

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 des Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : LALI Yousra
YAGOUB Asma

Thème

*Analyse in silico d'allantoïnase
d'Actinopolyspora saharensis*

Soutenu publiquement, le 14 / 06 / 2026 , devant le jury composé de :

M. Linani Abderahmane	Maître de conférences B	Univ. Ghardaia	Président
M. Bakli Mahfoud	Professeur	Univ. Ghardaia	Directeur de mémoire
M. Zargoun Ahmed Amine	Maître de conférences A	Univ. Ghardaia	Examinateur

Année universitaire : 2025 / 2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah, le Tout-Puissant de nous avoir donné la force, la patience et le courage nécessaires pour mener ce travail à son terme. Grâce à Sa bénédiction et à Son soutien, nous avons pu surmonter les difficultés rencontrées tout au long de ce parcours.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Monsieur BAKLI Mahfoud, notre encadrant pour son accompagnement, sa disponibilité, son suivi attentif, ses précieux conseils et son soutien qui ont été d'une grande valeur pour l'avancement de ce travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres de jury, Monsieur Linani Abderahmane et Monsieur Zargoun Ahmed Amine pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce mémoire ainsi que pour l'intérêt porté à notre travail, leurs remarques et leurs observations contribueront sans aucun doute à enrichir ce mémoire.

Nos remerciements s'étendent à l'ensemble des enseignants de la faculté pour la qualité de la formation dispensée, leurs efforts et les connaissances qu'ils nous ont transmises durant notre parcours universitaire.

Ce mémoire reflète un long parcours marqué par des années d'apprentissage, de persévérance, patience et de travail soutenu, faisant de cette réalisation bien plus qu'un simple travail académique, mais le symbole d'un parcours construit avec courage et détermination.

Dédicaces

À ma mère,

*Qui m'a soutenue dans mes nuits de doute et mes jours de fatigue,
qui m'a poussée à aller plus loin quand je voulais m'arrêter,
qui m'a encouragée par ses mots,
et qui a cru en moi, quand moi-même je n'y croyais plus.*

*Maman, ce travail ne porte pas que mon nom.
Il porte tes prières discrètes, ton amour sans fin.
Merci d'avoir été ma première force.
Merci de ne jamais m'avoir laissée tomber.*

À mon père,

*pour sa force tranquille et ses encouragements discrets
par son regard et sa simple présence —
même dans les moments où j'ai douté, il ne m'a jamais lâché.*

*Papa, ce travail ne porte pas que mon nom.
Il porte tes sacrifices silencieux, ton amour sans fin.
Merci de toujours avoir cru en moi.*

A moi-même,

*pour avoir tenu quand tout semblait vouloir m'arrêter,
pour avoir transformé l'épreuve en détermination,
et pour avoir enfin cru que j'en étais capable.*

*À moi-même, pour ne pas avoir effacé mes propres rêves
avant même de leur donner une chance.
Ce travail n'est pas parfait, mais il est vrai.
Et il est enfin terminé.*

Et à mon binôme, (Asma)

*En témoignage de notre collaboration, de notre engagement commun et de tous les efforts
partagés tout au long de ce projet.
Je te remercie pour ton sérieux, ton soutien, ta patience et ta présence à chaque étape de ce
travail. Cette expérience n'aurait pas été la même sans ta contribution et notre esprit d'équipe.
Que ce travail soit le reflet de notre réussite commune et le souvenir d'un parcours accompli
ensemble.*

Et à ma tante, (Djihad)

*Pour m'avoir soutenue quand la route était trop lourde,
pour tes mots doux aux moments où j'en avais le plus besoin,
et pour avoir cru en moi même quand moi-même je doutais.
Merci de ne pas m'avoir laissée tomber.*

Et à ma famille

*Pour votre patience, votre fierté discrète,
et pour m'avoir rappelé que je ne suis jamais seule même quand tout tremble.*

Mlle.LALI Yousra

Dédicaces

A ma mère Hayet

Les mots ne suffiront jamais pour te dire ma gratitude. Merci pour ton amour inconditionnel et tous tes sacrifices. Tu es derrière chaque réussite de ce parcours, tu m'as tout donné pour que je puisse avancer et réussir. Rien de ce que j'accomplis n'aurait été possible sans toi

A mon père Ahmed

Mercie pour ta présence, ta confiance et tes encouragements qui ne m'ont jamais quitté. Tu m'as donné sans compter pour que je puisse tracer ma route et réussir.

A ma petite sœur Ikram

Je remercie ma sœur Ikram d'avoir su être présente et de m'avoir encouragée à sa manière. Ses petites attentions m'ont réchauffé le cœur dans les moments difficiles.

A moi-même

Derrière ce travail se cache des années de sacrifices, d'efforts soutenus et d'une volonté inébranlable de ne jamais abandonner mes rêves. Je me remercie moi-même : pas pour être parfaite, mais pour ne jamais avoir lâché. Pas parce que c'était facile, mais parce que j'ai continué quand même. J'ai appris à avancer avec mes faiblesses, à transformer le stress en motivation. Ce mémoire n'est pas seulement une réussite mais le reflet d'un parcours guidé par l'amour d'apprentissage et d'évolution. Je suis fier de ce que j'ai traversé.

A mon binôme Yousra,

Un immense merci à Yousra, mon binôme. C'est grâce à toi, grâce à notre duo, que ce travail a pris cette forme dont je suis si fière. Cette collaboration a été bien plus qu'un simple travail de groupe : ce fut une véritable expérience, belle et formatrice, faite de partage, d'entraide et de complicité qui va rester gravée dans ma mémoire. Merci pour ta patience, ton sérieux et tous ces moments précieux que nous avons partagés.

A ma famille,

Merci du fond du cœur à ma famille chaque un de vous par son nom, qui n'ont jamais cessé de m'encourager. Votre soutien indéfectible, vos mots doux m'ont toujours motivée.

Mlle.YAGOUB Asma

Abstract

Allantoinase (EC 3.5.2.5) is an enzyme belonging to the amidohydrolase family. It is involved in the purine catabolism by hydrolyzing the amide bond between N3 and C4 of allantoin, converting it into allantoate. This reaction constitutes a key step in the biosynthesis and degradation of purines as well as nitrogen recycling in many organisms, including bacteria, fungi, and plants. However, this enzyme is absent in humans, in whom purine metabolism terminates at the formation of uric acid.

However, allantoinase remains poorly characterized, particularly in *Actinopolyspora saharensis*. This study therefore aimed to determine its physicochemical properties, subcellular localization, and 3D structure using bioinformatics approaches. These analyses revealed the acidic nature, stability, and hydrophilicity of this enzyme, as well as its cytoplasmic localization. Secondary structure prediction, performed using the SOPMA tool, revealed a predominance of loops (50.33%), followed by α -helices (27.79%) and β -sheets (21.88%). The AlphaFold tool generated the most reliable 3D structure model compared to other tools, including SWISS-Model, Phyre2, I-TASSER, and trRosetta. This protein model was validated using PROCHECK, ERRAT, and Verify 3D. Analysis of protein–protein interactions identified aspartate carbamoyltransferase as a major partner (confidence score: 0.999). Functional analysis using CD Search identified L-hydantoinase and allantoinase as conserved domains (E-value equal to 0).

To assess the biotechnological potential of this enzyme, molecular docking was performed. Interesting results were obtained regarding the degradation of herbicides, with the best result observed for Nicosulfuron, which exhibited a binding energy of -8.2 kcal/mol, highlighting its potential for bioremediation applications. However, these findings are computational and require experimental validation.

Keywords: Allantoinase, *Actinopolyspora saharensis*, physicochemical properties, protein model, molecular docking.

Résumé

L'allantoïnase (EC 3.5.2.5) est une enzyme appartenant à la famille des amidohydrolases. Elle est impliquée dans le catabolisme des purines via l'hydrolyse de la liaison amide entre N3 et C4 d'allantoïne, la transformant en allantoate, ce qui constitue une étape clé dans la biosynthèse et la dégradation des purines ainsi que dans le recyclage de l'azote chez de nombreux organismes tels que les bactéries, les champignons et les plantes. Cependant, cette enzyme est absente chez l'être humain, chez qui le métabolisme des purines se termine à la formation de l'acide urique.

Cependant, l'allantoïnase reste peu caractérisée, en particulier chez *Actinopolyspora saharensis*. Cette étude avait donc pour objectif de déterminer ses propriétés physicochimiques, sa localisation subcellulaire et sa structure 3D à l'aide d'approches bioinformatiques. Ces analyses ont mis en évidence le caractère acide, la stabilité et l'hydrophilie de cette enzyme, ainsi que sa localisation cytoplasmique. La prédiction de structure secondaire, réalisée à l'aide de l'outil SOPMA, a révélé une prédominance des boucles (50,33%) suivis des hélices α (27,79%) puis des feuillets β (21,88%). L'outil AlphaFold a généré le modèle le plus fiable de structure 3D par rapport aux autres outils dont SWISS-Model, Phyre², I-TASSER et trRosetta. Ce modèle protéique a été validé via PROCHECK, ERRAT et Verify 3D. L'analyse des interactions protéine-protéine a identifié l'aspartate carbamoyltransférase comme partenaire majeur (score de confiance : 0,999). L'analyse fonctionnelle utilisant CD search a donné L-Hydantoïnase et Alantoïnase comme domaines conservés (E-value égale à 0).

Afin d'identifier le potentiel biotechnologique de cette enzyme, un docking moléculaire a été réalisé. Des résultats intéressants ont été trouvés concernant la dégradation des herbicides dont le meilleur résultat a été observé avec Nicosulfuron d'une énergie de liaison de -8,2 kcal/mol, soulignant son potentiel intéressant pour des applications de bioremédiation. Cependant, ces résultats sont computationnels et nécessitent une validation expérimentale.

Mots-clés : Allantoïnase, *Actinopolyspora saharensis*, propriétés physicochimiques, modèle protéique, docking moléculaire.

ملخص

الألانتويناز (EC 3.5.2.5) هو إنزيم ينتمي إلى عائلة الأמידوهيدرولازات. وهي تشارك في تانيريوبيليا ككفت عن طريق تحلل الرابطة الأميدية بين N3 وC4 في الألانتوين وتحويلها إلى ألانتوات، وهو ما يشكل خطوة أساسية في التخليق الحيوي وتحلل البورينات وكذلك في إعادة تدوير النيتروجين في العديد من الكائنات الحية مثل البكتيريا والفطريات والنباتات. ومع ذلك، فإن هذا الإنزيم غير موجود في جسم الإنسان، حيث ينتهي استقلاب البورينات بتكوين حمض اليوريك. ومع ذلك، لا تزال الألانتويناز غير موصوفة بشكل كافٍ، لا سيما في *Actinopolyspora saharensis*. لذلك كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد خصائصها الفيزيائية والكيميائية، وموقعها داخل الخلية، وهيكلها ثلاثي الأبعاد باستخدام مناهج المعلوماتية الحيوية. وقد أظهرت هذه التحليلات الطابع الحمضي لهذا الإنزيم، واستقراره، وخصائصه المائية، بالإضافة إلى موقعه في السيتوبلازم. كشفت توقعات البنية الثانوية، التي أجريت باستخدام أداة SOPMA عن غلبة الحلقات (50.33%) تليها الحلزونات α (27.79%) ثم الصفائح β (21.88%). أنتجت أداة AlphaFold النموذج الأكثر موثوقية للهيكل ثلاثي الأبعاد مقارنة بالأدوات الأخرى، بما في ذلك SWISS-Model وPhyre2 وI-TASSER وtrRosetta. وقد تم التحقق من صحة هذا النموذج البروتيني باستخدام PROCHECK وERRAT وVerify 3D. حدد تحليل التفاعلات بين البروتينات أن إنزيم أسبارتات كربامويل ترانسفيراز هو الشريك الرئيسي (درجة الثقة: 0.999). وأظهر التحليل الوظيفي باستخدام CD search أن L-Hydantoinase وAlantoinase هما المجالان المحفوظان (قيمة E تساوي 0). من أجل تحديد الإمكانيات البيوتكنولوجية لهذا الإنزيم، تم إجراء ربط جزيئي. تم العثور على نتائج مثيرة للاهتمام فيما يتعلق بتحلل مبيدات الأعشاب، حيث لوحظت أفضل نتيجة مع نيكوسولفورون بطاقة ارتباط تبلغ -8.2 كيلو كالوري/مول، مما يبرز إمكاناته المثيرة للاهتمام في تطبيقات المعالجة الحيوية. ومع ذلك، فإن هذه النتائج حسابية وتتطلب التحقق التجريبي.

الكلمات المفتاحية: إنزيم الألانتويناز، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، نموذج ثلاثي الأبعاد، الالتحام الجزيئي، *Actinopolyspora saharensis*

Table des matières

Liste des figures	x
Liste des tableaux	xi
Liste des abréviations.....	xii
Introduction	1
Revue Bibliographique	3
1. Allantoïne	3
1.1 Histoire et définition d'allantoïne	3
1.2 Les sources naturelles d'allantoïne	3
1.3 Structure	4
1.4 Propriétés physico-chimiques	4
1.5 Applications	5
2. Allantoinase.....	6
2.1 Histoire et découverte	6
2.2 Allantoinase et sa classification	6
2.3 Aspects biologiques	7
2.4 Aspects structurel.....	8
2.5 Caractéristiques distinctives.....	9
2.6 Applications	9
3. <i>Acyinopolyspora saharensis</i>	10
3.1 Définition	10
3.2 Histoire.....	10
3.3 Classification taxonomique.....	10
3.4 Cycle biologique	11
3.5 Morphologie.....	12
3.6 Milieu de culture	13
3.7 Conditions de culture	13
3.8 Génome	14
3.9 Caractéristiques phénotypiques et chimiotaxonomiques	15
3.10 Autres caractéristiques	17
3.11 Applications	17
4. Herbicides.....	17
4.1 Le pénoxsulame	18

4.2	Le nicosulfuron	18
4.3	Le mésotrione.....	18
4.4	Le Flufenacet	19
4.5	L'Imazamox	19
4.6	Le Fomesafen.....	19
Matériel et Méthodes.....		21
1.	Récupération et analyse de la séquence protéique	21
2.	Analyse des propriétés physico-chimiques	21
3.	Prédiction de peptide signal	22
4.	Localisation subcellulaire.....	22
5.	Prédiction de la solubilité protéique.....	22
6.	Analyse de la structure secondaire	22
7.	Analyse de la structure tertiaire.....	23
7.1	Prédiction de la structure tertiaire	23
7.2	Raffinement de structure tertiaire prédite :	23
7.3	Validation des structures tertiaires :.....	23
8.	Analyse fonctionnelle.....	24
8.1	Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés	24
8.2	Identification des motifs fonctionnels dans la séquence protéique.....	24
8.3	Interactions protéine-protéine	24
8.4	Analyse de site actif	25
9.	Le Docking moléculaire	25
Résultats et Discussion.....		26
1.	Récupération et analyse de la séquence protéique	26
2.	Analyse physico-chimique	26
3.	Prédiction de peptide signal	28
4.	Localisation subcellulaire.....	28
5.	Prédiction de la solubilité protéique.....	28
6.	Analyse de la structure secondaire	29
7.	Analyse de la structure tertiaire.....	29
7.1	Prédiction de la structure tertiaire	29

7.2	Raffinement des structures tertiaire	30
7.3	Validation des structures tertiaires	30
8.	Analyse fonctionnelle.....	34
8.1	Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés	34
8.2	Identification des motifs protéique	34
8.3	Interaction protéine-protéine.....	35
8.4	Analyse de site actif	37
9.	Docking moléculaire	38
Conclusion et Perspectives.....		44
Références Bibliographiques.....		45
Annexes		I

Liste des figures

Figure 1. Micrographie électronique à balayage de la souche H32 ^T cultivée sur milieu ISP 2 contenant 15 % (p/v) de NaCl pendant 28 jours à 30 °C. Barre d'échelle : 5 µm (Meklat <i>et al.</i> , 2013).....	12
Figure 2. Prédiction de localisation subcellulaire d'allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> . 28	
Figure 3. Diagrammes d'hydropathie et de charge nette employée pour prédire la solubilité de l'Allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> par le serveur SOSUI.	29
Figure 4. Résultats de la validation du modèle tridimensionnel prédit par AlphaFold à l'aide de diagramme de Ramachandran généré via PROCHECK (serveur SAVES)..	32
Figure 5. Structure 3D de l'allantoinase du meilleur modèle raffiné (AlphaFold) obtenue par PyMOL.....	32
Figure 6. Validation de la qualité structurale du modèle généré par AlphaFold. A) Analyse de la qualité structurale du modèle protéique à l'aide de l'outil « ERRAT ».....	33
Figure 7. Analyse du domaine de l'allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> à l'aide du programme CDD.	34
Figure 8. Résultats de l'identification des motifs protéiques conservés chez allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> utilisant MOTIF Finder.....	35
Figure 9. Etude des interactions protéine-protéine de la protéine allantoinase à l'aide de base de données STRING..	37
Figure 10. Diagramme des différents types d'interactions entre les résidus de l'enzyme allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> et les différents ligands en 2D, tels qu'observés dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer.....	40
Figure 11. Diagramme des différents types d'interactions entre les résidus de l'enzyme allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> et les différents ligands en 3D, tels qu'observés dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer.....	41
Figure 12. Analyse de l'interaction moléculaire entre le ligand Nicosulfuron et le récepteur enzymatique de l'allantoinase d' <i>Actiopolyspora saharensis</i>	42

Liste des tableaux

Tableau 1. Représentation des propriétés physico-chimiques de l'allantoïne synthétique (Bakibaev <i>et al.</i> , 2020; Becker <i>et al.</i> , 2010).....	4
Tableau 2. Représentation de la classification taxonomique d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> H32 ^T	11
Tableau 3. Les caractéristiques générales de génome d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> H32 ^T (Namwong <i>et al.</i> , 2022; Zhou <i>et al.</i> , 2026).	14
Tableau 4. Les catégories des subsystèmes d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> H32 ^T (Bouras <i>et al.</i> , 2025).....	15
Tableau 5. Représentation des caractéristiques phénotypiques et chimiotaxonomiques d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> H32 ^T	16
Tableau 6. Propriétés de la séquence requête de l'allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> . ..	26
Tableau 7. Les propriétés physicochimiques d'allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i>	26
Tableau 8. Prédiction de la structure secondaire d'allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> par SOPMA.	29
Tableau 9. Résultats de prédiction de structure tertiaire de l'allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> par le logiciel Phyre ²	30
Tableau 10. Résultats de validation des structures d'allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> prédites par les différents serveurs en pourcentage par le diagramme de Ramachandran.	31
Tableau 11. Les partenaires fonctionnels de la protéine allantoinase d' <i>Actinopolyspora saharensis</i> et leurs scores de confiance.	35
Tableau 12. Les propriétés moléculaires des six herbicides sélectionnés pour l'étude de docking moléculaire.	38
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.	38

Liste des abréviations

(NH₄)₂SO₄ : Sulfate d'ammonium

(NO₂⁻) : Nitrite

°C : Degré Celsius

3D : tridimensionnelle

***A. algeriensis* : Actinopolyspora algeriensis**

***A. halophila* : Actinopolyspora halophila**

***A. mortivallis* : Actinopolyspora mortivallis**

***A.saharensis* : Actinopolyspora saharensis**

Å : Angström

AA : Acide amine

ADN : Acide DéoxyriboNucléique

AHAS : Acetohydroxyacid Synthase

AI : indice aliphatique

ALS : Acetolactate Synthase

anteiso-C15:0 : Acide gras antéiso à 15 carbones (saturé)

anteiso-C17:0 : Acide gras antéiso à 17 carbones (saturé)

ARN : Acide RiboNucléique.

