



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie
*Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master en
Biotechnologie Microbienne*

2014-2015

Thème

Les peroxydases chez les bactéries

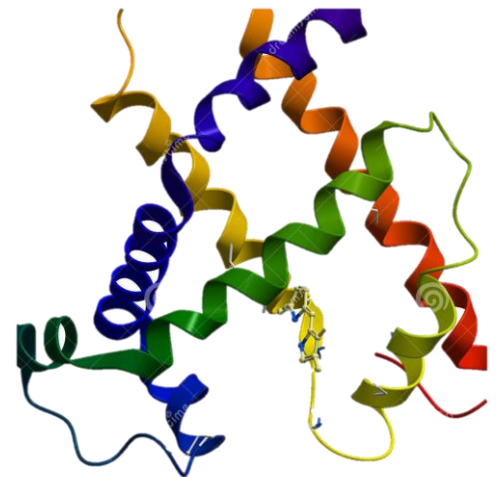
Réalisé par : M^{elle} CHERIFI FATIMA

Devant le jury :

Président : M^r TOUATI A. (Chef département microbiologie, Université A. MIRA/ Bejaia)

Examinatrice : M^{elle} DJINNI I. (MAA, Université A. MIRA/ Bejaia)

Promotrice : M^{me} BOUCHERBA N. (MCB, Université A.MIRA/ Bejaia)



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....	1
I- Aperçus historique sur les peroxydases.....	3
II- Définition.....	3
III- Sources et classification.....	4
III.1 –Sources.....	4
III.2-Classification.....	5
III.2.1-La Classification de l'union Internationale de Biochimie et de biologie moléculaire (IUBMB).....	5
III.2.2-La classification de welinder.....	6
VI. Classification des peroxydases des Actinomycètes: Propriétés et Fonctions.....	9
VI.1 Peroxydases hémiques (hème-peroxydases).....	9
VI.1.1 Lignine-peroxydase (EC 1.11.1.14).....	10
VI.1.1.1 Propriétés de la lignine peroxydase.....	11
VI.1.2 Manganèse peroxydase (EC: 1.11.1.13).....	12
VI.1.3 Halo-peroxydase (CE 1.11.1.10 et CE 1.11.1.B7).....	12
VI.1.3.1 Propriétés de halo-peroxydase.....	12
VI.1.3.2 Rôle de halo-peroxydase.....	13
VI.1.4 Catalase (EC 1.11.1.6).....	13
VI.1.4.1 Propriétés des catalases.....	13
VI.1.3.2 Rôle des catalases.....	14
VI.1. 5 La catalase - peroxydase (EC 1.11.1.6 et EC 1.11.1.7).....	15
VI.1.5.1 Propriétés de la catalase-peroxydase	15

VI.1.5.2 Rôle de la catalase-peroxydase.....	16
VI.1.6 Dyp-type peroxydase (CE 1.11.1.X).....	17
VI.1.6.1 Propriétés de Dyp-type peroxydase.....	17
VI.1.6.2 Le rôle de Dyp-type peroxydase	18
VI.1.7 Di-hème du cytochrome c peroxydase (CE 1.11.1.5).....	18
VI.1.7 Peroxydases animal ou la superfamille de la peroxydase cyclo-oxygénase.....	18
VI.2 Peroxydases non héminique (non hème-peroxydases).....	19
VI.2.1 Peroxyredoxine (CE 1.11.1.15).....	20
VI.2.1.1 Propriétés de peroxyredoxines.....	20
VI.2.1.2 Rôle de peroxyredoxines.....	20
VI.2.2 Halo-peroxydase (CE 1.11.1.B2 et CE 1.11.1.B4).....	20
VI.2.2.1 Halo-peroxydase non métalliques et non héminique.....	20
VI.2.2.2 Halo-peroxydases contenant du vanadium.....	21
VI.2.3 la glutathion peroxydase (EC 1.11.1.9).....	21
VI.2.4 Manganèse catalase (EC 1.11.1.6).....	22
VI.2.5 Alkylhydroperoxidase.....	22
VII -Différents tests d'activités des peroxydases.....	25
VII .1-Test à ABTS (2, 2 azino bis benzo 3 d'éthyle thiazine 6 acide sulfonique).....	25
VII .2 Test utilisant le 2,4-dichlorophenol / 4-aminoantipyrine comme substrats (Emerson, 1943).....	26
VII .3 Test d'activité de la lignine peroxydase en utilisant n-propanol	27
VII .4 L'activité de la peroxydase mesurée en utilisant le 2,4-dichlorophenol (2,4- DCP) (Antonopoulos et al.2001).....	27
VIII. application industrielles des peroxydases.....	28
VIII.1 Dégradation de la plupart des polluants.....	28

