont représentées par des triangles remplis de noir.



**Figure S4. Résultats de la validation du modèle structuraux de LOMETS par le diagramme de Ramachandran généré par PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné.** Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires a, b, l et p (en jaune), les régions généreusement autorisées ~a, ~b, ~l et ~p (en jaune clair), et les régions non autorisées en blanc. Les résidus non glyciniques et non proliniques sont représentés par des carrés remplis de noir, et les glycines non-terminales sont représentées par des triangles remplis de noir.



**Figure S5. Résultats de la validation du modèle structuraux de CEthreader par le diagramme de Ramachandran généré par PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné.** Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires a, b, l et p (en jaune), les régions généralement autorisées  $\sim$ a,  $\sim$ b,  $\sim$ l et  $\sim$ p (en jaune clair), et les régions non autorisées en blanc. Les résidus non glyciniques et non proliniques sont représentés par des carrés remplis de noir, et les glycines non-terminales sont représentées par des triangles remplis de noir.

**Tableau S1. Raffinement par GalaxyWEB du modèle d'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* à partir de SWISS-MODEL**

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	1.195	3.5	0.0	97.7
MODEL 1	0.9912	0.259	1.655	11.8	1.2	99.7
MODEL 2	0.9920	0.265	1.570	11.3	0.0	99.7
MODEL 3	0.9895	0.264	1.655	11.8	1.2	99.7
MODEL 4	0.9904	0.275	1.649	13.9	0.4	99.7
MODEL 5	0.9895	0.271	1.655	11.8	1.2	99.7

**Tableau S2. Raffinement par GalaxyWEB du modèle d'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* à partir de AlphaFold**

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	1.154	2.6	0.0	97.4
MODEL 1	0.9928	0.237	1.551	10.8	0.4	99.7
MODEL 2	0.9952	0.253	1.580	11.7	0.4	99.0
MODEL 3	0.9896	0.260	1.627	13.1	0.8	99.4
MODEL 4	0.9928	0.253	1.639	13.5	0.0	99.4
MODEL 5	0.9928	0.258	1.608	12.5	0.8	99.4

**Tableau S3. Raffinement par GalaxyWEB du modèle d'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* à partir de phyre<sup>2</sup>**

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	3.263	149.5	0.5	86.6
MODEL 1	0.9637	0.398	2.230	25.8	1.0	95.3
MODEL 2	0.9605	0.406	2.256	24.2	0.5	94.4
MODEL 3	0.9476	0.422	2.249	25.3	0.5	94.8
MODEL 4	0.9594	0.399	2.320	25.6	1.0	93.5
MODEL 5	0.9583	0.403	2.168	20.8	1.0	94.8

**Tableau S4. Raffinement par GalaxyWEB du modèle d'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* à partir de I-TASSER**

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	3.077	9.3	16.4	84.9
MODEL 1	0.332	0.332	2.053	18.5	0.8	95.8
MODEL 2	0.334	0.334	2.211	18.3	1.6	95.8
MODEL 3	0.334	0.334	2.148	19.8	1.2	95.8
MODEL 4	0.327	0.327	2.076	17.5	0.4	95.2
MODEL 5	0.344	0.344	2.136	21.4	0.8	95.5

**Tableau S5. Raffinement par GalaxyWEB du modèle d'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* à partir de LOMETS**

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	2.301	8.0	2.0	86.5
MODEL 1	0.9554	0.404	2.512	23.5	1.6	92.0
MODEL 2	0.9594	0.382	2.593	23.3	2.0	91.7
MODEL 3	0.9658	0.373	2.605	23.3	2.5	92.9
MODEL 4	0.9594	0.389	2.486	22.1	1.6	92.0
MODEL 5	0.9562	0.403	2.381	20.4	1.2	91.3

**Tableau S6. Raffinement par GalaxyWEB du modèle d'isoaspartyl peptidase d'*A. platensis* à partir de CEThreader**

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	3.673	154.9	4.9	91.7
MODEL 1	0.9705	0.361	2.526	28.1	2.0	94.9
MODEL 2	0.9594	0.368	2.385	26.4	1.6	95.5
MODEL 3	0.9674	0.354	2.268	29.6	0.8	95.5
MODEL 4	0.9634	0.360	2.453	29.6	1.6	95.2
MODEL 5	0.9697	0.346	2.557	31.8	2.0	95.2

Tableau S7. Tableau des vingt acides aminés

<b>Acide aminé</b>	<b>Abréviation a 3 lettres</b>	<b>Abréviation a une lettres</b>
<b>Alanine</b>	<b>Ala</b>	<b>A</b>
<b>Arginine</b>	<b>Arg</b>	<b>R</b>
<b>Asparagine</b>	<b>Asn</b>	<b>N</b>
<b>Acide aspartique</b>	<b>Asp</b>	<b>D</b>
<b>Cystéine</b>	<b>Cys</b>	<b>C</b>
<b>Acide glutamique</b>	<b>Glu</b>	<b>E</b>
<b>Glutamine</b>	<b>Gln</b>	<b>Q</b>
<b>Glycine</b>	<b>Gly</b>	<b>G</b>
<b>Histidine</b>	<b>His</b>	<b>H</b>
<b>Isoleucine</b>	<b>Ile</b>	<b>I</b>
<b>Leucine</b>	<b>Leu</b>	<b>L</b>
<b>Méthionine</b>	<b>Met</b>	<b>M</b>
<b>Phénylalanine</b>	<b>Phe</b>	<b>F</b>
<b>Proline</b>	<b>Pro</b>	<b>P</b>
<b>Sérine</b>	<b>Ser</b>	<b>S</b>
<b>Thréonine</b>	<b>Thr</b>	<b>T</b>
<b>Tryptophane</b>	<b>Trp</b>	<b>W</b>
<b>Tyrosine</b>	<b>Tyr</b>	<b>Y</b>
<b>Valine</b>	<b>Val</b>	<b>V</b>

Faculté des sciences de la nature et  
de la vie et sciences de la terre

جامعة غرداية

كلية علوم الطبيعة والحياة  
وعلوم الأرض

Département de Biologie



قسم البيولوجيا

Université de Ghardaïa

Ghardaïa le :21/06/2025

## Rapport : Correction du mémoire

Enseignants Chargé de la correction : Mr :

Nom et prénom l'examineur 1	Nom et prénom de l'examineur 2	Nom et prénom de président
<b>LINANI Abderahmane</b>	/	<b>KHENE M'hammed Amine</b>
Signature de	Signature	Signature
	/	

**Thème :**

Étude in silico de l'isoaspartyl peptidase d'Arthrospira platensis pour des applications anticancéreuses

Après les corrections apportées au mémoire, L'étudiante :

**AMINI Rayene**

Est autorisées à déposer le manuscrit au niveau du département.

**Signature**