ARNr : ARN ribosomique

ARNt : ARN de transfert

Bp : paire de base

C : Cytosine

CaCO₃ : Carbonate de calcium

CAZyme : Carbohydrate-Active Enzyme

CB-Dock : Cavity Based Docking

Cd : Cadmium

CDD : Conserved Domain Database

CDSs : Coding DNA Sequences

CE : Coefficient d'extinction

CM : Complex Medium

DA : Daltons

DAP : Acide diaminopimélique

Difco : Difco laboratories, Detroit, Michigan USA

DLH : diene lactone hydrolase

DSMZ : German Collection of Microorganisms and Cell Cultures

E.Coli : Escherichia coli

Expazy ProtParam : Expert Protein Analysis System ProtParam tool

FASTA : FAST Alignment

FSA: fomesafen

G : Guanine

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

HPPD : 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase

HRAC : Herbicide Resistance Action Committee

II : Indice d'instabilité

iso-C15:0 : Acide gras iso à 15 carbones (saturé)

iso-C16:0 : Acide gras iso à 16 carbones (saturé)

iso-C17:0 : Acide gras iso à 17 carbones (saturé)

ISP : International Streptomyces Project

I-TASSER : Iterative Threading ASSEmbly Refinement

K₂HPO₄ : Phosphate dipotassique

Kcal : Kilocalorie

Kcx : Lys carbamylée post-traductionnelle

KDa : kilodalton

L50 : (valeur statistique)

Mbp : million de paires de bases

MgSO₄ : Sulfate de magnésium

MK-10(H4) : Menaquinone-10 avec 4 hydrogènes supplémentaires

MK-9(H4) : Menaquinone-9 avec 4 hydrogènes supplémentaires

Mn : manganèse

N : azote

N50 : (valeur statistique)

NA : Nutrient Agar

NaCl: Chlorure de sodium

NCBI : National Center for Biotechnology Information

Ni : Nickel

NO₃⁻ : Nitrate

OH : groupement hydroxyle

PDB : Protein Data Bank

PFAM : Protein families

pH : Potentiel hydrogène

Phyre² : Protein Homology/analogY Recognition Engine V 2.0

pI : point isoélectrique

pKa : constante de dissociation acide

PM : poids moléculaire

PPGIX : protoporphyrinogène IX

PPIX : protoporphyrine IX

PPO : protoporphyrinogène oxydase

PSIPRED : PSI-BLAST-based secondary structure PREDiction

PSORTb : Protein Subcellular Localization Prediction Tool for Bacteria

PuuE : Allantoinase dépendante des métaux

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

ROS : Reactive Oxygen Species

SAVES : Structural Analysis and Verification Server

SDF : Structured Data File

SOPMA : Self-Optimized Prediction Method with Alignment

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

TIM : triosephosphate isomérase

trRosetta : transform-restrained Rosetta

Uniprot : The Universal Protein resource

VLCFAs : Very Long Chain Fatty Acids

Zn : Zinc

Introduction

Introduction

L'allantoïnase (allantoïn amidohydrolase, E.C. 3.5.2.5) est présent chez plusieurs organismes tels que les plantes, les bactéries, les champignons, les insectes, les amphibiens et les poissons. Elle fait partie de la famille des amidohydrolases. Cette enzyme est un acteur clé de processus du catabolisme des purines, étant impliquée dans la dégradation de l'allantoïne en allantoate par hydrolyse du cycle hydantoïne. Son action est réversible (Das *et al.*, 2025; Huang *et al.*, 2023).

Deux types de cette enzyme existent : l'une métallo-dépendante et l'autre métallo-indépendante. Le premier type présente une structure homotétramérique binucléaire qui nécessite deux ions métalliques pour son fonctionnement, tandis que le deuxième type, ne requiert pas de métaux et est considéré comme une polysaccharide deacétylase (Huang *et al.*, 2023).

Actinopolyspora saharensis est une bactérie appartenant au groupe des Actinomycètes. Elle a été isolée pour la première fois en 2012 par (Meklat *et al.*, 2013) à partir des sols sahariens de la province de El-Oued de sud algérien. Cette bactérie se caractérise par sa morphologie filamenteuse, sa capacité de croître dans des environnements à haute salinité (halophile) ainsi que son adaptation aux milieux arides. Par ailleurs, cette espèce présente un intérêt croissant en biotechnologie en raison de sa capacité à synthétiser des enzymes tolérant aux conditions extrêmes et de son potentiel d'utilisation pour la bioremédiation environnementale (Meklat *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2026).

Les études structurales concernant l'allantoïnase sont encore limitées. Jusqu'à présent, la base de données Protein Data Bank (PDB, www.rcsb.org) recense uniquement 25 structures tridimensionnelles de cette enzymes (consultée le 4 Juin 2026), ce qui reste très restreint par rapport aux grands nombres des séquences d'allantoïnases disponibles dans la base de données UniProt (consultée le 4 Juin 2026) soulignant ainsi le manque de caractérisation structurale de cette enzyme. De plus, les approches expérimentales dédiées à la détermination de la structure tridimensionnelle des protéines demeurent complexes, nécessitent un temps considérable et engendrent des coûts élevés. Pour cette raison, les analyses *in silico* de la structure protéique constituent une alternative fiable, offrant à la fois une solution efficace, rapide et économique, contribuant ainsi à l'identification des enzymes d'intérêt et à leur exploitation.

D'après la littérature, la caractérisation d'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis*, combinée à l'analyse de son rôle potentiel en bioremédiation par des approches *in silico*, n'a fait l'objet d'aucune étude approfondie jusqu'à présent. Par conséquent, cette étude a pour objectif de combler cette lacune en réalisant des analyses complètes de cette enzyme, telles que l'étude de ses propriétés physico-chimiques, sa localisation subcellulaire, sa solubilité, sa structure secondaire, une prédiction de sa structure tertiaire ainsi que d'autres analyses fonctionnelles

Introduction

comme l'identification des domaines conservés, des motifs et la recherche de sites actifs, ainsi que l'évaluation de son implication potentielle en bioremédiation par la réalisation d'un docking moléculaire entre cette enzyme et quelques herbicides très nocifs pour l'environnement.

Revue
Bibliographique

Revue Bibliographique

1. Allantoïne

1.1 Histoire et définition d'allantoïne

L'allantoïne est un composé organique de formule chimique $C_4H_6N_4O_3$, également connu aussi sous le nom (2,5-dioxo-4-imidazolidinyl) urée (Bakibaev *et al.*, 2020). Il est présent naturellement chez plusieurs organismes tels que les animaux, les plantes et les bactéries. Il est connu comme l'un des produits de dégradation des purines (Dusgun & Mathematics-, 2024).

La première découverte d'allantoïne chez les animaux été en 1799 par Vauquelin et Buniva dans les fluides des bétails et chez les plantes précisément (*Platanus orientalis L*) en 1881 par SCHULZE and BARBIERI. Ensuite, il a été trouvé dans plusieurs matériels biologiques tels que l'urine des veaux, des chiens, chats, lapins et porcs. C'est pour cette raison que Wiechowski a déclaré en 1908 que l'allantoïne est un produit d'excrétion de tous les mammifères à l'exception de l'homme et du chien dalmatien qui ont des petites quantités d'allantoïne dans leurs urines (Trijbels, 1967).

Plusieurs études ont démontré la dégradation de l'acide urique obtenue par le catabolisme des purines en allantoïne, comme l'étude de Wöhler et Frerichs en 1848 qui indique la dégradation de l'acide urique en allantoïne, urée et acide oxalique chez les lapins. Sa conversion en allantoïne par une enzyme spécifique appelée uricase chez les mammifères a été affirmée par Wiechowski en 1907 et 1908 (Trijbels, 1967).

1.2 Les sources naturelles d'allantoïne

L'allantoïne se répartit largement dans différents règnes de vivant tels que les plantes et les animaux. Cette large présence explique son évolution afin de remplir des fonctions biologiques importantes chez divers organismes (Dusgun & Mathematics-, 2024).

Chez les plantes :

Différentes espèces de plantes, par exemple de consoude qui appartient à la famille des Borraginacées, les germes de blé, la betterave sucrière et la camomille produisent naturellement ce composé cristallin (Dusgun & Mathematics-, 2024).

Il est considéré comme un sous-produit du métabolisme des plantes, il se trouve à des concentrations élevées dans les feuilles et les racines. Il exerce différentes fonctions, dont les plus essentielles servent à transporter l'azote fixé au niveau des racines vers les autres parties de plante et le stocker. Il joue également le rôle d'osmoprotecteur et d'antioxydant lors d'exposition

des plantes à un stress abiotique notamment la salinité, la sécheresse et la toxicité des métaux lourds (Dusgun & Mathematics-, 2024).

Sa biosynthèse se fait au cours de la dégradation des purines par l'oxydation de l'acide urique. Cette molécule responsable du transport et de stockage d'azote est cruciale pour la croissance des plantes (Kaur *et al.*, 2021).

Chez les animaux :

L'allantoïne se trouve aussi dans les urines et les fluides corporels des mammifères et les larves de certains insectes comme un déchet du métabolisme des purines (Dusgun & Mathematics-, 2024).

Les escargots secrètent une substance naturelle appelée la mucine, caractérisée par sa grande teneur en allantoïne (Dusgun & Mathematics-, 2024).

Les rôles multiples d'allantoïne dans la nature indiquent sa polyvalence et son grand potentiel à être utilisé pour diverses applications à usage humain (Dusgun & Mathematics-, 2024).

1.3 Structure

L'allantoïne est un composé hétérocyclique constitué d'un cycle hydantoïne de 5 chaines substitué d'urée en position 4 (Bakibaev *et al.*, 2020).

Cette molécule se caractérise par une large gamme de propriétés ainsi que par ses utilisations diversifiées dans plusieurs industries grâce à sa structure distinctive (Dusgun & Mathematics-, 2024).

1.4 Propriétés physico-chimiques

L'allantoïne synthétique est une molécule amphotère. Elle se trouve dans les solutions sous forme d'un mélange tautomérique déséquilibré de cétone et d'énol. Elle contient un centre chiral dans lequel les deux énantiomères S et R sont présents sous forme d'un mélange racémique (50 :50) optiquement inactif. Des procédures d'extractions permettent d'obtenir la forme active.

Cette molécule est très soluble dans l'eau chaude et insoluble dans les solvants apolaires, elle est instable dans les conditions alcalines alors qu'elle est stable dans les conditions ordinaires (Becker *et al.*, 2010).

Les propriétés physico-chimiques de l'allantoïne synthétique sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Représentation des propriétés physico-chimiques de l'allantoïne synthétique (Bakibaev *et al.*, 2020; Becker *et al.*, 2010).

Paramètres	Valeurs
Aspect	Poudre cristalline blanche, inodore et insipide
Poids moléculaire (g/mol)	158,12

Tableau 2. Représentation des propriétés physico-chimiques de l'allantoïne synthétique (suite) (Bakibaev *et al.*, 2020; Becker *et al.*, 2010).

Point de fusion, °C	225 (avec décomposition)
Solubilité dans l'eau à 25 °C	5,7 (g/l)
Densité, kg/m³	800
pH d'une solution à 5 g/l a 25 °C	4,5-6

1.5 Applications

L'allantoïne est connue pour avoir plusieurs utilisations. Il a été utilisé anciennement en cosmétique et en phytothérapie.

Les racines et les feuilles de certaines plante qui contiennent l'allantoïne comme la consoude ont été utilisées pour le traitement des plaies mineures, brûlures et des irritations cutanées. Des études ont démontré l'effet de cette molécule sur la cicatrisation des plaies, la prolifération cellulaire et l'élimination des cellules mortes. S'ajoutent ses propriétés hydratantes et kératolytiques (Dusgun & Mathematics-, 2024; Xu *et al.*, 2011).

Il y a aussi l'allantoïne provenant de la mucine d'escargot qui a des propriétés hydratantes, cicatrisantes et régénératrices. Il stimule la prolifération cellulaire et la formation de matrice extracellulaire (Dusgun & Mathematics-, 2024).

Aujourd'hui, l'allantoïne synthétique est utilisée dans plus de 1300 produits cosmétiques, les produits de soins et les préparations pharmaceutiques. Selon le Dictionnaire et le Manuel des Ingrédients Cosmétiques Internationaux, l'allantoïne fonctionne comme agent conditionneur et protecteur de la peau. Il est adapté aux peaux sensibles et incluse dans les produits destinés au bébé et aux personnes souffrant d'affections cutanées telles que l'eczéma ou le psoriasis grâce à sa nature douce et non irritante (Becker *et al.*, 2010).

En plus de son utilisation en cosmétique, des recherches ont démontré son utilisation en écologie comme biomarqueur du stress des plantes. D'autres études ont exploré la possibilité de son utilisation exogène afin d'améliorer la croissance des plantes et leur tolérance au stress, ouvrant des nouvelles perspectives pour des pratiques agricoles durables (Yasmeen *et al.*, 2024).

2. Allantoïnase

2.1 Histoire et découverte

Les premières observations expérimentales concernant la transformation d'allantoïne en allantoate ont été réalisées dans les années 1900 à 1930, lors des recherches sur la dégradation des purines. Parmi ces recherches, la découverte de Przylecki en 1925 concernant la dégradation d'allantoïne en urée par l'allantoïnase chez les amphibiens, ainsi que la découverte de cette même enzyme chez les animaux dans les années 1930 grâce aux travaux des chercheurs Fosse et Brunell, et chez les champignons en particulier *Aspergillus Niger* par Brunell en 1936 (Trijbels, 1967).

Dans les années 1960, les chercheurs Tracey, Steward et Pollard ont étudié la présence de cette enzyme chez les plantes supérieures. Au cours des mêmes années, elle a été découverte chez les algues par Villeret (Trijbels, 1967).

2.2 Allantoïnase et sa classification

L'allantoïnase porte officiellement le numéro EC 3.5.2.5 et est communément appelée allantoïne amidohydrolase. Cette dénomination la place parmi les enzymes qui hydrolysent les amides cycliques et identifie spécifiquement sa réaction sur l'allantoïne (Ho *et al.*, 2011).

L'allantoïnase est un membre de la superfamille des amidohydrolases cycliques (amidohydrolases), un groupe d'amidasés métallo-dépendantes dont le mécanisme et le repliement sont apparentés. Les analyses structurales et phylogénétiques classent les allantoïnases au sein de cette famille d'amidasés liées aux uréases, caractérisée par des résidus d'histidine conservés et un centre métallique binucléaire (Okumura *et al.*, 1976; Syldatk *et al.*, 1999).

En revanche, une autre allantoïnase indépendante des métaux (puuE) a été caractérisée structurellement et fonctionnellement chez *pseudomonas fluorescens* dans laquelle l'allantoïnase est utilisé comme source d'azote même en absence du gène de l'allantoïnase dépendante des métaux. Ce nouveau type d'allantoïnase est classé comme une déacétylase de polysaccharide et ne présente aucune homologie de séquence avec celle dépendante des métaux (Ramazzina *et al.*, 2008).

L'allantoïnase métallo dépendante appartient à la famille des amidohydrolases qui contient également la dihydroorotase, dihydropyrimidinase, hydantoïnase et imidase. Ces

amidohydrolases constituent une superfamille d'enzymes capables de catalyser l'hydrolyse des liaisons amides et esters présents dans divers substrats comme acides aminés, acides nucléiques et organophosphates. Leurs activités reposent sur la présence d'un centre métallique (mono- ou binucléaire) qui active une molécule d'eau, facilitant ainsi l'attaque nucléophile et la coupure de la liaison chimique. Elles partagent généralement une structure en tonneau (β/α), tandis que leur spécificité vis-à-vis des substrats est déterminée par l'organisation des boucles autour du site actif (Seibert & Raushel, 2005).

2.3 Aspects biologiques

Le métabolisme de l'azoté comprend plusieurs voies anaboliques et d'autres cataboliques séquentielles. Chez les plantes, l'azote fixé par des microorganismes de sols est intégré dans les bases puriques par la voie de biosynthèse de novo des purines qui produisent par leur dégradation l'acide urique, le principale intermédiaire de catabolisme de l'azote (Kim *et al.*, 2009).

L'acide urique est converti en allantoïne puis en allantoate par la voie des uréides. La dégradation de l'allantoate se fait en trois étapes et produit de l'ammoniac et glyoxylate. Dans ce processus de recyclage de l'azote, l'allantoate et l'allantoïne appelés uréides jouent un rôle clé dans l'assimilation, le stockage et le transport de l'azote, par exemple chez le soja où 80% d'azote fixé est immobilisé sous forme des composés uréides (Kim *et al.*, 2009).

Plusieurs études ont révélé la présence de cette voie métabolique chez d'autre organismes tels que les plantes non légumineuses, les champignons, les insectes, les animaux et même des bactéries qui présentent des gènes responsables de cette voie et utilisent l'allantoïne comme seule source d'azote, ce qui en fait un substrat majeur de métabolisme azoté (Kim *et al.*, 2009).

La plupart des organismes possèdent le gène d'allantoinase, l'enzyme responsable de la dernière étape du catabolisme des uréides. L'expression de ce gène est régulée par la disponibilité de l'azote. L'allantoinase catalyse la dégradation d'allantoïne en acide allantoinique ou (allantoate) dans le réticulum endoplasmique (Werner & Witte, 2011) par la rupture de liaison amide entre N3 et C4 (Kim *et al.*, 2009). L'activité catalytique de cette enzyme dépend de présence et de type de métal dans le centre actif avec une meilleur activation par le Zn et le Co (Ho *et al.*, 2011).

2.4 Aspects structurel

Les études cristallographiques d'allantoinase mettent en évidence une diversité structurale de cette enzyme d'un organisme à un autre. Chez les poissons cette enzyme est monomère, chez les procaryotes elle adopte une architecture homotétramérique alors que chez les amphibiens elle est hétérotétramérique (Ho *et al.*, 2011).

Plusieurs études ont bien détaillé la structure de l'allantoinase chez différentes souches d'*E.coli* telles que K-12 et BL-21. Elles ont montré que cette enzyme est une enzyme binucléaire homotétramérique métallo-dépendante. Chaque monomère contient deux domaines : un grand domaine en forme α/β qui est un pseudo-tonneau triosephosphate isomérase (pseudo TIM-barrel) et un petit domaine en forme de feuillet β . Cette combinaison est typique pour la famille des amidohydrolase (Huang *et al.*, 2023).

Elle possède un centre métallique binucléaire dans son site actif, formé de six résidus : 4 His, 1 Asp et une Lys carbamylée post-traductionnelle (Kcx) qui sont hautement conservés chez toutes les allantoinases d'autres organismes ainsi que chez les enzymes de la famille des amidohydrolases. Dans ce centre actif, deux ions métalliques sont maintenus entre eux par une lysine carbamylée et une molécule OH. Plusieurs types d'ions métalliques peuvent se lient au site actif d'allantoinase tel que le Mn^{+2} , le Co^{+2} , le Zn^{+2} , le Ni^{+2} , le Cd^{+2} , leur présence, en particulier celle du zinc, joue un rôle essentiel dans l'activité catalytique et la reconnaissance du substrat (Ho *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2009).

Chez *E.Coli* BL-21 la structure globale d'allantoinase est constituée d'un TIM-barrel et formée de 17 hélices α , 20 feuillets β et 2 ions Zn. Le site actif de cette enzyme chez cette souche partage une grande similarité avec celui de hydantoinase. Chez la souche k-12, deux boucles dans le site actif sont manquantes par rapport à celui de BL-21. Ces boucles sont nécessaires pour la liaison du substrat (Huang *et al.*, 2023).

Les enzymes cristallines contiennent quatre monomères dans l'unité asymétrique qui constituent à leur tour un homotétramère par symétrie cristallographique. Cette forme tétramérique constitue la conformation biologiquement active de l'enzyme. Le grand domaine en tonneau est constitué de sept brins beta parallèles et entourés de huit hélices avec une région particulière correspondant au huitième brin beta. Il est appelé pseudo car il est modifié par l'insertion de courtes hélices α supplémentaires. Le domaine de feuillet β est constitué d'une extrémité N-terminale et une extrémité C-terminale, repliées en deux couches de feuillet β , une couche

interne avec des brins β antiparallèles et une couche externe avec des brins β d'orientation différente. Ces deux feuillets sont presque perpendiculaire l'un à l'autre et sont stabilisés par des interactions hydrophobes (Kim *et al.*, 2009).