VIII.2. La dégradation de la lignine et de la lignocellulose.....	29
VIII.3. La dégradation des colorants (Dyp-type peroxydase).....	30
Conclusion.....	32
Références bibliographique	

Abréviation

°C : degré Celsius	EC : Enzyme de Commission
μmol : micromole	EPO : éosinophile peroxydases.
mmol : milli-mole	FurS : un régulateur de l'absorption de fer.
mM : milli-molaire	HRP : horseradish peroxydase
mg : milligramme	HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques.
nm : nanomètre	HbpS : une enzyme extracellulaire qu'est responsable de la liaison hème.
ε ₅₀₀ : le coefficient d'extinction molaire	HPLC :
A ₅₁₀ : absorbance à 510nm	BMB : l'Union internationale de biochimie et de biologie moléculaire.
ABTS : 2, 2 azino bis benzo 3 d'éthyle thiazine 6 acide sulfonique.	GPO : glutathion peroxydases.
APPL : polymères lignines précipitables à l'acide	Km : la constante de mickalis-menten.
AgpD : alkyhydroperoxydases D	Kat : la famille des catalases.
APx/ AsP : Ascorbates Peroxydases	LiP : la lignine-peroxydase.
BadDH : déshydrogénase	LPO : lactoperoxydases
CcP : cytochrome c peroxydase	MPO : myélo-peroxydases
CMD : carboxy-muconolactone décarboxylases.	MnCat : manganèse catalase
CyOx : cyclo-oxygénase	MnP : manganèse peroxydase
CpeB : enzyme	NC-IUBMB : commission de nomenclature de l'IUBMB.
CaP : Catalase-Peroxydases.	NadOxd : NADPH oxydases.
DiOx : di-oxygénase.	Prx : peroxydase
DiHCcP : Di-hème Cytochrome c Peroxydase.	Pxd : perodains
TPO : thyroïde peroxydases.	ROS : espèces réactives de l'oxygène.
	SRP : petite protéine redox.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	la classification des peroxydases par l'IUBMB.	5
II	le cycle catalytique des peroxydases et leurs rôles dans les bactéries.	23
III	la Spécificité de substrat de peroxydase à partir de <i>B. stearothermophilus</i> .	28

Liste de figure

N°	Titre	Page
01	Classification des peroxydases.	9

Dédicace

*Je dédie mon travail à la mémoire de mon très cher père qui aurait été fière de ma réussite (Allah yarahmou inchalah) Je t'aimerai pour toujours **papa**.*

*A ma très chère mère qui a été toujours à mes côtés pour me soutenir et donner du courage pour terminer mes études. Merci **maman** je t'aime beaucoup.*

*A ma sœur adorer **Naima** qui m'a beaucoup porter de l'aide et qui m'a encourager à tenir le coup.*

*A mon frère **Azzedine** qui m'a beaucoup aidé dans la vie et qui m'a soutenue, sans oublier sa femme **Soraya** et leur adorable filles '**Elina** et **Ania**' que j'aime énormément, c'est les seules qui me permette de se détendre.*

*A mon frère **Abdellah** qui a fait en sorte que je poursuis mes études dans les bonnes conditions, sans oublier mon petit frère **Sofiane** qui me déstresse avec ces blagues et qui donne un charme particulier à ma vie.*

*A tous mes cousins **Yazid, Ismail, Hakim**...ect, et à toutes mes cousines en particulier **Meriem** qui m'a beaucoup aidé (merci **Meriem**).*

*A mon oncle **Rabah** et sa femme **Baya** que j'apprécie beaucoup, et à tous mes oncles et à toutes mes tantes de proche ou de loin.*

*A toute la famille **CHERIFI**, de plus jeune jusqu'au plus vieux.*

*A mes amis **Sofiane, Yacine, et Mohamed-Yacine** que je respecte et que j'admire énormément, sans oublier ma très chère amie **Nadia** que j'aime beaucoup. Merci les amis grâce à vous j'ai passé les meilleures moments de ma vie.*

*A la famille **GUERMOUCHE** que Je ne peux oublier, en particulier mes beau parent, **Nadia, Jamel** et **Nathalie** et tous leurs enfants ainsi que **Nassim** le jumeau de mon mari, sans oublier bien ma belle-sœur adoré **Sabrina**.*

*Le plus grand merci, Dédicace à une personne chère à mon cœur et qui a donné un sens à ma vie, mon mari '**Nordine**' merci beaucoup pour ton soutien chéri.*



Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu, le Généreux qui m'a donné la force afin d'accomplir ce modeste travail

Je tiens à remercier en premier lieu ma promotrice Mme BOUCHERBA Et à lui exprimé ma profonde gratitude pour avoir accepté de m'encadrer et pour sa présence, son aide et sa patience.

J'exprime aussi mes remerciements à tous les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mlle Djinni, qui a bien voulu me faire l'honneur d'examiner ce travail, qu'elle reçoit, ici, l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier spécialement Mr Touati pour son compréhension, et pour son aide et lui exprimé ma profonde gratitude.

MERCI



INTRODUCTION

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui accélèrent les réactions du métabolisme, une seule molécule d'enzyme peut transformer jusqu'à plusieurs millions de molécules de substrat par minute (Kühne et Wilhelm, 1877).

Les enzymes en particulier les hydrolases sont très étudiées et même appliquées à l'échelle industrielle, les xylanases et les cellulases hydrolysent la paroi cellulaire végétale en synergie avec les laccases qui sont des peroxydases, ces dernières sont présentes chez les animaux et les végétaux. La recherche de peroxydases microbiennes est d'actualité. La peroxydase catalyse la décomposition des peroxydes, dérivés toxiques de l'oxygène. Ce qui lui vaut son nom, largement utilisée dans le domaine de la chimie analytique à savoir les secteurs suivants : biologie, pharmacie, médecine, cosmétologie, agroalimentaire et environnement.

Les peroxydases sont très abondantes dans le raifort (*Armonica rusticana*) qui est une plante vivace de la famille des Brassicacées, communément appelé 'radis du cheval' (en anglais horseradish) (Krell, 1991). La PRC (peroxydase du radis du cheval) a été largement étudiée et commercialisée, la faible thermostabilité de l'enzyme (Tams et Weilinder, 1998) ainsi que sa faible activité à des petites concentrations de peroxyde d'hydrogène [(Rodríguez *et al.*, 1997 ; Hiner *et al.* (1996 et 2002))] rend son application difficile à l'échelle industrielle. D'autre part, la culture du raifort est assez exigeante puisqu'elle exige un sol profond et riche en humus, de plus la plante ne pousse que dans des zones bien spécifiques, ce qui engendre des contraintes économiques.

D'autres peroxydases plus stables que la PRC ont été décrites comme celles du soja (McEldon et Dordick, 1996) et de l'orge (Rasmussen *et al.*, 1997), mais n'ont pas fait l'objet de commercialisation, probablement pour leur productivité déficiente.

La difficulté d'une application industrielle des peroxydases végétales a poussé les industriels et les chercheurs à s'orienter vers d'autres sources de peroxydases comme celles produites par les actinomycètes.