Les quatre sous-unités s'assemblent par deux interfaces distinctes pour former l'enzyme tétramérique. La première située au niveau des hélices α_4 , α_5 et α_7 de TIM-barrel et stabilisée par des interactions hydrophobes. La deuxième située au niveau de feuillet β_4 du petit domaine β et reliée par des liaisons hydrogènes. Ces deux zones de contact, disposées symétriquement, assurent la cohésion du tétramère (Kim *et al.*, 2009).

2.5 Caractéristiques distinctives

Stéréosélectivité de l'enzyme : La racémisation lente de l'allantoïne peut générer une petite quantité de R-allantoïne *in vivo*. Les allantoïnases végétales sont spécifiques du S-allantoïne, bien qu'une hydrolyse limitée du R-allantoïne par ces enzymes ait également été rapportée. Que les allantoïnases végétales hydrolysent ou non le R-allantoïne, la racémisation spontanée de ce composé (qui le reconvertit en S-allantoïne) empêche son accumulation irréversible (Werner & Witte, 2011).

La protéine PuuE est une allantoïnase atypique qui fonctionne indépendamment des métaux et fait preuve d'une stéréospécificité stricte pour l'énantiomère S de l'allantoïne. Contrairement aux allantoïnases classiques, sa triade de liaison aux métaux Asp-His-His est remplacée par une configuration Glu-His-Trp. Les études cristallographiques montrent que, malgré une similarité globale avec les polysaccharide déacétylases, PuuE présente des différences remarquables dans son assemblage oligomérique et la géométrie de son site actif (Ramazzina *et al.*, 2008).

2.6 Applications

L'allantoïnase (EC 3.5.2.5) trouve d'importantes applications dans les domaines médical, biotechnologique et en recherche thérapeutique. L'une de ses utilisations majeures concerne le développement de biocapteurs optiques pour la mesure du stress oxydatif : l'allantoïnase immobilisée permet en effet de quantifier l'allantoïne, un biomarqueur de l'oxydation de l'acide urique chez l'humain (Cottone *et al.*, 2019; Marchetti *et al.*, 2018).

L'allantoïnase catalyse la conversion de l'allantoin vers l'allantoate dans la voie des purines, participant au métabolisme azoté de certains organismes (Syldatk *et al.*, 1999), ce qu'il lui donne la possibilité d'être utilisé dans le domaine agricole.

Enfin, les techniques d'immobilisation et d'encapsulation enzymatique améliorent la stabilité et la fonction de ce catalyseur pour diverses applications industrielles et diagnostiques.

3. *Actinopolyspora saharensis*

3.1 Définition

Actinopolyspora saharensis est une bactérie qui appartient au groupe des actinomycètes. Elle a été isolée du sud algérien. Elle a été nommée *saharensis* en rapport au Sahara d'où elle a été isolée (Meklat *et al.*, 2013).

Actinopolyspora saharensis est une actinomycète filamenteuse et halophile qui exige de fortes concentrations de sel pour croître (Meklat *et al.*, 2013).

Le mycélium aérien est d'une couleur blanc-jaune. Il est ramifié d'une manière irrégulière et forme des chaînes droites à flexueuses de spore sous forme de bâtonnets de 10 à 30 unités (Meklat *et al.*, 2013).

3.2 Histoire

Le genre *Actinopolyspora* a été proposé par Gochnauer *et al.* (Gochnauer *et al.*, 1975) et sa description a été récemment modifiée par Tang *et al.* (Tang *et al.*, 2011). Il comprend actuellement les espèces suivantes : *Actinopolyspora halophila* (Gochnauer *et al.*, 1975), *Actinopolyspora mortivallis* (YOSHIDA *et al.*, 1991), *Actinopolyspora xinjiangensis* (Guan *et al.*, 2010), *Actinopolyspora egyptensis* (Hozzein & Goodfellow, 2011), *Actinopolyspora alba*, *Actinopolyspora erythraea* (Tang *et al.*, 2011) et *Actinopolyspora algeriensis* (Meklat *et al.*, 2012).

Des études ultérieures ont été menées sur les actinomycètes halophiles prélevés dans les sols sahariens de province d'El-Oued de sud algérien. Par la suite la souche H32^T d' *Actinopolyspora saharensis* a été isolée et purifiée (Meklat *et al.*, 2013).

3.3 Classification taxonomique

La classification taxonomique des bactéries dont le phylum des *Actinobacteria* repose principalement sur l'analyse du gène de l'ARN 16S. Les arbres phylogénétiques dérivés de ce gène sont mal résolus, ce qui peut générer des erreurs et des problèmes de classification (Nouioui *et al.*, 2018).

En 2018 une étude a proposé une nouvelle méthode en basant sur l'analyse du génome entier pour réaliser une révision de classification taxonomique. Cette méthode innovante est appelée : phylogénomique. Cette étude a permis d'ajouter deux nouveaux critères pour la classification taxonomique lier directement au génome : la taille de génome et le contenu en G+C (Nouioui *et al.*, 2018).

Pour l'espèce *Actinopolyspora saharensis* H32, la taille du génome est de 4,68 Mbp et la teneur en C+G est de 69,5% (Nouioui *et al.*, 2018).

La classification taxonomique d'*Actinopolyspora saharensis* est présentée dans le **Tableau2**.

Tableau 3. Représentation de la classification taxonomique d'*Actinopolyspora saharensis* H32^T.

Rang taxonomique	Nom taxonomique
Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Actinomycetota</i>
Class	<i>Actinomycetes</i>
Ordre	<i>Pseudonocardiales</i>
Famille	<i>Pseudonocardiaceae</i>
Genre	<i>Actinopolyspora</i>
Espèce	<i>Actinopolyspora saharensis</i>
Souche	<i>H32^T</i>

3.4 Cycle biologique

Actinopolyspora saharensis présente un cycle de développement typique des actinomycètes filamenteuse, débutant par la formation d'un mycélium substratal dense qui se développe au sein du milieu. Avec le vieillissement, ce mycélium se fragmente progressivement en éléments morphologiques distincts, facilitant la dissémination cellulaire et contribuant à la maturation de la colonie. Cette fragmentation prépare la transition vers la phase suivante, caractérisée par le développement d'un mycélium aérien abondant, lequel aboutit finalement à la formation de chaînes de spores à maturité (Meklat *et al.*, 2013).

La sporulation chez *Actinopolyspora saharensis* conduit à la formation de longues chaînes de spores, ces dernières sont de forme *allongée*, à surface lisse et dépourvues de mobilité. À maturité, ces chaînes sporales peuvent être longues, droites ou flexueuses selon l'isolat, tout en conservant des spores non mobiles présentant une morphologie régulière et une surface lisse (Meklat *et al.*, 2013).

La croissance d'*Actinopolyspora saharensis* est strictement halophile à très halophile, avec des optima de température et de pH modérés. Par ailleurs, les caractéristiques chimiques de la paroi cellulaire ainsi que la composition des lipides membranaires constituent des critères diagnostiques du genre, particulièrement utiles pour son identification taxonomique (Meklat *et al.*, 2013).

3.5 Morphologie

Chez *Actinopolyspora saharensis*, le mycélium aérien est bien développé et abondant, présentant une coloration blanc-jaune sur des milieux tels que ISP 2, Nutrient Agar (NA) et Complex Medium (CM), alors qu'il reste peu développé sur ISP 4. Le mycélium de substrat, de teinte jaune pâle à jaune clair, se caractérise par une fragmentation marquée au cours du vieillissement. La sporulation conduit à la formation de longues chaînes de spores bacillaires, disposées de manière droite ou flexueuse et comprenant généralement entre 10 et 30 spores, à surface lisse et dépourvues de mobilité (Meklat *et al.*, 2013).

L'ensemble de ces traits morphologiques, associés aux données physiologiques et biochimiques, a permis de caractériser cette espèce halophile et de la distinguer de ses plus proches espèces apparentées.

La figure 1 ci-dessous représente une Micrographie électronique à balayage de la souche H32^T d'*Actinopolyspora saharensis*,

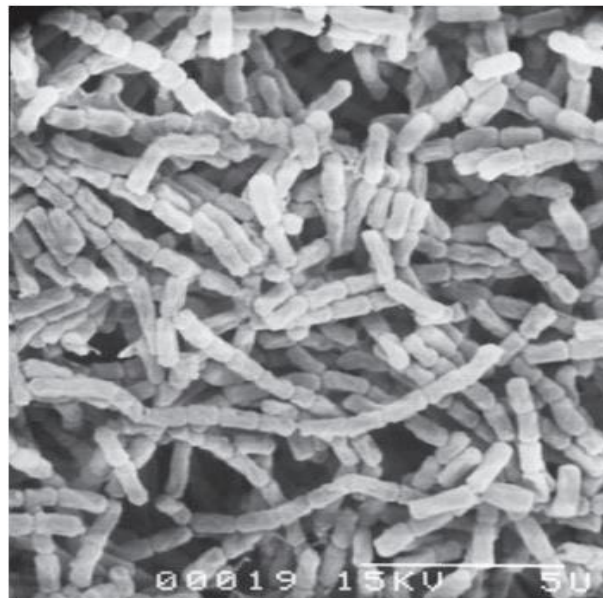


Figure 1. Micrographie électronique à balayage de la souche H32^T cultivée sur milieu ISP 2 contenant 15 % (p/v) de NaCl pendant 28 jours à 30 °C. Barre d'échelle : 5 µm (Meklat *et al.*, 2013).

3.6 Milieu de culture

La croissance d'*Actinopolyspora saharensis* a été testée sur plusieurs milieux standards, dont ISP 2, ISP 4, l'agar nutritif et le Complex Medium (CM) (Meklat *et al.*, 2013), dont la composition respective est :

-ISP2 (International Streptomyces Project) se compose comme suit : Extrait de levure Bacto (Difco) 4,0g, Extrait de malt Bacto (Difco) 10,0g, Dextrose Bacto (Difco) 4,0g, Eau distillée 1,0 litre. Le pH est ajusté à 7,3, puis 20g d'Agar Bacto sont ajoutés (Shirling & Gottlieb, 1966).

-ISP4 (International Streptomyces Project) est composé de deux solutions.

Solution 1 : Amidon soluble Difco 10,0 g.

Solution 2 : K₂HPO₄ (base anhydre) 1,0 g, MgSO₄ 7H₂O 1,0 g, NaCl 1,0 g, (NH₄)₂SO₄ 2,0 g, CaCO₃ 2,0 g, Eau distillée 500 ml, Solution de sels traces (p. 315) 1,0 ml. Le pH doit être compris entre 7,0 et 7,4.

Les deux solutions sont mélangées ensemble puis 20g d'Agar (Difco) est ajoutés (Shirling & Gottlieb, 1966).

-Complex Medium (CM) se compose de : 7,5 g de Casamino-acides, 10g d'Extrait de levure, 3g de Citrate de sodium, le Sulfate de magnésium (MgSO₄) 10g et 2g de Potassium Chloride, en plus de 1 ml de solution de Sulfate de fer a 4,98% et 100 g de NaCl, 1L d'eau distillée. Le PH est ajusté à 7,4 (Chun *et al.*, 2000).

La culture d'*actinopolyspora saharensis* comme indiqué dans l'article se fait en aérobiose dans des milieux de cultures déterminés notamment l'agar à l'acide humique et les vitamines supplémentées en actidione et en 20% de NaCl, ainsi que le milieu complexe agar-gélose additionné de NaCl, de même que le milieu CM (DSMZ Medium) (Meklat *et al.*, 2013).

3.7 Conditions de culture

Pour obtenir une culture optimale d'*Actinopolyspora saharensis*, un ensemble de conditions spécifiques de salinité, température et pH doit être respecté.

Cette bactérie est halophile extrême. Sa croissance est strictement dépendante de la concentration de chlorure de sodium (NaCl) de 10 à 30%, avec un optimum de 15 à 20%. Sur le plan thermique, cette espèce est mésophile car elle se développe dans une plage de température

comprise entre 20-35°C avec une température optimale de 28 à 32°C. Concernant le pH, elle nécessite un pH situé entre 5,0-8,0 et le meilleur pH est autour de 6 et 7 (Meklat *et al.*, 2013). Ces conditions doivent être rigoureusement contrôlées afin d'assurer un développement optimal.

3.8 Génome

Le séquençage de l'ARN 16S d'*Actinopolyspora saharensis* H32^T a été réalisé par Meklat *et al.* (Meklat *et al.*, 2013). Les résultats obtenus montrent que la souche H32^T présente une grande similarité de 99,63% avec *A. saharensis* BKK2, de 98,8 % avec *A. algeriensis* et de 98,5 % avec *A. halophila*, alors qu'une similarité de 96,5 à 97,2 % avec d'autres bactéries du genre *Actinopolyspora* (Bouras *et al.*, 2025; Meklat *et al.*, 2013).

Des études ont montré l'hybridation ADN-ADN d'*Actinopolyspora saharensis* H32^T avec les souches *A. algeriensis* DSM 45476^T, *A. halophila* DSM 43834^T et *A. mortivallis* DSM 44261^T. Elle a donné comme résultats une similarité de 30,5 % (30,4 et 30,6 %) avec la souche *A. algeriensis* DSM 45476^T, 55,1 % (54,3 et 56,0 %) avec *A. halophila* DSM 43834^T et de 31,5 % (28,1 et 34,1 %) avec *A. mortivallis* DSM 44261^T (Meklat *et al.*, 2013). Ces valeurs d'hybridation sont inférieures à 70%, valeur seuil de délimitation des espèces génomiques (Wayne *et al.*, 1987). En revanche, l'hybridation avec la souche *A. saharensis* BKK2 montre une similarité de 90,9% (88,6–92,7%), ce qui indique leur appartenance à la même espèce et à la même sous-espèce (Bouras *et al.*, 2025).

Les autres caractéristiques générales du génome sont présentées dans le **Tableau 3** et les différentes catégories des sous-systèmes de cette bactérie dans le **Tableau 4**.

Tableau 4. Les caractéristiques générales de génome d'*Actinopolyspora saharensis* H32^T (Namwong *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2026).

Caractères	<i>Actinopolyspora saharensis</i>
La taille de génome (bp)	4682228
Pourcentage de contenu en G+C	69,5
CDSs	4,052
N50 (Mb)	2,6
L50	1
Contigs	2
Couverture	356×
Gène codant pour une protéine	4211
ARNr	16
ARNt	59

Tableau 5. Les catégories des sous-systèmes d'*Actinopolyspora saharensis* H32^T (Bouras et al., 2025).

Sous-système	Nombre des gènes	Pourcentage (%)
Cofacteurs, vitamines, groupements prosthétiques, pigments	176	10,43
Paroi cellulaire et capsule	37	2,17
Virulence, maladie, défense	33	1,93
Métabolisme du potassium	3	0,17
Photosynthèse	0	0
Catégories diverses	26	1,52
Phages, prophages, éléments transposables, plasmides	4	0,23
Transport membranaire	27	1,58
Acquisition et métabolisme du fer	12	0,7
Métabolisme de l'ARN	32	1,88
Nucléotides et nucléosides	63	3,7
Métabolisme des protéines	183	10,75
Division cellulaire et cycle cellulaire	0	0
Motilité et chimiotaxie	1	0,05
Régulation et signalisation cellulaire	19	1,11
Métabolisme secondaire	12	0,7
Métabolisme de l'ADN	60	3,52
Acides gras, lipides et isoprénoïdes	140	8,22
Métabolisme de l'azote	16	0,94
Dormance et sporulation	1	0,05
Respiration	88	5,17
Réponse au stress	37	2,17
Métabolisme des composés aromatiques	51	2,99
Acides aminés et dérivés	314	18,44
Métabolisme du soufre	10	0,58
Métabolisme du phosphore	22	1,29
Glucides (ou Hydrates de carbone)	335	19,68

3.9 Caractéristiques phénotypiques et chimiotaxonomiques

Le **Tableau 5** regroupe les caractéristiques phénotypiques et chimiotaxonomiques d'*Actinopolyspora saharensis* H32^T, dont l'analyse met en évidence plusieurs particularités métaboliques.

Le résultat négatif obtenu pour l'hydrolyse du lait écrémé indique que cette bactérie est incapable de produire des protéases, ce qui l'empêche de dégrader les protéines du lait, notamment la caséine. À l'inverse, les résultats positifs observés pour l'hydrolyse de l'amidon et du Tween 80

rèvent qu'*Actinopolyspora saharensis* synthétise d'une part des enzymes amylolytiques dégradant l'amidon, et d'autre part des lipases ou estérases agissant sur le Tween 80.

Tableau 6. Représentation des caractéristiques phénotypiques et chimiotauxonomiques d'*Actinopolyspora saharensis* H32^T (Meklat *et al.*, 2013).

Caractéristiques	Présence du caractère
Hydrolyse de :	
Lait écrémé	–
Amidon	+
Tween 80	+
Acide à partir de :	
Cellobiose	–
Galactose	–
D-mélezitose	–
Salicine	–
Utilisation à partir de :	
Cellobiose	+
Glycérol	+
D-mélezitose	–
Salicine	+
Protéines d'acide gras	AnteisoC17 :0, iso-C15 :0
Lipides polaires	Phosphatidylglycérol, diphosphatidylglycérol, glycolipides, phosphatidylcholine
Ménaquinones	MK-10(H ₄), MK-9(H ₄)
Acide diaminopemélique (DAP)	méso-DAP (no glycine)
Hydrolysats de cellules entières	Arabinose, galactose, ribose

Le méso-DAP est un acide aminé qui intervient dans la liaison des chaînes de peptidoglycane de la paroi en lui donnant une rigidité. La présence de cette acide aminé et l'absence de glycine permet de classer cette paroi dans le type IV qui est typique pour les actinomycètes. Ensuite la présence d'un profil glucidique composé d'arabinose, galactose et ribose dans les hydrolysats cellulaires indique le profil glucidique de type A (Meklat *et al.*, 2013).

Cette bactérie est classée dans le type PIII en raison de la présence de phosphatidylcholine, ainsi que dans le chémotype IVA de paroi cellulaire en raison de la présence de l'acide méso-

diaminopimélique sans glycine. En outre, la présence de certains acides gras et les ménaquinones complète le profil chimique globale de cette souche (Bouras *et al.*, 2025).

3.10 Autres caractéristiques

Des tests spécifiques ont révélé que cette bactérie utilise ses sucres comme source de carbone : adonitol, arabinose, cellobiose, fructose, galactose, glucose, glycérol, lactose, maltose, mannose, rhamnose, sucrose, tréhalose, xylose. Elle ne peut pas utiliser ces sucres : érythritol, inositol, mannitol, mélezitose, mélibiose, raffinose, ribose, salicine, sorbitol. Elle utilise la L-proline comme source d'azote (Meklat *et al.*, 2013).

La bactérie possède l'enzyme nitrate réductase, qui lui permet de réduire les nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-) (Meklat *et al.*, 2013).

La paroi cellulaire d'*Actinopolyspora saharensis* est composée d'acide méso-diaminopimélique (méso-DAP), d'arabinose et de galactose (Meklat *et al.*, 2013).

Elle se caractérise aussi par la présence des ménaquinones dont les plus prédominantes sont MK-10(H₄) and MK-9(H₄) (Meklat *et al.*, 2013).

Les principaux acides gras sont l'antéiso-C17:0, l'iso-C15:0, l'iso-C16:0, l'iso-C17:0 et l'antéiso-C15:0 (Meklat *et al.*, 2013).

3.11 Applications

Actinopolyspora saharensis présente un potentiel biotechnologique important en raison de son caractère strictement halophile et de ses capacités métaboliques variées. Son génome met en évidence la présence de nombreux gènes de type CAZyme impliqués dans le métabolisme des glucides, ce qui suggère une aptitude à produire des enzymes capables de dégrader des polysaccharides, potentiellement actives en conditions salines élevées. Une enzyme spécifique, la diénelactone hydrolase (DLH), a été caractérisée et montre une capacité à hydrolyser des esters à courtes chaînes, ce qui lui confère un intérêt pour des applications industrielles, notamment dans la transformation ou la dégradation de composés dérivés des plastiques et des hydrocarbures (Bouras *et al.*, 2025).