Actuellement, la littérature scientifique rapporte relativement peu d'informations sur les applications et le pouvoir redox des peroxydases bactériennes, exception faite pour certaines séquences répertoriées dans les banques de données (Passardi *et al.*, 2007 ; Gumiero *et al.*, 2010).

L'ordre des actinomycétales est connu comme étant producteurs de nombreux métabolites comme les antibiotiques et les antioxydants (industrie pharmaceutique), les enzymes (industrie

de biocatalyse), dans des processus naturels (cycle de carbone) et comme pathogènes (Arenskotter et *al.*, 2004). Le rôle des peroxydases des actinomycètes est encore incompris, c'est pour cette raison que leur application reste au stade de suggestions néanmoins certaines peroxydases ont été bien étudiées ce qui permettrait de les utiliser dans la production d'antibiotique, d'acides organique, dans la synthèse de polymère et dans la dégradation de la lignocellulose (Marilize et *al.*, 2011).

Le laboratoire de microbiologie appliquée travaille sur un projet concernant les métabolites des actinomycètes à savoir les cellulases (Bettache et *al.* (2013, 2014), les xylanases (Boucherba et *al.* (2011, 2014), les antifongiques (Djini et *al.*, 2013 ; Messis et *al.*, 2014) mais le domaine des peroxydases vient juste d'être entamé, c'est pour cette raison que nous avons voulu donner un aperçu général sur les peroxydases via ce modeste document structuré en trente deux pages qui traite des considération générales sur les peroxydases (définition et classification), les propriétés et rôles des peroxydases des actinomycètes, les méthodes de dosages et enfin les applications biotechnologiques.

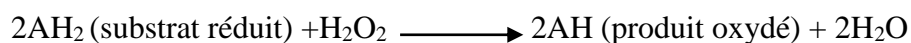
I- APERCUS HISTORIQUE SUR LES PEROXYDASES

Les peroxydases font partie des premières enzymes étudiées lorsque Schonbein, en 1855, observa l'apparition d'une coloration intense en présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de gaiacol et d'extraits animaux ou végétaux. C'est en 1898 que Linossier introduisait le nom de « peroxydase » dont la proposition est la suivante : « je propose, pour éviter toute confusion, de réserver le nom d'oxydase aux corps capables de fixer l'oxygène de l'air sur un corps oxydable et de donner le nom de peroxydase aux corps dont la fonction est de décomposer le peroxyde d'hydrogène ou autres peroxydes analogues et provoquer ainsi des oxydations ». Depuis, des peroxydases du Raifort (*Armoracia rusticana*), ont servi de base à l'étude de ces enzymes chez les plantes, avec notamment la description de la première structure cristalline (Theorell, 1942), la première séquence protéique a été décrite par Welinder (1979) suivi de celle retrouvée dans le tabac (*Nicotiana tabacum*) (Lagrimini et al., 1987).

II-DEFINITION

Les peroxydases (EC : 1.11.1.7) sont des oxydoréductases qui catalysent l'oxydation d'un substrat (donneur de protons) en présence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), elles utilisent ce dernier comme accepteur d'électrons pour catalyser diverses réactions d'oxydation. Le cofacteur qui est l'hème est lié à la peroxydase, l'hème est un complexe entre un ion de fer et des molécules de protoporphyrine. La peroxydase catalyse le transfert d'oxygène de l'eau oxygénée à un substrat approprié et oxyde le substrat. La réaction globale est du type :

Peroxydase



H₂O₂ : peut-être un peroxyde organique pour certaines peroxydases.

Les peroxydases sont des hémoprotéines contenant une fraction glucidique. Leur groupement prosthétique est constitué par la protohématine IX qui est une porphyrine (4 noyaux pyrroles) liée à un atome de fer sous forme ferrique (Medjeldi marzougui, 2012).

Le fer peut contracter deux autres liaisons (6 au total) ; une qui le lie à l'azote d'une histidine au niveau de la partie protéique et une autre liaison qui le lie à l'oxygène, lequel peut faire partie d'une molécule d'eau, d'une molécule d'oxygène, d'un peroxyde, etc (Harazono et al., 1996).