4. Herbicides

Les herbicides couvrent une très grande variété de familles chimiques et agissent sur différents métabolismes et sur de nombreux sites différents, y compris sur le transfert d'énergie des cellules

végétales. Leur diversité de sites d'action est supérieure à celle des insecticides, ce qui s'explique probablement par la durée plus longue des criblages traditionnels utilisés pour les herbicides par rapport à ceux appliqués aux insecticides (Duke, 1990).

4.1 Le pénoxsulame

Est un herbicide à base de composés actifs de type triazolopyrimidine sulfonamide, dont sa formule chimique est $C_{16}H_{14}F_5N_5O_5S$. Cette molécule agit en bloquant la germination des graines de mauvaises herbes ainsi que le développement des tissus jeunes. Il montre une grande efficacité contre les plantes graminées et il est utilisé sur une large partie du territoire chinois. La substance est absorbée et se déplace dans la plante par les racines, les feuilles et les bourgeons. À l'échelle internationale, le pénoxsulame est utilisé pour contrôler les adventices à feuilles larges dans les champs de soja, de coton et de betterave sucrière (Dong *et al.*, 2024).

4.2 Le nicosulfuron

Est un herbicide couramment utilisé dans les champs de maïs. Bien qu'il ait joué un rôle important dans la production agricole, il représente une menace potentielle pour les écosystèmes et la santé humaine. Cet herbicide réduit le rendement des plantes sensibles et modifie les communautés microbiennes du sol. Sa persistance dans l'environnement dépend fortement du pH du sol : il se dégrade généralement en 10 jours dans un sol acide, alors que dans un sol salin, sa durée de persistance peut atteindre 200 jours. Parmi les herbicides fréquemment utilisés dans les champs de maïs, le nicosulfuron est l'un de ceux qui risquent le plus d'affecter la croissance de la culture suivante (Zhao & Wang, 2024).

4.3 Le mésotrione

est un herbicide de la famille des tricétones, issu de l'optimisation chimique d'une phytotoxine produite naturellement par *Callistemon citrinus* (James *et al.*, 2006).

L'inhibition de l'HPPD par le mésotrione conduit à un blocage du métabolisme de la tyrosine, une perturbation de la synthèse de la plastoquinone ainsi qu'une inhibition de la biosynthèse des caroténoïdes, ce qui conduit ainsi aux symptômes de blanchiment observés chez les plantes (Sun *et al.*, 2024). Ce type de mode d'action est relativement spécifique, avec peu d'herbicides similaires disponibles dans certains contextes agricoles. (James *et al.*, 2006).

Enfin, le mésotrione peut être utilisé dans différents systèmes de culture, y compris en semis direct, et s'avère efficace pour lutter contre certaines mauvaises herbes tolérantes au glyphosate dans les cultures de maïs résistantes à cet herbicide (James *et al.*, 2006).

4.4 Le Flufenacet

Est un herbicide résiduel sélectif de la famille des oxyacetamides (HRAC groupe 3). Il est utilisé pour le contrôle des mauvaises herbes à longues chaînes dans plusieurs types de champs comme maïs, riz, coton, soja, tomate et pomme de terre. Il est appliqué avant ou juste après la levée. Il est absorbé par les racines et les pousses puis transporté vers les parties supérieures. Il joue le rôle d'inhibiteur de l'enzyme responsable de la biosynthèse des acides gras à très longue chaîne (VLCFAs), perturbant ainsi la division cellulaire et la synthèse de la couche cireuse cuticulaire et la subérine (la barrière principale qui protège la surface des feuilles contre les herbicides, déshydratation et les attaques externes) (Andreasen *et al.*, 2020; Gitsopoulos *et al.*, 2024; Le Ruyet, 2024).

4.5 L'Imazamox

Est un herbicide sélectif qui fait partie de la famille imidazolinone. Il est caractérisé par sa persistance modérée et sa demi-vie longue dans le sol (Xie *et al.*, 2018). Il est appliqué pour les cultures tolérantes aux imidazolinone dans le but de contrôler les adventices annuelles et vivaces. Le rôle de cet herbicide est l'inhibition de l'acétolactate synthase (ALS) connue aussi sous le nom acide acétohydroxy synthase (AHAS), l'enzyme clé de biosynthèse des acides aminés à chaînes ramifiées (valine, leucine, isoleucine), provoquant un ralentissement ou un arrêt de la croissance ainsi que d'autres symptômes visibles tels que le jaunissement des jeunes tissus et donc la mort des mauvaises herbes (Balabanova *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2025).

4.6 Le Fomesafen

Appelé aussi 5-[2-chloro-4-(trifluorométhyle)phénoxy]-n-[méthyle sulfonyle]-2-nitrobenzamide, FSA) appartient à la famille des diphényléthers. Il est utilisé depuis 1990 dans les cultures légumineuses telles que soja et l'arachide afin de lutter contre les mauvaises herbes à feuilles large annuelles et vivaces. Il est très efficace à large spectre. C'est un pesticide persistant, très toxique pour les microorganismes de sol et les cultures suivantes en rotation. La dégradation de ce dernier est possible mais très lente par les microorganismes et le bio-char (Ge *et al.*, 2025; Guo *et al.*, 2025).

Son mode d'action repose sur l'inhibition de l'enzyme protoporphyrinogène oxydase (PPO), intervenant dans la biosynthèse de chlorophylle par sa compétition avec protoporphyrinogène IX (PPGIX), causant son accumulation. Ce dernier va ensuite s'échapper à l'extérieur de chloroplaste où il va être oxydé en protoporphyrine IX (PPIX) par des peroxydases non enzymatiques. Ensuite, l'activation de PPIX par la lumière génère des espèces réactives de

l'oxygène (ROS), provoque la peroxydation lipidique des membranes entraînant leurs destructions et donc la mort des tissus végétaux (Naoum *et al.*, 2023).

Matériel
et
Méthodes

Matériel et Méthodes

1. Récupération et analyse de la séquence protéique

La base de données explorée afin d'obtenir la séquence de la protéine est (UniProt, <https://www.uniprot.org/>). La séquence au format FASTA d'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis* a été fournie. Le mot-clé utilisé était «*Actinopolyspora saharensis* allantoïnase». Un numéro d'accèsion A0A1H1GNF4, est apparu dans les résultats de la recherche et est spécifique à cette protéine. Des analyses bio-informatiques ultérieures ont été réalisées sur cette séquence dans le but d'obtenir plusieurs informations.

2. Analyse des propriétés physico-chimiques

L'outil utilisé pour la caractérisation physico-chimique d'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis* est ExPASy ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>). Cette analyse physico-chimique nous a fourni de nombreuses informations, dont le poids moléculaire (PM), le nombre d'acides aminés, le nombre de résidus chargés positivement et négativement (R+/-R), le point isoélectrique (PI), le coefficient d'extinction (CE), l'indice d'instabilité (II), la demi-vie, l'hydrophilie moyenne global (GRAVY), ainsi que l'indice aliphatique (AI).

L'indice aliphatique (AI) correspond à la proportion des chaînes latérales aliphatiques présentes dans une protéine, un paramètre étroitement lié à la stabilité thermique de la structure protéique (Panda & Chandra, 2012).

La stabilité de la structure protéique peut avoir un impact sur le comportement de la protéine en solution en affectant son point isoélectrique (pI), défini comme le pH auquel la protéine possède une charge nette nulle, ce qui empêche sa migration dans un champ électrique (Sganzerla Martinez *et al.*, 2024). L'indice d'instabilité (II) permet d'estimer la stabilité d'une protéine en se basant sur l'occurrence de dipeptides dont la présence est associée à une instabilité structurale. (Sganzerla Martinez *et al.*, 2024).

En complément, le coefficient d'extinction (CE) constitue un paramètre essentiel pour l'estimation de la concentration d'une protéine en solution, puisqu'il permet d'établir une relation entre l'absorbance mesurée et la concentration molaire de la protéine (Pace *et al.*, 1995).

Enfin, la solubilité et l'interaction d'une protéine avec l'eau peuvent être quantifiées via l'indice GRAVY (*Grand Average of Hydropathicity*), qui s'appuie sur l'échelle de Kyte et Doolittle, afin de caractériser le caractère hydrophile ou hydrophobe de la protéine (Kyte & Doolittle, 1982).

Pris dans leur ensemble, ces indices et paramètres interconnectés permettent une compréhension globale des propriétés physico-chimiques et du comportement des protéines dans des contextes biologiques et expérimentaux variés.

3. Prédiction de peptide signal

À partir de la séquence d'acides aminés d'allantoïnase analysée, l'outil SignalP 6.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0>) permet de prédire la présence ou l'absence de peptide signal, d'identifier son site de clivage potentiel et de fournir des indications sur la localisation subcellulaire probable de la protéine. (Almagro Armenteros *et al.*, 2019).

4. Localisation subcellulaire

PSORTb 3.0 (https://psort.org/psortb/?utm_source.com) a été utilisé pour prédire la localisation subcellulaire de l'enzyme. Les résultats fournis comprennent un score indiquant la fiabilité de la prédiction ainsi que la précision attendue de l'analyse. Afin de garantir un jeu de données de haute qualité, avec un minimum de protéines contaminantes provenant d'autres compartiments subcellulaires, seules les protéines détectées exclusivement dans la fraction cytoplasmique ont été utilisées pour évaluer les résultats de prédiction de PSORTb 3.0 et PA 3.0. (Yu *et al.*, 2010).

5. Prédiction de la solubilité protéique

Le serveur SOSUI (<https://harrier.nagahama-i-bio.ac.jp/sosui/>) est utilisé pour déterminer si une séquence protéique est de nature soluble ou membranaire. Cette prédiction repose sur l'étude de différentes caractéristiques physicochimiques, telles que la longueur de la séquence, l'hydrophobicité, l'amphiphilie ainsi que la charge des acides aminés (Hirokawa *et al.*, 1998).

6. Analyse de la structure secondaire

L'analyse de structure secondaire de séquence requête se fait à l'aide d'un outil de prédiction bioinformatique.

L'outil utilisé, SOPMA (Self-Optimized Prediction Method with Alignment) (https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html), permet la prédiction des structures secondaires des protéines à partir de leurs séquences d'acides aminés, incluant les quatre états conformationnels (hélice α , brin β , coude et boucle). Cette méthode a été développée à partir d'une base de données constituée de chaînes protéiques non homologues et génère des prédictions de structure secondaire présentant des caractéristiques structurales et des profils évolutifs similaires (Geourjon & Deleage, 1995). La séquence d'allantoïnase

d'Actinopolyspora saharensis a été analysée en utilisant les paramètres par défaut comme indiqué ci-dessous :

- Number of conformational states (le nombre d'états conformationnels) : 3
- Similarity threshold (seuil de similarité): 8
- Window with (largeur de fenêtre): 17

7. Analyse de la structure tertiaire

7.1 Prédiction de la structure tertiaire

Plusieurs outils bioinformatiques ont été utilisés pour la prédiction de structure tridimensionnelle de protéine cible, à savoir l'allantoinase *d'Actinopolyspora saharensis*, notamment AlphaFold (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) (Jumper *et al.*, 2021), SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) (Arnold *et al.*, 2006), phyre² (<https://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>) (Kelley *et al.*, 2015), I-TASSER (Iterative Threading Assembly Refinement) (<https://zhanggroup.org/I-TASSER/>) et trRosetta. Basés sur des techniques de modélisation par homologie, ces logiciels établissent des modèles structuraux tridimensionnels.

7.2 Raffinement de structure tertiaire prédite :

GalaxyWEB (<https://galaxy.seoklab.org/cgi-bin/submit.cgi?type=REFINE>) est un algorithme utilisé pour le raffinement des structures protéiques, spécifiquement conçu pour améliorer les modèles obtenus par modélisation par homologie ou par d'autres approches de prédiction structurale. Il repose sur des méthodes de dynamique moléculaire combinées à des procédures d'optimisation énergétique afin d'ajuster la géométrie des protéines, de corriger les imperfections potentielles de modélisation, de réduire les conflits stériques et de raffiner les interactions non covalentes. Les modèles prédictifs de la protéine cible générés par différents serveurs ont été raffinés par cet outil, dans le but d'obtenir des structures tridimensionnelles de haute qualité, présentant une topologie précise et un niveau de détail structural élevé (Heo *et al.*, 2013). Le logiciel PyMOL, version 2.3, a été utilisé pour optimiser et visualiser les modèles 3D raffinés.

7.3 Validation des structures tertiaires :

Le diagramme de Ramachandran pour le modèle 3D d'allantoinase *d'Actinopolyspora saharensis* a été obtenu à l'aide du programme PROCHECK, intégré à la plateforme SAVES

(Structural Analysis and Vérification Server) v6.1, qui permet de vérifier la qualité stéréochimique et d'analyser la conformation des résidus (Laskowski *et al.*, 2006).

En même temps, l'outil ERRAT a été utilisé pour évaluer la qualité du modèle 3D de la protéine allantoinase en étudiant les interactions non liées entre les atomes et en décrivant les valeurs de fonction d'erreur en fonction de la position des résidus par l'utilisation d'une fenêtre glissante de 9 résidus, déterminée par une analyse comparative avec le profil statistique des structures de référence hautement raffinées (Colovos & Yeates, 1993).

Ainsi, l'outil Verify 3D a été utilisé pour le même objectif, cet outil identifie la compatibilité du modèle 3D de la protéine cible avec sa séquence d'acide aminés en attribuant une classification selon la conformation (α -hélice, feuillet β , ou boucle) et l'environnement (polaire ou apolaire) pour chaque résidu (Lüthy *et al.*, 1992).

8. Analyse fonctionnelle

8.1 Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés

CDD (Conserved Domain Database) du NCBI a été utilisé car il permet l'annotation des séquences protéiques en identifiant l'emplacement des empreintes de domaines conservés ainsi que des sites fonctionnels déduits de ces empreintes. Cette approche bioinformatique a ainsi permis une annotation fiable et précise des régions structurales et fonctionnelles de la séquence étudiée. (Marchler-Bauer *et al.*, 2012).

8.2 Identification des motifs fonctionnels dans la séquence protéique

Le logiciel Motif Finder (<http://www.genome.jp/tools/motif>) à l'aide de la base des données Pfam analyse la séquence de la protéine allantoinase d'*Actinopolysporea saharensis*. Cet outil sert à l'identification des motifs fonctionnels de notre protéine et l'appartenance de cette dernière à une famille protéique spécifique.

8.3 Interactions protéine-protéine

Afin d'analyser les interactions protéine-protéine, la plateforme STRING (version 12.0) (<https://string-db.org/>) a été utilisée (Szklarczyk *et al.*, 2023). Cette dernière rassemble plusieurs sources d'informations (des données expérimentales, informations issues de la littérature scientifiques, co-expression des gènes qui est améliorée dans cette version, contexte génomique, homologie et des bases de données biologiques) et aide à créer un réseau d'interaction protéine-protéine (Szklarczyk *et al.*, 2023).

8.4 Analyse de site actif

L'outil COACH a été utilisé afin d'étudier les sites de liaison potentielles d'allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis* (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/COACH/>). Cet outil combine plusieurs approches basées sur la similarité structurale, la conservation des résidus et l'annotation fonctionnelle pour déterminer les résidus impliqués dans la liaison aux ligands et l'activité catalytique de l'enzyme (Yang *et al.*, 2013).

9. Le Docking moléculaire

Pour l'étude des interactions moléculaires, une série de 6 ligands a été sélectionnée à partir de la base de données PubChem (Kim *et al.*, 2025). Les fichiers initiaux des structures tridimensionnelles au format SDF ont été convertis en format PDB via le logiciel de visualisation moléculaire PyMOL (v0.99). Ensuite le docking moléculaire a été effectué à l'aide de l'outil CB-Dock 2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/index.php>) (Liu *et al.*, 2022) entre les ligands et le meilleur modèle 3D de récepteur, préalablement raffiné et validé.

Dans le domaine agricole, les herbicides sont largement utilisés pour la protection des cultures contre les mauvaises herbes et l'amélioration des rendements. Cependant, l'utilisation excessive de ces derniers constitue une source majeure de pollution environnementale conduisant à la perturbation des écosystèmes. Face à ce problème, l'exploration d'une enzyme capable de dégrader ses composés et de réduire leur impact sur l'environnement constitue une alternative prometteuse.

Les herbicides (ligands) choisis dans cette étude sont connus pour leurs effets néfastes. Ce choix a pour but d'évaluer le potentiel d'allantoinase pour la bioremédiation en utilisant des composés qui ont la possibilité d'interagir avec le site actif de l'enzyme. Cette étude a pour finalité de caractériser et de bien comprendre les interactions enzyme-ligands et d'identifier des opportunités pour la biodégradation des contaminants et donc la dépollution environnementale.

Cinq cavités potentielles ont été identifiées par l'exploration systématique des sites de liaison. Le meilleur complexe obtenu est celui qui présente un score de Vina très bas. Ce complexe a été choisi pour une analyse structurale approfondie dans laquelle les interactions essentielles entre les acides aminés de site actif et le ligand ont été observées grâce au logiciel BIOVIA Discovery Studio Visualizer.

Résultats
et
Discussion

Résultats et Discussion

1. Récupération et analyse de la séquence protéique

Les propriétés présentées dans le **tableau 6** ont été fournies après l'obtention de la séquence FASTA d'allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis* à partir de la base de données UniProt.

Tableau 7. Propriétés de la séquence requête de l'allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis*.

Nom	Numéro d'accèsion	Nom d'organisme	Souche	Nombre d'acide aminée
Allantoinase	A0A1H1GNF4	<i>Actinopolyspora saharensis</i>	H32 ^T	457

2. Analyse physico-chimique

Les résultats de l'analyse physicochimique d'allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis* obtenue à l'aide de l'outil ExPASy sont représentés dans le **tableau 7**.

Tableau 8. Les propriétés physicochimiques d'allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis*.

Propriétés	Valeur
Poids moléculaire (Da)	48222,15
PI théorique	5,26
Demi-vie	30h
Coefficient d'extinction (EC)	46450
Nombre de résidus chargés négativement (Asp + Glu)	59
Nombre de résidus chargés positivement (Arg + Lys)	39
Nombre d'acide aminés	457
L'indice aliphatique (IA)	85,84
L'hydropathicity GRAVY	-0,090
Indice d'instabilité (II)	29,89

La masse moléculaire d'une protéine est calculée en additionnant les masses atomiques moyennes de l'ensemble des résidus d'acides aminés qui la composent, auxquelles s'ajoute la masse d'une molécule d'eau (18,015 Da), correspondant aux groupements terminaux de la chaîne polypeptidique. L'allantoinase est une protéine de grande taille grâce à sa composition en **457** acides aminés et son poids moléculaire d'environ **48,2** kDa.

Son point isoélectrique (PI) de **5,26** indique une nature acide. Le point isoélectrique (pI) d'un polypeptide est principalement déterminé par les constantes d'acidité (pKa) des sept acides aminés dotés de chaînes latérales ionisables : (l'aspartate et le glutamate) pour la charge négative, (la lysine et l'arginine) pour la charge positive. Fondamentalement, la charge nette de la molécule, qui s'annule au pI, dépend du pH du milieu (Pace *et al.*, 2009).

L'indice d'instabilité, calculé à partir de la composition en dipeptides de la séquence protéique, constitue un outil bioinformatique permettant d'estimer la stabilité des protéines *in vivo* à partir de leur structure primaire. Une valeur de l'indice inférieure à 40 est généralement associée à une protéine stable. Cette approche a été initialement élaborée en s'appuyant sur les mécanismes régissant la stabilité des protéines au sein de l'environnement intracellulaire (Gamage *et al.*, 2019). Du coup Cette protéine est stable car son indice d'instabilité (II) =**29,89** est inférieur à 40.

L'hydrophobicité des protéines a été évaluée à l'aide des valeurs GRAVY. Les protéines présentant des valeurs GRAVY positives sont caractérisées par un comportement hydrophobe, tandis que des valeurs GRAVY négatives indiquent un caractère hydrophile (Farjami *et al.*, 2024). L'enzyme est donc hydrophile car le GRAVY =**-0,090**.

L'indice aliphatique (IA) correspond au volume relatif de la protéine occupé par les acides aminés aliphatiques, tels que l'alanine, présents dans les chaînes latérales (Ikai, 1980). L'IA de cette protéine est de **85,84**, qui dépasse la valeur 70 considérée comme seuil (Taldaev *et al.*, 2022). Donc, la protéine est stable. Plus la valeur est élevée, plus la protéine est relativement thermostable (Dutta *et al.*, 2018).

Le coefficient d'extinction (EC) d'une protéine est le plus souvent déterminé de manière expérimentale à partir de la mesure de l'absorbance d'une solution protéique, combinée à une estimation indépendante de la concentration. Toutefois, cette approche est sujette à une variabilité inhérente, liée aux méthodes analytiques employées pour la détermination de la concentration (Hilario *et al.*, 2017). Chez les protéines constituées des acides aminés classiques, l'absorption dans la région de 280 nm est principalement attribuée aux résidus aromatiques, notamment le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine, auxquels s'ajoute la contribution des ponts disulfure (Hilario *et al.*, 2017). Le (EC) de cette protéine est de 46450 ce qui signifie qu'elle a une forte absorbance à 280nm.

3. Prédiction de peptide signal

L'analyse des séquences à l'aide du serveur SignalP n'a révélé la présence d'aucun peptide signal au niveau de l'extrémité N-terminale. Ce qui confirme que l'enzyme n'est pas sécrétée à l'extérieure de la cellule.

4. Localisation subcellulaire

L'allantoïnase est une protéine cytoplasmique d'après le site de localisation PSORTb3.0 avec un score de 7,50. Comme est montré dans la figure ci-dessous.

```
SeqID: tr|A0A1H1GNF4|A0A1H1GNF4_9ACTN allantoïnase OS=Actinopolyspora saharensis OX=995062 GN=SAMN04489718_3761 PE=3 SV=1
Analysis Report:
CMSVM+           Unknown          [No details]
CWSVM+           Unknown          [No details]
CytoSVM+         Cytoplasmic     [No details]
ECSVM+           Unknown          [No details]
ModHMM+          Unknown          [No internal helices found]
Motif+           Unknown          [No motifs found]
Profile+         Unknown          [No matches to profiles found]
SCL-BLAST+       Unknown          [No matches against database]
SCL-BLASTe+     Unknown          [No matches against database]
Signal+          Unknown          [No signal peptide detected]
Localization Scores:
Cytoplasmic      7.50
CytoplasmicMembrane  1.15
Extracellular    0.73
Cellwall         0.62
Final Prediction:
Cytoplasmic      7.50
```

Figure 2. Prédiction de localisation subcellulaire d'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis*.

5. Prédiction de la solubilité protéique

Le logiciel SOSUI permet de distinguer les protéines solubles des protéines transmembranaires en se basant principalement sur deux paramètres : l'hydrophobicité moyenne et la densité de charge nette, avec une précision pouvant atteindre 99 %.

L'analyse d'allantoïnase, présentée dans la **Figure 3**, met en évidence un profil caractéristique des protéines solubles. Cette interprétation est soutenue par l'absence de domaines hydrophobes typiques des hélices transmembranaires, généralement localisés au niveau des régions terminales des protéines transmembranaires (Hirokawa *et al.*, 1998).

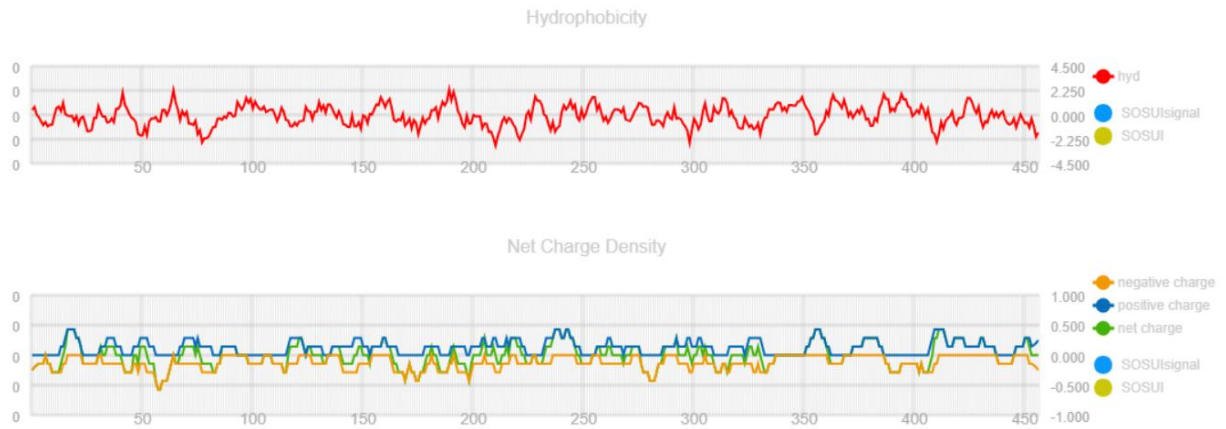


Figure 3. Diagrammes d'hydropathie et de charge nette employée pour prédire la solubilité de l'Allantoïase d'*Actinopolyspora saharensis* par le serveur SOSUI.

Les analyses physicochimiques réalisées montrent une nette concordance avec les profils observés sur les graphiques. La valeur négative du score GRAVY (-0,090) indique une prédominance des régions hydrophiles, clairement mise en évidence sur le premier graphique. De plus, la répartition des résidus chargés, avec 59 résidus négatifs contre 39 positifs, traduit un profil présentant une dominance négative, comme illustré sur le second graphique. L'ensemble de ces résultats, en accord avec les représentations graphiques, renforce l'hypothèse du caractère soluble de la protéine.

6. Analyse de la structure secondaire

Les résultats obtenus de l'analyse de la protéine allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis* avec l'outil SOPMA ont révélé une prédominance des boucles (Random coils, 230 résidus), suivis des hélices α (127 résidus), puis des brins β (Extended strands, 100 résidus). Les pourcentages correspondant à chaque état conformationnel pour la séquence sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9. Prédiction de la structure secondaire d'allantoïase d'*Actinopolyspora saharensis* par SOPMA.

Numéro d'accension	Random coils	α helix	Extended strand
FNKO01000002	50,33%	27,79%	21,88%

7. Analyse de la structure tertiaire

7.1 Prédiction de la structure tertiaire

Plusieurs outils bioinformatiques ont été utilisés pour la prédiction de structure tridimensionnel de protéine cible qui est l'allantoïase d'*Actinopolyspora saharensis*, Parmi les outils utilisés

SWISS-MODEL, Phyre² et I-TASSER sont basés sur des méthodes de l'homologie donnant une prédiction de structure tertiaire de la protéine cible par comparaison avec d'autres protéines de structures connues. Puis AlphaFold, un outil basé sur l'intelligence artificielle (IA) a été utilisé pour la même raison. Chaque serveur donne un modèle initial afin de valider et confirmer les résultats.

Le résultat analytique concernant l'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis* indique que le modèle PDB c3hm7B, représentant la chaîne B de l'allantoïnase de *Bacillus halodurans* c-125, est le plus proche sur le plan de l'homologie.

Le **tableau 9** montre que notre protéine, de type hydrolase, a été modélisée avec un niveau de confiance de 100% et une couverture de 94%.

Tableau 10. Résultats de prédiction de structure tertiaire de l'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis* par le logiciel Phyre².

Numéro d'accèsion	Model	Confiance (%)	Couverture (%)	Identité (%)
FNKO01000002	c3hm7B	100%	94%	36%

7.2 Raffinement des structures tertiaire

Cinq modèles différents ont été créés pour chaque structure protéique obtenus par les différents serveurs utilisés pour la prédiction, à l'aide de GalaxyWeb. Après l'étape de raffinement, les modèles raffinés ont été visualisés à l'aide de l'outil de visualisation PyMol afin d'obtenir des images de hautes qualités.

7.3 Validation des structures tertiaires

L'outil PROCHECK intégré dans la base de données SAVES a été utilisé afin de générer le diagramme de Ramachandran de modèle d'allantoïnase. Cet outil est utilisé pour la validation de notre structure raffinée et aussi pour observer s'il y avait une amélioration dans la qualité stéréochimique par rapport aux modèles initiaux.

Les pourcentages obtenus avant et après raffinement par le diagramme de Ramachandran sont représentés dans le **Tableau 10**.

Tableau 11. Résultats de validation des structures d'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis* prédites par les différents serveurs en pourcentage par le diagramme de Ramachandran.

Modèle	Type de modèle	Région favorable	Région autorisée supplémentaire	Région autorisée généreuse	Région non autorisée
AlphaFold	Initiale	90,2%	9,5%	0,0%	0,3%
	Raffiné	94,4%	5,3%	0,0%	0,3%
SWISS-MODEL	Initiale	91,3%	8,2%	0,3%	0,3%
	Raffiné	94,4%	5%	0,3%	0,3%
Phyre ²	Initiale	89,4%	9,8%	0,5%	0,3%
	Raffiné	92,8%	6,7%	0,3%	0,3%
I-TASSER	Initiale	73%	18,8%	6,6%	1,6%
	Raffiné	85,2%	13%	1,3%	0,5%
trRosetta	Initiale	91,0%	9%	0,0%	0,0%
	Raffiné	93,7%	6,3%	0,0%	0,0%

Le modèle obtenu par AlphaFold a été le meilleur modèle raffiné en raison de ses caractéristiques stéréochimiques intéressantes. Cette analyse démontre que 94,4% des résidus dans les régions favorables de diagramme de Ramachandran, comme illustré dans la **figure 4** ci-dessous. Et la structure 3D de l'enzyme allantoïnase représenté dans la **figure 5**, a été obtenue par le logiciel PyMOL en utilisant le modèle AlphaFold raffiné qui est le meilleur modèle.

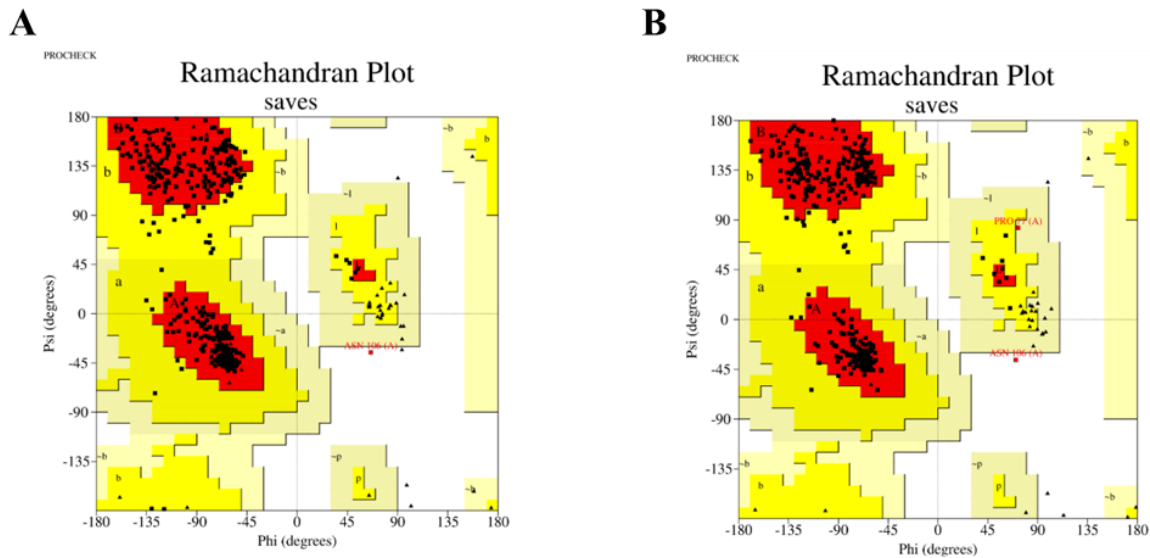


Figure 4. Résultats de la validation du modèle tridimensionnel prédit par AlphaFold à l'aide de diagramme de Ramachandran généré via PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), ainsi que les régions autorisées supplémentaires 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 noirs.

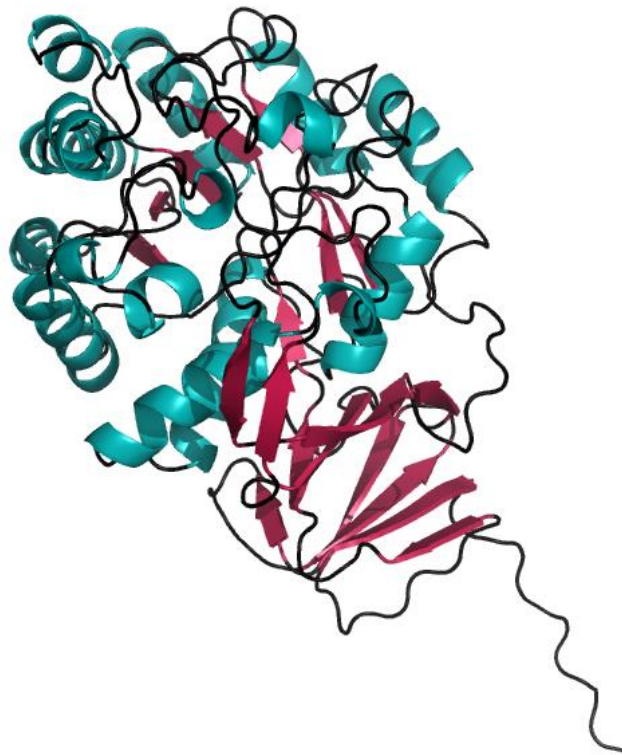


Figure 5. Structure 3D de l'allantoinase du meilleur modèle raffiné (AlphaFold) obtenue par PyMOL.

La validation de la structure tridimensionnelle du modèle protéique a été complétée à l'aide des outils ERRAT et Verify3D pour évaluer la qualité des interactions non liées et la compatibilité entre la structure primaire et 3D de la protéine. L'outil ERRAT a donné comme résultat un score de 93,379 indiquant une bonne fiabilité de model structurale et que les interactions non liées sont conformes à la structure cristallographique de haute qualité (**Figure 6, A**). L'analyse utilisant Verify3D a révélé que 81,40 % des résidus présentent une bonne compatibilité entre son positionnement tridimensionnel et primaire ce qui valide son repliement (**Figure 6, B**).

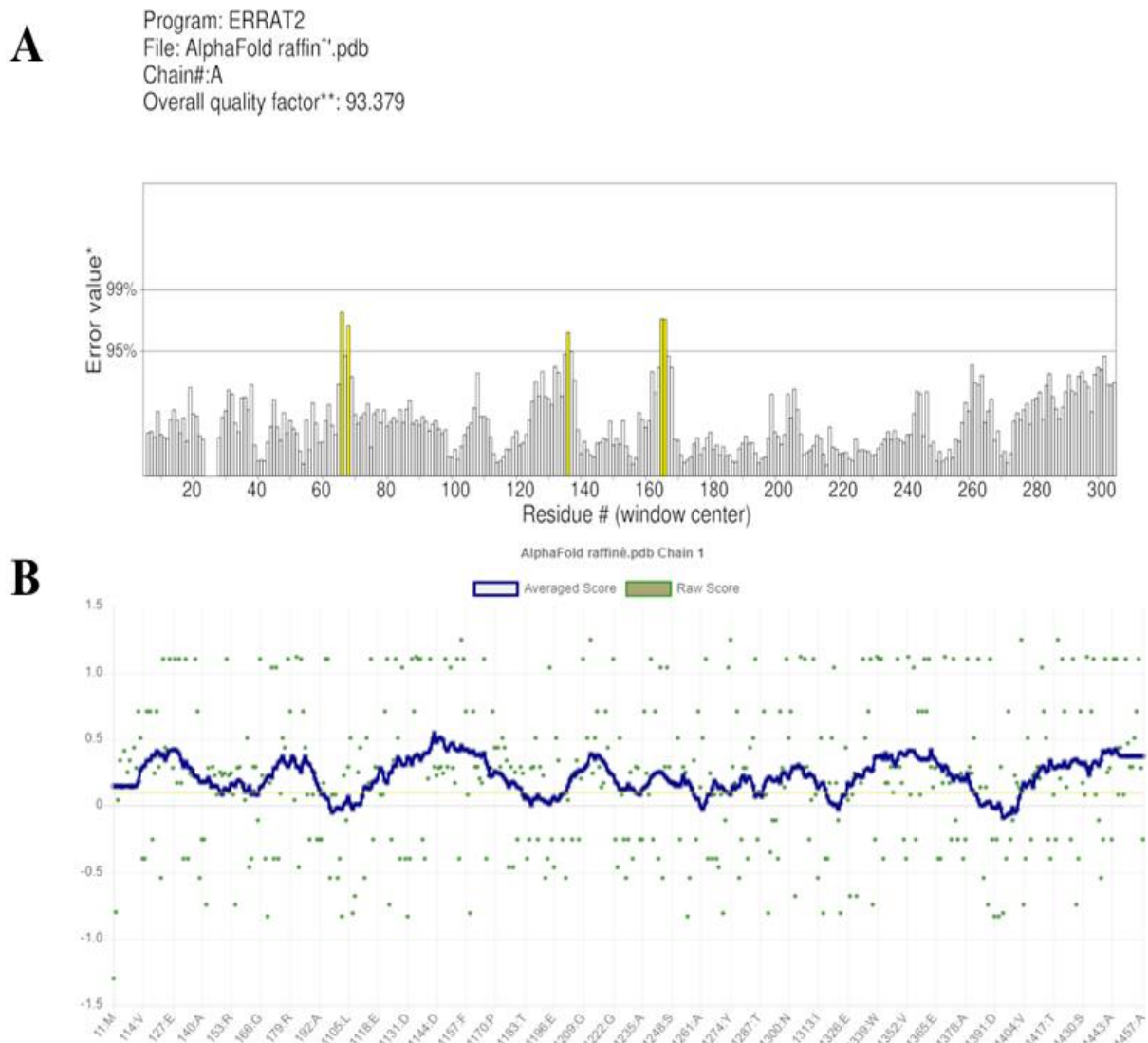


Figure 6. Validation de la qualité structurale du modèle généré par AlphaFold. A) Analyse de la qualité structurale du modèle protéique à l'aide de l'outil « ERRAT ». Le graphique présente le score de qualité basé sur les interactions non liées entre les atomes. **B)** Évaluation de la compatibilité 3D–1D du modèle protéique à l'aide de l'outil Verify 3D, Le graphique montre la moyenne (ligne bleue) et les scores bruts (points verts).

8. Analyse fonctionnelle

8.1 Identification des motifs structuraux et fonctionnels conservés

L'analyse de la séquence protéique d'allantoinase à l'aide de la base de données CDD (Conserved Domain Database) a mis en évidence la présence de domaines structuraux et fonctionnels conservés caractéristiques de la famille enzymatique des hydrolases métallo-dépendantes. Ces domaines, conservés au cours de l'évolution, suggèrent une fonction catalytique essentielle et confirment l'annotation fonctionnelle de la protéine. De plus, l'identification de sites fonctionnels clés renforce l'hypothèse d'une activité enzymatique similaire à celle des protéines homologues déjà décrites. On a un E-value égale à 0 associée au domaine conservé identifié, ce qui indique une similarité hautement significative, attestant de l'affiliation de la protéine à cette famille fonctionnelle (Figure 7).

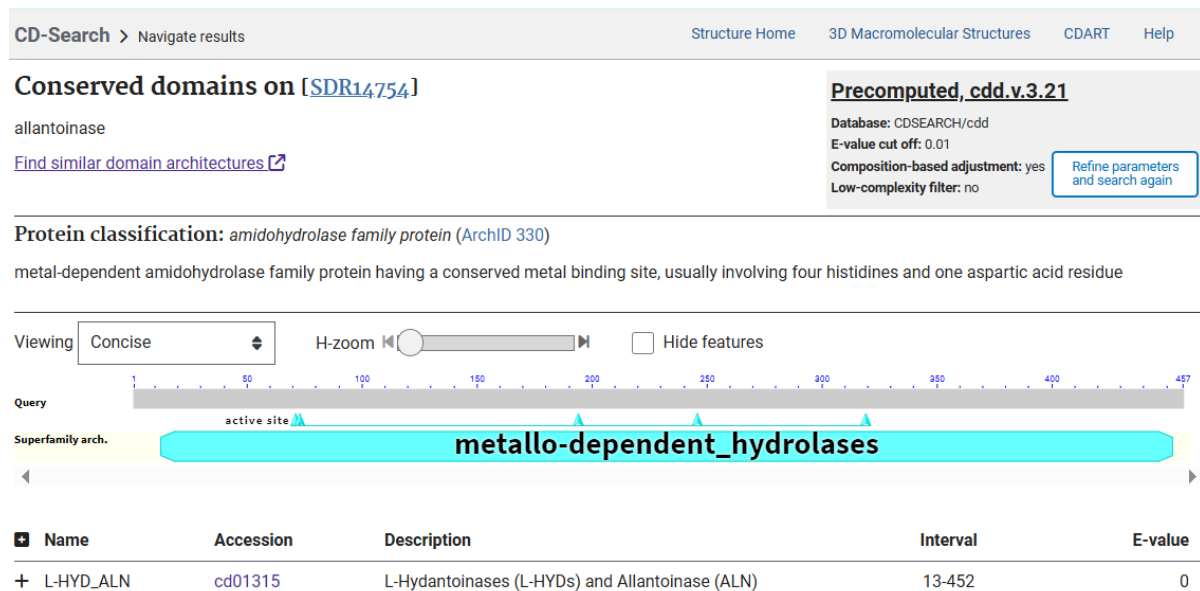



Figure 7. Analyse du domaine de l'allantoinase *d'Actinopolyspora saharensis* à l'aide du programme CDD.

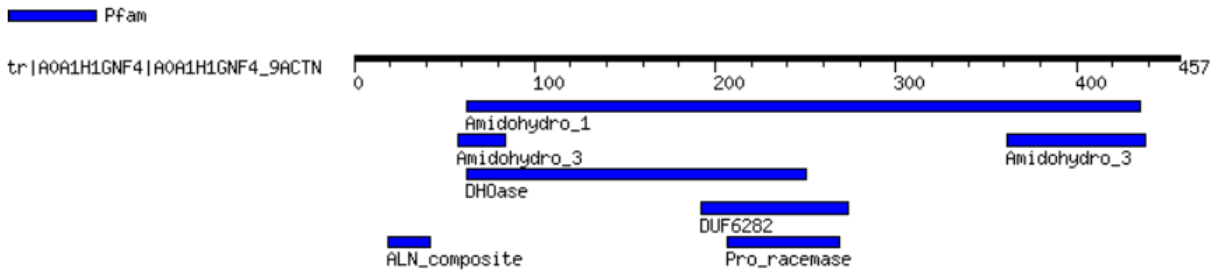
8.2 Identification des motifs protéique

L'analyse bioinformatique de la séquence de l'allantoinase à l'aide du serveur MOTIF Finder a permis d'identifier plusieurs motifs structuraux. Cette analyse a révélé la présence du 6 domaines conservés, Amidohydrolase_1 (accession Pfam : PF01979) qui se trouve entre les acides aminés 62 et 435, Amidohydrolase_3 (accession Pfam : PF07969) situé entre les acides aminés 58 et 84, Dihydro-orotase-like (accession Pfam : PF12890) entre l'acide aminé 62 et l'acide aminé 250, entre la position 192 et 274 se trouve le DUF6282 appartenant à une famille de fonction inconnue (accession Pfam : PF19799), la proline racémase (accession Pfam : PF05544) situé entre l'acide aminé 207 et 269 et dernièrement *ALN_composite* (accession Pfam : PF24890) qui

est localisée entre les positions 19 et 42 de la séquence protéique, comme illustré dans la **figure 8**. Les trois premiers domaines présentent des valeurs d'E-value très faibles, confirmant leur importance fonctionnelle et leur haut degré de conservation.

Result of MotifFinder

Number of found motifs: 6 



Pfam (6 motifs)

Pfam	Position(Independent E-value)	Description
Amidohydro_1	62..435(4.8e-25) Detail	PF01979, Amidohydrolase family
Amidohydro_3	58..84(0.19) 362..438(8.8e-08) Detail	PF07969, Amidohydrolase family
DHOase	62..250(1.2e-07) Detail	PF12890, Dihydro-orotase-like
DUF6282	192..274(0.17) Detail	PF19799, Family of unknown function (DUF6282)
Pro_racemase	207..269(0.16) Detail	PF05544, Proline racemase
ALN_composite	19..42(0.9) Detail	PF24890, Allantoinase, composite domain

Figure 8. Résultats de l'identification des motifs protéiques conservés chez allantoinase d'Actinopolyspora saharensis utilisant MOTIF Finder.

8.3 Interaction proteine-proteine

L'outil string v12.0 permet de donner le réseau d'interaction de la protéine allantoinase d'Actinopolyspora saharensis à partir de la séquence de cette dernière (FNKO01000002). Les résultats obtenus par cette plateforme montrent la présence de dix partenaires fonctionnels avec des scores de confiance compris entre 0,866 et 0,999. L'affinité la plus élevée a été montrée par Aspartate carbamoyltransferase pyrB avec un score de 0,999 alors que N-carbamoyl-L-amino-acid hydrolase SDQ83628.1 a montré la plus faible affinité avec un score de 0,866. Les résultats sont présentés dans la **figure 9** et détaillés dans le **tableau 11**.

Tableau 12. Les partenaires fonctionnels de la protéine allantoinase d'Actinopolyspora saharensis et leurs scores de confiance.

Nœud	Annotation	Score
pyrR	Pyrimidine operon attenuation protein / uracil phosphoribosyltransferase	0,907

Tableau 13. Les partenaires fonctionnels de la protéine allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis* et leurs scores de confiance (suite).

pyrB	Aspartate carbamoyltransferase	0,999
SDR14620.1	2-oxo-4-hydroxy-4-carboxy-5-ureidoimidazoline decarboxylase	0,977
SDQ11209.1	Dihydroorotate dehydrogenase (NAD+) catalytic subunit	0,963
alc	Allantoicase	0,989
carA	Carbamoyl-phosphate synthase small subunit	0,982
carB	Carbamoyl-phosphate synthase large subunit	0,976
SDR14581.1	Urate oxidase	0,889
SDR14602.1	5-hydroxyisourate hydrolase	0,873
SDQ83628.1	N-carbamoyl-L-amino-acid hydrolase	0,866

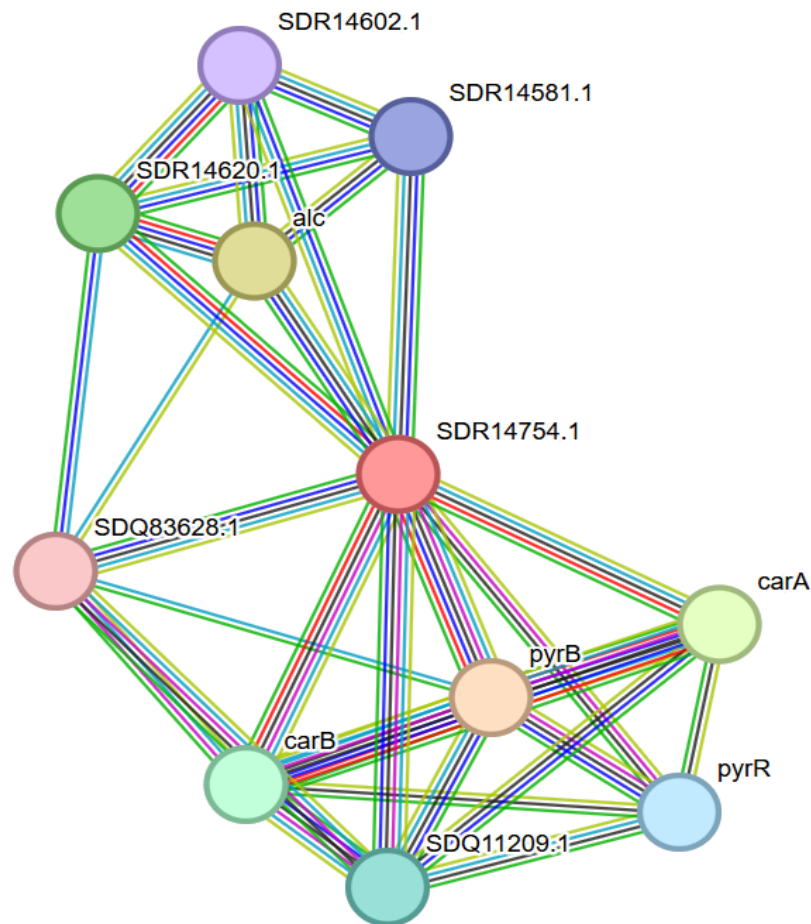


Figure 9. Etude des interactions protéine-protéine de la protéine allantoinase a l'aide de base de données STRING. La protéine allantoinase représenté par le nœud rouge et ses partenaires fonctionnels présent chez *Actinopolyspora saharensis* représentés par les autres nœuds.

8.4 Analyse de site actif

L'analyse de site actif d'allantoinase d'*Actinopolyspora saharensis* réalisée en utilisant le serveur COACH a permis d'identifier les acides aminés en position 71, 73, 158 et 319 comme résidus constituant ce site actif.

Le C-score fournit est un score de confiance de COACH, il indique une très forte confiance lorsqu'il est proche de 1. Ce score est basé sur la similarité entre la protéine requête et d'autres protéines connues. La meilleure similitude de site de liaison a été celle de l'uréase native (2ubpC) lié à Ni^{+2} car elle a le C-score le plus proche de 1.

9. Docking moléculaire

L’*docking* moléculaire a été réalisé entre l’enzyme allantoinase et des herbicides (**Tableau 12**) connus pour leurs effets nocifs pour la nature, dans le but d’analyser les interactions possibles entre eux. Cette analyse a été effectuée à l’aide du serveur CB-Dock2 en utilisant les structures 3D des 6 ligands choisis aux formats SDF et la meilleure structure 3D raffinée de l’enzyme.

Le *docking* utilisant CB-Dock2 propose cinq modèles d’interactions potentielles pour chaque herbicide sélectionné avec l’allantoinase afin d’évaluer la capacité de liaison entre eux. Il donne pour chaque ligand le meilleur complexe en se basant sur l’énergie de liaison la plus faible (Score de Vina) et le volume de la cavité **Tableau 13**.

Tableau 14. Les propriétés moléculaires des six herbicides sélectionnés pour l’étude de *docking* moléculaire.

Pubchem	Nom de molécule	Poids moléculaire	Formule chimique
Herbicides			
73281	Nicosulfuron	410,4 g/mol	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S
11784975	Penoxsulam	483,4 g/mol	C ₁₆ H ₁₅ F ₅ N ₅ O ₅ S
51556	Fomesafen	438,8 g/mol	C ₁₅ H ₁₀ ClF ₃ N ₂ O ₆ S
86429	Flufenacet	363,33 g/mol	C ₁₄ H ₁₃ F ₄ N ₃ O ₂ S
86137	Imazamox	305,33 g/mol	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₄
175967	Mésotrione	339,32 g/mol	C ₁₄ H ₁₃ NO ₇ S

Ce travail *in silico* est original en raison de l’absence d’études sur le *docking* et les interactions potentielles entre ces herbicides sélectionnés et l’enzyme allantoinase de *A. saharensis*. Cela fournit des données clés sur les propriétés de fixation de cette enzyme et offre des perspectives prometteuses.

Tableau 15. 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.

Ligands	Pubchem CID	Score de Vina (Kcal/mol)	Volume de la cavité (Å ³)
Herbicides			
Nicosulfuron	73281	-8,2	607
Penoxsulam	11784975	-7,9	607
Fomesafen	51556	-7,6	366
Flufenacet	86429	-7,3	607
Imazamox	86137	-7,1	174
Mesotrione	175967	-6,9	607

Le meilleur complexe allantoinase-Nicosulfuron (**Figure 10, A et Figure 11, A**) obtenue après le Docking, présente une énergie de liaison de $-8,2$ kcal/mol avec une cavité de taille 607 \AA^3 . Cette cavité est formée de 12 résidus : HIS73, TRP82, PHE160, SER164, GLY165, HIS194, ARG219, LYS290, CYS292, VAL337, TRP339, GLY340 qui interagit avec le ligand par 5 types des liaisons : liaisons conventionnels hydrogènes, liaisons carbone-hydrogène, des liaisons Pi-Sigma, des liaisons Alkyle ainsi que des liaisons Pi-Alkyle. Les structures 2D, 3D, la surface et l'énergie de liaison de ce complexe allantoinase-Nicosulfuron sont représenté ensemble dans la **Figure 12**.

Le ligand Penoxsulam révèle une interaction forte avec l'allantoinase (**Figure 10, B et Figure 11, B**), avec une énergie de liaison de $(-7,9)$ kcal/mol). La cavité de l'enzyme où le ligand se lie avec ce dernier est d'un volume de 607 \AA^3 , constitué de 13 acides aminés : LEU162, HIS163, ILE201, ALA204, PRO205, SER206, ALA207, SER218, ARG219, LYS290, CYS292, ALA338, TRP339 et s'interagit avec 7 types de liaisons : conventionnels hydrogènes, carbone-hydrogène, halogènes (fluorine), des liaisons Pi-Sigma, des liaisons Pi-cation, des liaisons Alkyle ainsi que des liaisons Pi-Alkyle.

Concernant le complexe allantoinase-Fomesafen (**Figure 10, C et Figure 11, C**) le plus stable présente une affinité de liaison intéressante de $(-7,6)$ kcal/mol). Cette stabilité est assurée par 6 types de liaison : hydrogènes conventionnels, carbone-hydrogène, halogènes (fluorine), des liaisons Pi-cation, des liaisons Alkyle ainsi que des liaisons Pi-sulfure. La poche catalytique permettant l'installation de composé est de 366 \AA^3 et forme des interactions avec les résidus suivants : SER198, ILE201, PHE215, SER218, ARG219, LYS290, GLY340.

L'herbicide Flufenacet présente une affinité notable avec l'allantoinase (**Figure 10, D et Figure 11, D**) avec une énergie de fixation estimée de $(-7,3)$ kcal/mol). Ce résultat indique des interactions favorables entre le ligand et l'enzyme présentées par les 7 liaisons suivantes : hydrogènes conventionnels, carbone-hydrogène, halogènes (fluorine), des liaisons Pi-cation, des liaisons Alkyle, liaisons Pi-Alkyle ainsi que des interactions Pi-Pi. La position dans l'enzyme où s'interagit le ligand est d'une taille de 607 \AA^3 et formé de 7 acides aminés : ILE201, SER206, ALA207, SER218, ARG219, LYS290 et TRP339.

Le mode d'interaction le plus fiable de ligand Imazamox avec l'allantoinase démontre une énergie d'interaction caractéristique de $-7,1$ kcal/mol. Les résidus suivants se positionnent dans le site actif d'enzyme : TYR403, HIS411, VAL428, ALA439 et GLY440 et entre en contact

avec le ligand par ces 4 interactions clés conventionnels hydrogènes, hydrogène-Pi donneur, Pi-Sigma et Pi-Alkyle (**Figure 10, E et Figure 11, E**). Ce site est d'un volume de 174 Å³.

Le complexe allantoinase-Mesotrione le plus performant se caractérise par une énergie d'interaction (-6,9 kcal/mol) montrant ainsi une interaction préférentielle. Le ligand s'ancre dans le creux de fixation de 607 Å³ en se liant avec les résidus QRG219 et LYS290 par la liaison conventionnels hydrogènes (**Figure 10, F et Figure 11, F**).

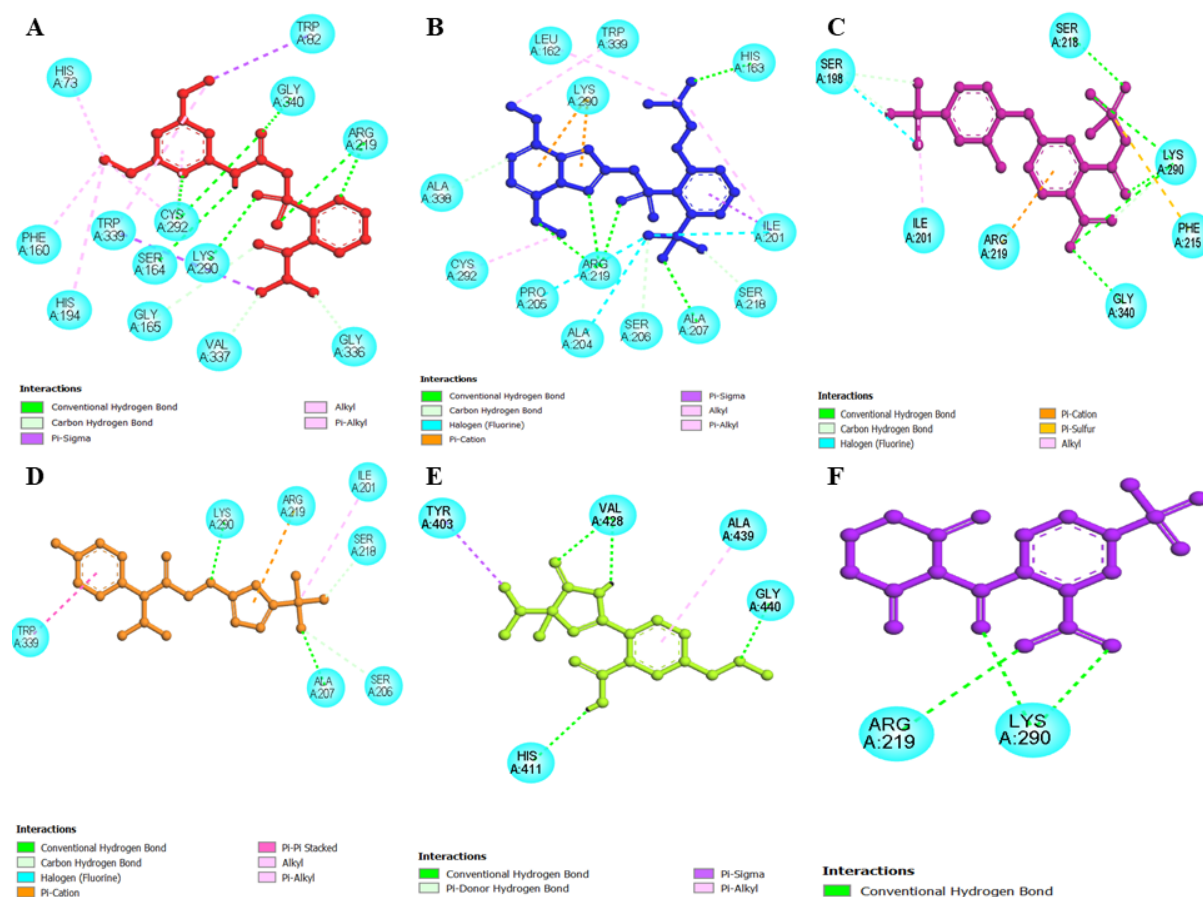


Figure 10. Diagramme des différents types d'interactions entre les résidus de l'enzyme allantoinase d'Actinopolyspora saharensis et les différents ligands en 2D, tels qu'observés dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer. A). Nicosulfuron (CID: 73281), B). Penoxsulam (CID: 11784975), C). Fomesafen (CID: 51556), D). Flufenacet (CID: 86429), E). Imazamox (CID: 86137), F). Mésotrione (CID : 175967).

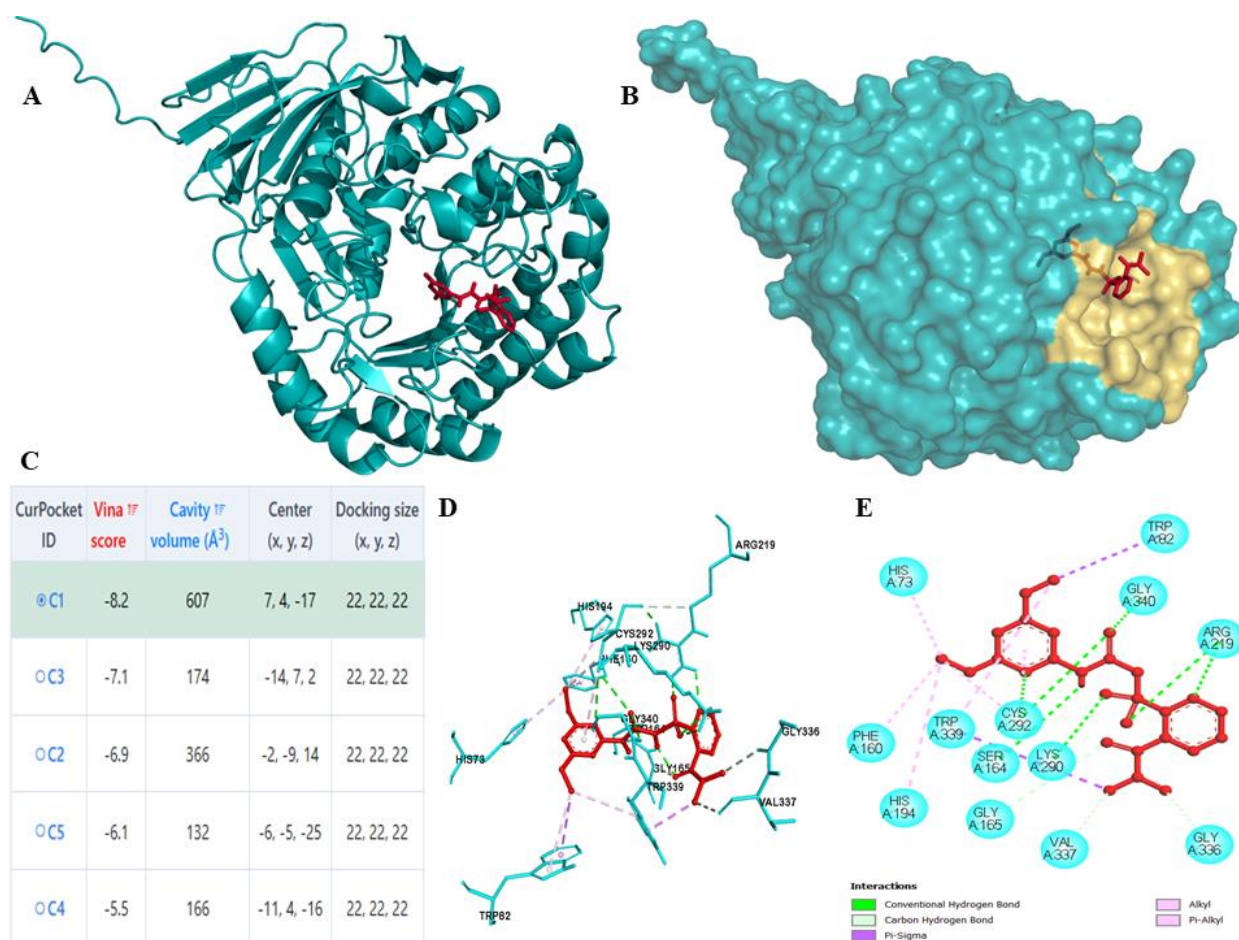


Figure 12. Analyse de l'interaction moléculaire entre le ligand Nicosulfuron et le récepteur enzymatique de l'allantoinase d'*Actiopolyspora saharensis*. A). La visualisation du ligand avec l'enzyme. B). L'illustration de la cavité montre la surface du récepteur protéique où s'effectue l'interaction ligand-récepteur. C). Énergie de liaison minimale et taille de cavité prédite pour l'utilisation des scores Vina de l'interface Web CB-Dock2. D). Les résidus d'enzyme impliqués dans l'interaction avec le ligand, tel qu'illustré dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer. E). Diagramme 2D rapporte les différents types d'interactions entre les résidus de l'enzyme et le ligand, tel qu'indiqué dans BIOVIA Discovery Studio Visualizer.

Comme mentionné précédemment, les herbicides ayant présenté les meilleures énergies de liaison avec l'enzyme allantoinase sont le Nicosulfuron et le Penoxsulam, avec des scores respectifs de $-8,2$ et $-7,9$ kcal/mol. En comparant le résultat de docking du Nicosulfuron avec l'allantoinase ($-8,2$ kcal/mol) à celui obtenu avec la protéine GE000409 ($-6,87$ kcal/mol) par (Zhao *et al.*, 2025), on observe une affinité de liaison plus élevée pour l'allantoinase. La comparaison des énergies de liaison du Penoxsulam montre une interaction plus favorable avec l'allantoinase ($-7,9$ kcal/mol) qu'avec la Laccase ($-7,5$ kcal/mol) trouvée par (Pant *et al.*, 2025), suggérant une meilleure stabilité du complexe enzyme–ligand dans le cas de l'allantoinase.

L'herbicide Fomesafen a donné une énergie de liaison de -7,6 kcal/mol, ce qui suggère son grand potentiel d'interaction avec le site actif d'allantoinase et donc sa dégradation. Ce résultat est très intéressant lorsqu'il est comparé à celui de Guo *et al.* (Guo *et al.*, 2025), où ils ont montré la capacité d'interaction de Fomesafen avec une enzyme appelée CYP57A1 et spécifiquement le site actif MET52, révélant une affinité de liaison de (-6,21 kcal/mol).

Le résultat de docking de Flufenacet contre l'allantoinase a mis en évidence une interaction favorable présentée par une énergie de liaison de -7,3 kcal/mol en comparant ce dernier avec le résultat de docking de même herbicide avec la laccase de *Halalkalibacterium halodurans* qui était de -6,4 kcal/mol (Pant *et al.*, 2025). On remarque que le complexe allantoinase-Flufenacet a une stabilité meilleure par rapport à celui de laccase-flufenacet.

Cela signifie qu'il y a plus de chances que l'allantoinase ait un pouvoir de dégradation de ces herbicides.

En ce qui concerne l'imazamox et le mésotrione, deux herbicides largement utilisés en agriculture, leurs scores respectifs de -7,1 et -6,9 kcal/mol offrent une perspective prometteuse pour la bioremédiation. À notre connaissance, ces deux molécules n'ont jamais fait l'objet d'un docking avec une enzyme, à l'exception du mésotrione qui a uniquement été étudié avec des protéines humaines ou dans des modèles toxicologiques.

Conclusion
et
Perspectives

Conclusion et Perspectives

L'allantoïnase (EC 3.5.2.5) est une enzyme métallo-dépendante appartenant à la famille des amidohydrolases. Elle catalyse la transformation de l'allantoïne en acide allantoïque, constituant une étape clé dans la dégradation des purines et le recyclage de l'azote. Ce travail représente la première étude détaillée d'une allantoïnase provenant d'*Actinopolyspora saharensis*, apportant ainsi des données inédites sur cette protéine encore peu explorée.

L'étude *in silico* de cette enzyme a mis en évidence plusieurs propriétés intéressantes : un caractère acide, une hydrophilie, une bonne thermostabilité ainsi qu'une localisation cytoplasmique. L'ensemble de ces propriétés, en particulier sa stabilité, suggère un fort potentiel pour diverses applications industrielles et environnementales.

L'analyse de la structure secondaire a révélé une prédominance des boucles conférant à l'enzyme une certaine flexibilité, suivie des hélices α puis des feuilletts β . La modélisation de la structure tertiaire, réalisée à l'aide de plusieurs outils bio-informatiques (notamment AlphaFold), a conduit à l'obtention d'un modèle tridimensionnel fiable, dont la qualité stéréochimique a été validée.

L'analyse fonctionnelle a permis d'identifier des domaines conservés caractéristiques des amidohydrolases ainsi que les résidus du site actif. L'étude des interactions protéine-protéine a souligné le rôle central de cette enzyme dans le catabolisme des purines.

Enfin, l'analyse de docking moléculaire a révélé des interactions significatives entre l'allantoïnase et six herbicides aux effets nocifs pour l'environnement, avec des énergies de liaison comparables ou supérieures à celles rapportées dans la littérature. Ces résultats suggèrent que cette enzyme pourrait constituer un candidat prometteur pour la bioremédiation des sols contaminés.

En perspectives, plusieurs axes de recherche pourraient être envisagés : (i) la validation expérimentale de l'activité enzymatique par des tests *in vitro* ; (ii) l'étude de la cinétique enzymatique ; (iii) l'évaluation du potentiel de dégradation des herbicides en conditions contrôlées ; (iv) l'ingénierie protéique visant à améliorer l'affinité et la stabilité de l'enzyme ; (v) l'exploration d'autres substrats potentiels. Ces travaux soulignent ainsi le potentiel considérable de cette enzyme pour la dépollution environnementale.

*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques

- Almagro Armenteros, J. J., Tsirigos, K. D., Sønderby, C. K., Petersen, T. N., Winther, O., Brunak, S., von Heijne, G., & Nielsen, H. J. N. b. (2019). SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks. *37*(4), 420-423.
- Andreasen, C., Høgh, K. L., & Jensen, S. M. J. A. (2020). The effect of foliar and soil application of flufenacet and prosulfocarb on Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) control. *10*(11), 552.
- 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.
- Bakibaev, A., Il'Yasov, S., Tatarenko, O., Tuguldurova, V., Zorin, A., Malkov, V., & Kasyanova, A. J. B. K. y. C. X. (2020). Allantoin: Synthesis and chemical properties. (1), 7-21.
- Balabanova, D., Neshev, N., Yanev, M., Koleva-Valkova, L., & Vassilev, A. J. J. o. C. E. A. (2023). Photosynthetic performance and productivity of maize (*Zea mays* L.), exposed to simulated drift of imazamox and subsequent therapy application with protein hydrolysates. *24*(1), 126-136.
- Becker, L. C., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Klaassen, C. D., Marks, J. G., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., & Andersen, F. A. J. I. j. o. t. (2010). Final report of the safety assessment of allantoin and its related complexes. *29*(3_suppl), 84S-97S.
- Bouras, N., Bakli, M., Saker, R., Dif, G., Meklat, A., Ebada, S. S., Holtz, M. D., Paşcalău, R., Nouioui, I. J. A. J. f. S., & Engineering. (2025). Genomic Comparison and Enzymatic Characterization of Dienelactone Hydrolase in *Actinopolyspora saharensis* Bacteria for Petroleum-Based Plastic Bioremediation. 1-18.
- Chun, J., Bae, K. S., Moon, E. Y., Jung, S.-O., Lee, H. K., Kim, S.-J. J. I. j. o. s., & microbiology, e. (2000). *Nocardiosis kunsanensis* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete isolated from a saltern. *50*(5), 1909-1913.
- Colovos, C., & Yeates, T. O. J. P. s. (1993). Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *2*(9), 1511-1519.
- Cottone, G., Giuffrida, S., Bettati, S., Bruno, S., Campanini, B., Marchetti, M., Abbruzzetti, S., Viappiani, C., Cupane, A., & Mozzarelli, A. J. C. (2019). More than a confinement: "Soft" and "hard" enzyme entrapment modulates biological catalyst function. *9*(12), 1024.
- Das, S., Krishnamoorthy, J., Kar, R. K. J. B., & Communications, B. R. (2025). Estimating the structural and spatial variables of allantoinase enzyme critical for protein adsorption. *743*, 151161.
- Dong, S., Chen, T., Xi, R., Gao, S., Li, G., Zhou, X., Song, X., Ma, Y., Hu, C., & Yuan, X. J. P. (2024). Crop Safety and Weed Control of Foliar Application of Penoxsulam in Foxtail Millet. *13*(16), 2296.
- Duke, S. O. J. E. h. p. (1990). Overview of herbicide mechanisms of action. *87*, 263.
- Dusgun, C. J. C. R. i. S., & Mathematics-. (2024). Structure and Keratolytic Properties of Allantoin. 85-104.
- Dutta, B., Banerjee, A., Chakraborty, P., Bandopadhyay, R. J. J. o. G. E., & Biotechnology. (2018). In silico studies on bacterial xylanase enzyme: Structural and functional insight. *16*(2), 749-756.
- Farjami, T., Sharma, A., Hagen, L., Jensen, I.-J., & Falch, E. J. F. C. (2024). Comparative study on composition and functional properties of brewer's spent grain proteins precipitated by citric acid and hydrochloric acid. *446*, 138863.
- Gamage, D. G., Gunaratne, A., Periyannan, G. R., Russell, T. G. J. P., & letters, p. (2019). Applicability of instability index for in vitro protein stability prediction. *26*(5), 339-347.
- Ge, Y., Yang, A., Dong, Y., Wang, S., Xu, R., Zhou, D. J. P. B., & Physiology. (2025). Efficient degradation mechanism of fomesafen by earthworms and gut degrading bacteria synthetic community. *214*, 106607.
- 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.
- Gitsopoulos, T., Georgoulas, I., Vazanelli, E., & Botsoglou, D. J. A. (2024). Selectivity of the premixtures flufenacet, diflufenican and flufenacet, diflufenican, metribuzin on bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.) and efficacy on ALS/ACCase-resistant populations of *Lolium rigidum* Gaudin. *14*(5), 949.

Références bibliographiques

- Gochnauer, M. B., Leppard, G. G., Komaratat, P., Kates, M., Novitsky, T., & Kushner, D. J. J. C. j. o. m. (1975). Isolation and characterization of *Actinopolyspora halophila*, gen. et sp. nov., an extremely halophilic actinomycete. *21*(10), 1500-1511.
- Guan, T.-W., Liu, Y., Zhao, K., Xia, Z.-F., Zhang, X.-P., & Zhang, L.-L. J. A. V. L. (2010). *Actinopolyspora xinjiangensis* sp. nov., a novel extremely halophilic actinomycete isolated from a salt lake in Xinjiang, China. *98*(4), 447-453.
- Guo, J., Kong, L., Tian, L., Han, Y., Teng, C., Ma, H., Tao, B. J. P. B., & Physiology. (2025). Molecular docking and mutation sites of CYP57A1 enzyme with Fomesafen. *209*, 106328.
- Heo, L., Park, H., & Seok, C. J. N. a. r. (2013). GalaxyRefine: Protein structure refinement driven by side-chain repacking. *41*(W1), W384-W388.
- Hilario, E. C., Stern, A., Wang, C. H., Vargas, Y. W., Morgan, C. J., Swartz, T. E., Patapoff, T. W. J. P. j. o. p. s., & technology. (2017). An improved method of predicting extinction coefficients for the determination of protein concentration. *71*(2), 127-135.
- Hirokawa, T., Boon-Chieng, S., & Mitaku, S. J. B. (1998). SOSUI: classification and secondary structure prediction system for membrane proteins. *14*(4), 378-379.
- Ho, Y.-Y., Hsieh, H.-C., & Huang, C.-Y. J. T. P. J. (2011). Biochemical characterization of allantoinase from *Escherichia coli* BL21. *30*(6), 384-394.
- Hozzein, W. N., & Goodfellow, M. J. A. J. o. m. R. (2011). *Actinopolyspora egyptensis* sp. nov., a new halophilic actinomycete. *5*(2), 100-105.
- Huang, Y.-H., Yang, P.-C., Lin, E.-S., Ho, Y.-Y., Peng, W.-F., Lu, H.-P., Huang, C.-C., & Huang, C.-Y. J. M. (2023). Crystal structure of allantoinase from *Escherichia coli* BL21: a molecular insight into a role of the active site loops in catalysis. *28*(2), 827.
- Ikai, A. J. T. J. o. B. (1980). Thermostability and aliphatic index of globular proteins. *88*(6), 1895-1898.
- James, T., Rahman, A., & Hicking, J. J. N. Z. P. P. (2006). Mesotrione a new herbicide for weed control in maize. *59*, 242-249.
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Žídek, A., & Potapenko, A. J. n. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *596*(7873), 583-589.
- Kaur, H., Chowrasia, S., Gaur, V. S., & Mondal, T. K. J. P. M. B. R. (2021). Allantoin: emerging role in plant abiotic stress tolerance. *39*(3), 648-661.
- 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.
- Kim, K., Kim, M.-I., Chung, J., Ahn, J.-H., & Rhee, S. J. J. o. m. b. (2009). Crystal structure of metal-dependent allantoinase from *Escherichia coli*. *387*(5), 1067-1074.
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., & Yu, B. J. N. a. r. (2025). PubChem 2025 update. *53*(D1), D1516-D1525.
- 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.
- Laskowski, R., MacArthur, M., & Thornton, J. (2006). PROCHECK: validation of protein-structure coordinates.
- Le Ruyet, C. (2024). *Investigating herbicide targets in the very long-chain fatty acid biosynthesis pathway* [Université de Bordeaux].
- Li, J., Yu, J., Yin, S., Gao, H., Hou, X., & Dong, L. J. W. S. (2025). Target site-resistance mechanisms to imazamox in imidazolinone herbicide-resistant weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) in China. *73*(1), e78.
- 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.
- Lüthy, R., Bowie, J. U., & Eisenberg, D. J. N. (1992). Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *356*(6364), 83-85.

Références bibliographiques

- Marchetti, M., Ronda, L., Faggiano, S., Liuzzi, A., Percudani, R., Bettati, S. J. S., & Chemical, A. B. (2018). Fluorescence quantification of allantoin in biological samples by cap-immobilized allantoinase/resorcinol assay. *255*, 2820-2828.
- Marchler-Bauer, A., Zheng, C., Chitsaz, F., Derbyshire, M. K., Geer, L. Y., Geer, R. C., Gonzales, N. R., Gwadz, M., Hurwitz, D. I., & Lanczycki, C. J. J. N. a. r. (2012). CDD: conserved domains and protein three-dimensional structure. *41*(D1), D348-D352.
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P., & Sabaou, N. (2013). *Actinopolyspora saharensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil of Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, *103*(4), 771-776. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9859-z>
- Meklat, A., Bouras, N., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., Schumann, P., Spröer, C., Klenk, H.-P., & Sabaou, N. J. E. (2012). *Actinopolyspora algeriensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from a Saharan soil. *16*(5), 771-776.
- Namwong, S., Pandey, S., Yuki, M., Kudo, T., Ohkuma, M., & Tanasupawat, S. J. S. (2022). Characterization, genome annotation, and antibacterial properties of *Actinopolyspora saharensis* BKK2. *48*(5).
- Naoum, J., Lavoie, M., Gomes, M. P., & Juneau, P. J. S. (2023). Contrasting toxicity of a Fomesafen-Based herbicide on three freshwater phytoplanktonic species. *3*(1), 102-124.
- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J. P., Woyke, T., Kyrpides, N. C., Pukall, R., Klenk, H.-P., Goodfellow, M., & Göker, M. J. F. i. m. (2018). Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria. *9*, 355158.
- Okumura, I., KONDO, K., MIYAKE, Y., ITAYA, K., & YAMAMOTO, T. J. T. J. o. B. (1976). Stereospecificity of conversion of uric acid into allantoinic acid by enzymes of *Candida utilis*. *79*(5), 1013-1019.
- Pace, C. N., Grimsley, G. R., & Scholtz, J. M. J. J. o. B. C. (2009). Protein ionizable groups: pK values and their contribution to protein stability and solubility. *284*(20), 13285-13289.
- Pace, C. N., Vajdos, F., Fee, L., Grimsley, G., & Gray, T. J. P. s. (1995). How to measure and predict the molar absorption coefficient of a protein. *4*(11), 2411-2423.
- 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.
- Pant, R., Kumar, R., Sharma, S., Karuppasamy, R., Veerappapillai, S. J. J. o. B. S., & Dynamics. (2025). Exploring the potential of *Halalkalibacterium halodurans* laccase for endosulfan and chlorophacinone degradation: insights from molecular docking and molecular dynamics simulations. *43*(2), 742-756.
- Ramazzina, I., Cendron, L., Folli, C., Berni, R., Monteverdi, D., Zanotti, G., & Percudani, R. J. J. o. B. C. (2008). Logical identification of an allantoinase analog (puuE) recruited from polysaccharide deacetylases. *283*(34), 23295-23304.
- Seibert, C. M., & Raushel, F. M. J. B. (2005). Structural and catalytic diversity within the amidohydrolase superfamily. *44*(17), 6383-6391.
- Sganzerla Martinez, G., Dutt, M., Kumar, A., & Kelvin, D. J. J. T. P. J. (2024). Multiple protein profiler 1.0 (MPP): a webserver for predicting and visualizing physiochemical properties of proteins at the proteome level. *43*(4), 711-717.
- Shirling, E. T., & Gottlieb, D. J. I. j. o. s. b. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *16*(3), 313-340.
- Sun, S., Wang, L., Wang, S., Yu, N., & Zhong, X. J. A. (2024). Photosynthetic and Physiological Responses of Different Maize Varieties to Mesotrione. *14*(8), 1701.
- Sydatk, C., May, O., Altenbuchner, J., Mattes, R., Siemann, M. J. A. M., & Biotechnology. (1999). Microbial hydantoinases—industrial enzymes from the origin of life? , *51*(3), 293-309.
- Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., Gable, A. L., Fang, T., Doncheva, N. T., & Pyysalo, S. J. N. a. r. (2023). The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *51*(D1), D638-D646.

Références bibliographiques

- Taldaev, A., Rudnev, V., Kulikova, L., Nikolsky, K., Efimov, A., Malsagova, K., & Kaysheva, A. J. P. (2022). Molecular dynamics study of citrullinated proteins associated with the development of rheumatoid arthritis. *10*(1), 8.
- Tang, S.-K., Wang, Y., Klenk, H.-P., Shi, R., Lou, K., Zhang, Y.-J., Chen, C., Ruan, J.-S., Li, W.-J. *J. I. J. O. S., & Microbiology, e.* (2011). *Actinopolyspora alba* sp. nov. and *Actinopolyspora erythraea* sp. nov., isolated from a salt field, and reclassification of *Actinopolyspora iraqiensis* Ruan et al. 1994 as a heterotypic synonym of *Saccharomonospora halophila*. *61*(7), 1693-1698.
- Trijbels, J. M. F. (1967). *An enzymic study of the metabolism of allantoin in various organisms* Nijmegen: Thoben Offset].
- Wayne, L. G., Brenner, D., Colwell, R., Grimont, P., Kandler, O., Krichevsky, M., Moore, L., Moore, W., Murray, R., Stackebrandt, E. *J. I. J. O. S., & Microbiology, e.* (1987). Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *37*(4), 463-464.
- Werner, A. K., & Witte, C.-P. *J. T. I. P. S.* (2011). The biochemistry of nitrogen mobilization: purine ring catabolism. *16*(7), 381-387.
- Xie, J., Zhao, L., Liu, K., Guo, F., Gao, L., & Liu, W. *J. S. O. T. T. E.* (2018). Activity, toxicity, molecular docking, and environmental effects of three imidazolinone herbicides enantiomers. *622*, 594-602.
- Xu, B., Sung, C., & Han, B. *J. C.* (2011). Crystal structure characterization of natural allantoin from edible lichen *Umbilicaria esculenta*. *1*(3), 128-135.
- Yang, J., Roy, A., & Zhang, Y. *J. B.* (2013). Protein–ligand binding site recognition using complementary binding-specific substructure comparison and sequence profile alignment. *29*(20), 2588-2595.
- Yasmeen, H., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Zafar, S., Ali, S. J. P., & Plants, M. *B. O.* (2024). Allantoin regulated oxidative defense, secondary metabolism and ions homeostasis in maize (*Zea mays* L.) under heat stress. *30*(10), 1719-1739.
- Yoshida, M., Matsubara, K., Kudo, T., Horikoshi, K. *J. I. J. O. S., & Microbiology, E.* (1991). *Actinopolyspora mortivallis* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete. *41*(1), 15-20.
- Yu, N. Y., Wagner, J. R., Laird, M. R., Melli, G., Rey, S., Lo, R., Dao, P., Sahinalp, S. C., Ester, M., Foster, L. J., & Brinkman, F. S. L. (2010). PSORTb 3.0: improved protein subcellular localization prediction with refined localization subcategories and predictive capabilities for all prokaryotes. *Bioinformatics*, *26*(13), 1608-1615. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq249> %J Bioinformatics
- Zhao, S., Kang, J., Wang, J. *J. I. C., & Products.* (2025). Elucidating the biodegradation mechanisms of atrazine and nicosulfuron by *Bacillus subtilis* KCO1: insights into strain functionality and soil application potential. *234*, 121601.
- Zhao, S., & Wang, J. *J. O. H. M.* (2024). Biodegradation of atrazine and nicosulfuron by *Streptomyces nigra* LM01: Performance, degradative pathway, and possible genes involved. *471*, 134336.
- Zhou, S., Saker, R., Bouras, N., Dif, G., Mast, Y., & Nouioui, I. *J. A. M.* (2026). Draft genome sequence of *Actinopolyspora saharensis* DSM 46666, a rare actinomycete isolated from the Algerian Sahara. *8*(2), 001099. v001093.

Annexes

Annexes

Tableau S1. Raffinement par GalaxyWeb de model d'allantoïnase *d'Actinopolyspora saharensis* obtenu à partir d'AlphaFold.

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	1.144	2.4	0.3	97.4
MODEL 1	0.9907	0.253	1.728	12.6	1.4	98.9
MODEL 2	0.9907	0.271	1.674	14.8	0.6	98.9
MODEL 3	0.9918	0.255	1.705	15.9	0.9	99.1
MODEL 4	0.9907	0.264	1.620	12.9	0.6	98.9
MODEL 5	0.9934	0.248	1.808	15.4	1.4	99.1

Tableau S2. Raffinement par GalaxyWeb de model d'allantoïnase *d'Actinopolyspora saharensis* obtenu à partir de SWISS-MODEL.

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	1.145	1.6	0.3	96.5
MODEL 1	0.9902	0.263	1.662	14.3	0.9	98.5
MODEL 2	0.9951	0.243	1.606	12.4	0.6	98.9
MODEL 3	0.9951	0.235	1.705	15.9	0.9	98.7
MODEL 4	0.9945	0.247	1.662	14.3	0.3	98.5
MODEL 5	0.9940	0.245	1.672	13.2	1.1	98.5

Tableau S3. Raffinement par GalaxyWeb de model d'allantoïnase *d'Actinopolyspora saharensis* obtenu à partir de Phyre².

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	2.955	96.0	0.3	91.4
MODEL 1	0.9780	0.340	1.843	18.8	0.6	97.7
MODEL 2	0.9768	0.351	2.118	22.1	1.5	97.2
MODEL 3	0.9751	0.351	2.094	23.1	1.2	97.0
MODEL 4	0.9646	0.375	1.977	20.4	1.2	97.4
MODEL 5	0.9762	0.358	1.870	18.2	0.9	97.4

Tableau S4. Raffinement par GalaxyWeb de model d'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis* obtenu à partir de d'I-TASSER.

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	5.189	414.6	52.3	72.7
MODEL 1	0.9606	0.398	2.524	26.3	1.4	91.6
MODEL 2	0.9513	0.411	2.650	26.3	2.0	91.2
MODEL 3	0.9573	0.409	2.393	25.0	0.6	91.4
MODEL 4	0.9524	0.419	2.548	25.0	1.7	92.1
MODEL 5	0.9502	0.418	2.409	26.5	0.9	91.6

Tableau S5. Raffinement par GalaxyWeb de model d'allantoïnase d'*Actinopolyspora saharensis* obtenu à partir de trRosetta.

Model	GDT-HA	RMSD	MolProbity	Clash score	Poor rotamers	Rama favored
Initial	1.0000	0.000	1.136	3.5	0.0	98.2
MODEL 1	0.9929	0.252	1.723	16.7	0.3	98.7
MODEL 2	0.9934	0.253	1.697	15.7	0.3	98.5
MODEL 3	0.9940	0.251	1.694	15.5	0.3	98.2
MODEL 4	0.9929	0.263	1.723	16.7	0.6	98.9
MODEL 5	0.9934	0.252	1.730	17.0	0.3	98.5

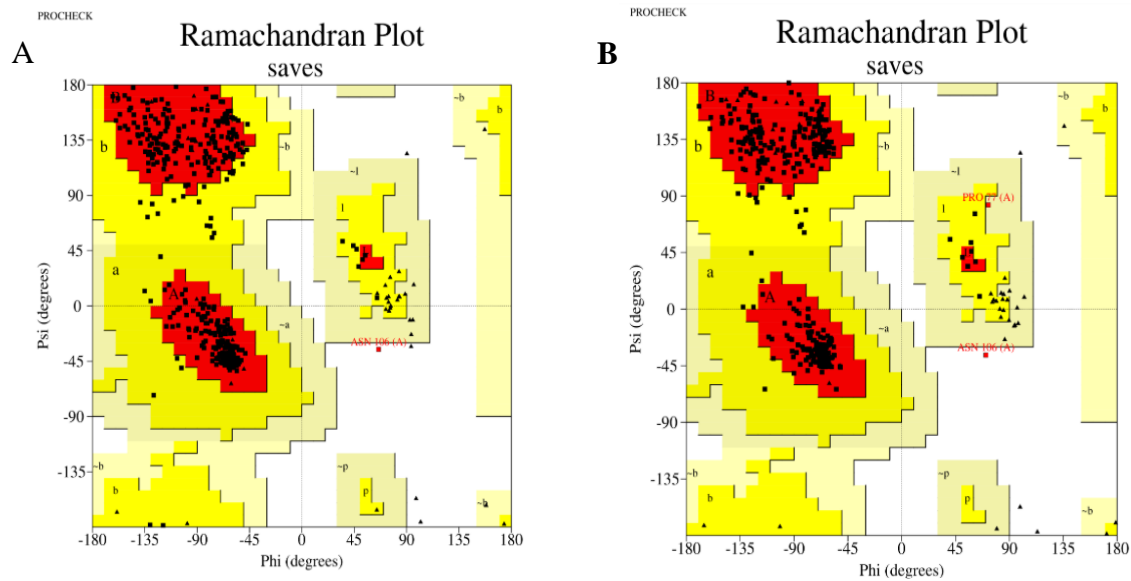


Figure S1. Résultats de la validation du model tridimensionnel prédit par AlphaFold à l'aide de diagramme de Ramachandran généré via PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires 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.

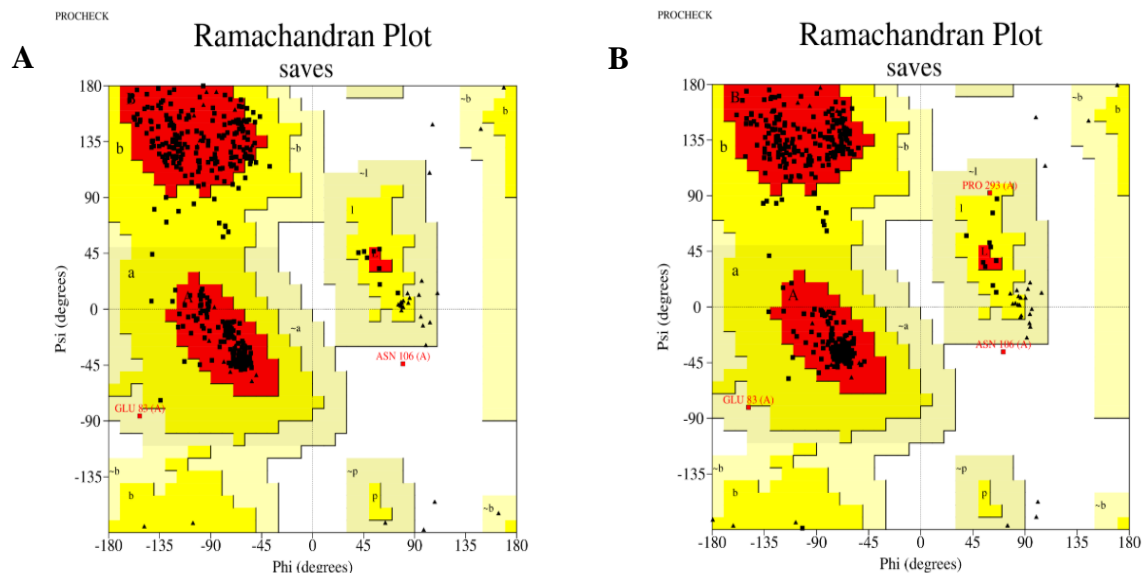


Figure S2. Résultats de la validation du model tridimensionnel prédit par Swiss Model à l'aide de diagramme de Ramachandran généré via PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires 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.

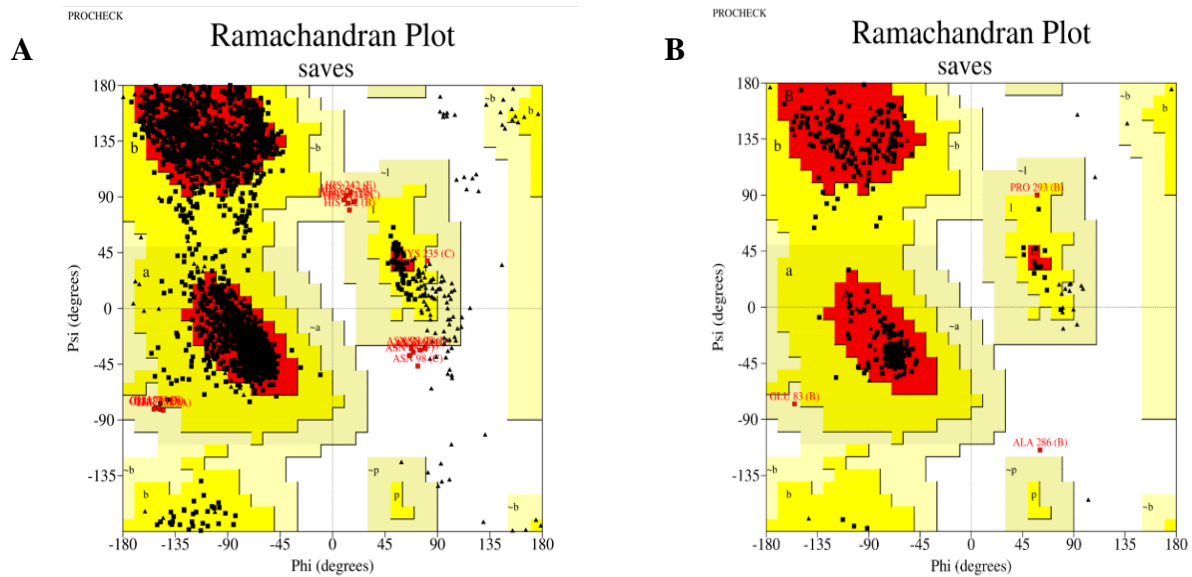


Figure S3. Résultats de la validation du model tridimensionnel prédit par Phyre² à l'aide de diagramme de Ramachandran généré via PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires 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.

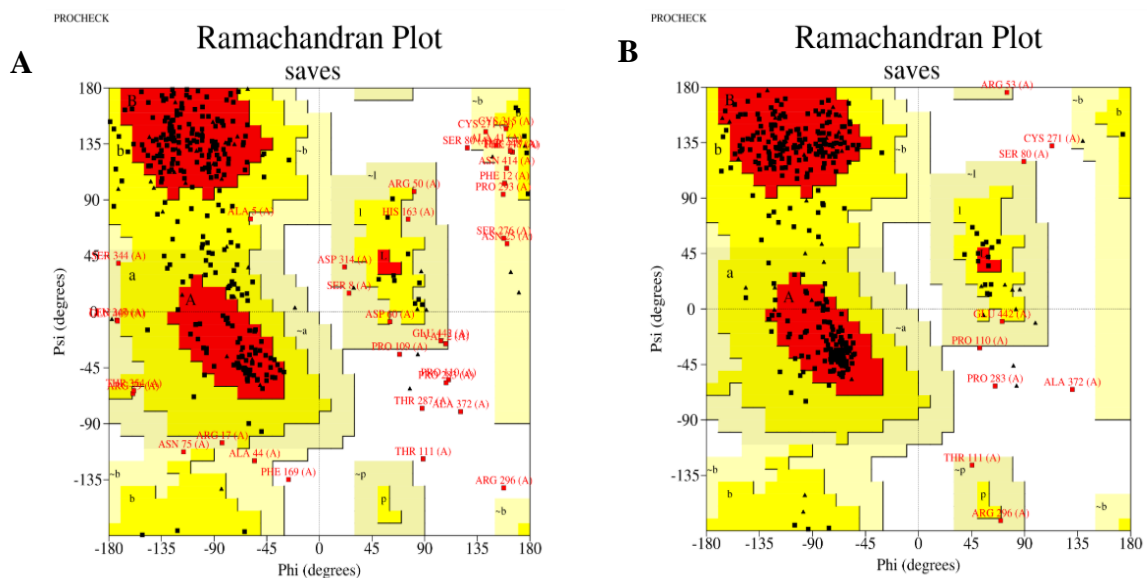


Figure S4. Résultats de la validation du model tridimensionnel prédit par I-TASSER à l'aide de diagramme de Ramachandran généré via PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires 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.

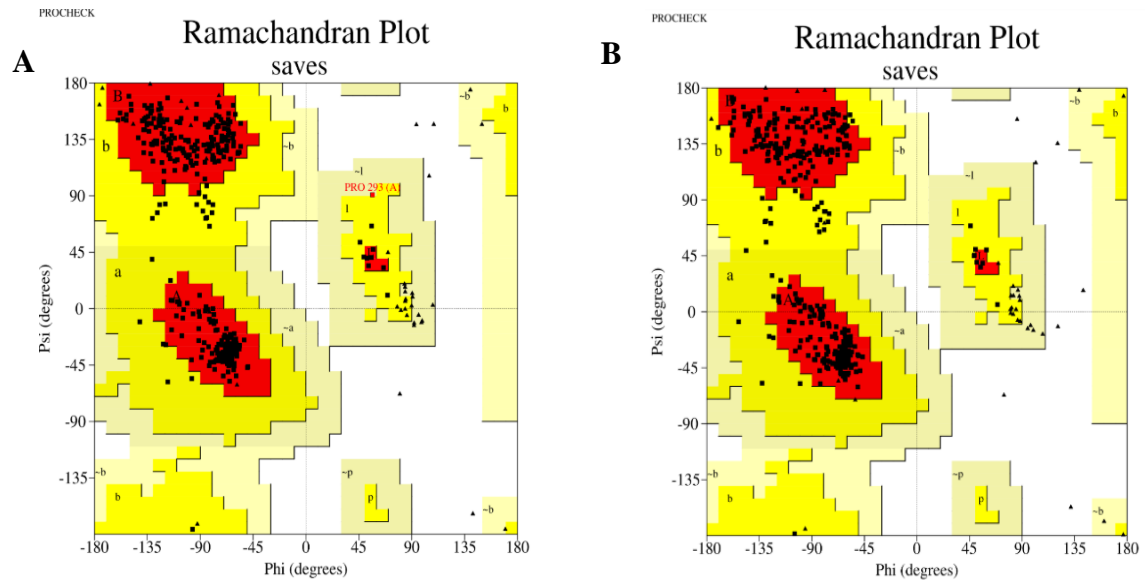


Figure S5. Résultats de la validation du model tridimensionnel prédit par trRosetta à l'aide de diagramme de Ramachandran généré via PROCHECK (serveur SAVES). (A) Modèle initial. (B) Modèle raffiné. Les régions les plus favorisées A, B et L (en rouge), tout en étant les régions autorisées supplémentaires 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.

Tableau S6. Les vingt acides aminés.

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


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض قسم البيولوجيا	جامعة غرداية  Université de Ghardaïa	Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre Département de Biologie
--	---	---

Ghardaïa le :23/06/2026

Rapport : Correction du mémoire

Enseignants Chargé de la correction : Mr : Mahfoud BAKLI

Nom et prénom l'examineur 1	Nom et prénom de l'examineur 2	Nom et prénom de président
Ahmed Amine ZERGOUN	/	Abderahmane LINANI
Signature de	Signature	Signature
	/	

Thème :

Analyse in silico d'allantoinase d'Actinopolyspora saharensis

Après les corrections apportées au mémoire, les étudiantes :

Asma YAGOUB et Yousra LALI

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض قسم البيولوجيا	جامعة غرداية  University of Ghardaïa	Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre Département de Biologie
--	---	---

Sont autorisées à déposer le manuscrit au niveau du département.

Signature