La peroxydase est capable d'oxyder un grand nombre de composés aromatiques de bas poids moléculaires tels que des hydroquinones, des phénols, des flavonoïdes, des dérivés de la benzidine, et des macromolécules de lignine ou des substances humiques (Rajkuman et *al.*, 2013).

En chimie et biochimie, les peroxydases sont utilisées comme objet d'études et réactifs pour des synthèses. La peroxydase de raifort est notamment largement utilisée en biotechnologie comme réactif de détection dans les immuno-essais.

De nombreuses études ont démontré l'importance des peroxydases microbiennes dans la dégradation de composés divers y compris les colorants, les eaux usées de la huilerie, la nitro-aromatique, les dioxines et de nombreux autres composés (Goszezynski et *al.*, 1994).

III-SOURCES ET CLASSIFICATION

III.1 -SOURCES

En réalité il n'existe pas une seule peroxydase, mais plusieurs, ce type d'enzymes existe chez presque tous les êtres vivants : animaux, végétaux et micro-organismes. Elle n'existe pas chez les anaérobies stricts pour lesquels l'oxygène moléculaire est toxique. Plusieurs travaux ont rapporté la purification des Peroxydases à partir de plantes supérieures (Skharoy et *al.*, 2000), d'algues (Sano et *al.*, 2001) et d'animaux (Nagai et *al.*, 2002).

Les peroxydases sont largement présentes chez les bactéries Gram positif et Gram négatif. Les peroxydases chez les bactéries sont des enzymes intracellulaires, elles jouent un rôle très important dans la protection contre le H₂O₂ qui est responsable des dommages cellulaires.

Les peroxydases semblent être impliquées dans des mécanismes de dégradation des colorants azoïques et elles sont sécrétées par les espèces suivantes : *Flavobacterium sp*, *Streptomyces sp* et *Phanerochaete chrysosporium* (Koja et *al.*, 1999).

Les peroxydases ont été isolées et caractérisées chez diverses bactéries comme *Deinococcus radiophilus*, *Escherichia coli*, *Septoria tritici*, *Bacillus stearothermophilus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rhodobacter capsulatus*, *Streptomyces sp*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Synechocystis sp* et *Bacillus sp* (Rajkuman et *al.*, 2013).

III.2-CLASSIFICATION

Il existe plusieurs classifications des peroxydases établies en fonction des caractères étudiés (Dunford, 2000).

III.2.1-LA CLASSIFICATION DE L'UNION INTERNATIONALE DE BIOCHIMIE ET DE BIOLOGIE MOLECULAIRE (IUBMB)

Cette classification est basée sur les mécanismes de réactions et les substrats mis en jeu (elle est disponible sur le site internet de l'IUBMB (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>). Selon Linossier (1898) et les recommandations de la commission de nomenclature de (NC-IUBMB), les peroxydases appartiennent au groupe des oxydoréductases (EC 1) utilisant les peroxydes (EC 1.11) et dont elles sont d'ailleurs les seules représentantes (EC 1.11.1). Elles sont subdivisées en treize groupes (Tableau I). Ce sont des protéines à hème, sauf les NADH et NADPH-péroxydases qui sont des flavoprotéines et les glutathion-péroxydases qui sont des séléno-protéines.

Tableau I: Classification des peroxydases par l'IUBMB
(<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme>)

Noms	Code	Réaction caractéristique
NADH peroxydase	EC 1.11.1.1	$\text{NADH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{NAD} + 2 \text{H}_2\text{O}$
NADPH peroxydase	EC 1.11.1.2	$\text{NADPH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{NADP} + 2 \text{H}_2\text{O}_2$
Acide gras peroxydase	EC 1.11.1.3	$\text{Palmitate} + 2 \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Pentadecanal} + \text{CO}_2 + 3 \text{H}_2\text{O}$
Cytochrome-c peroxydase	EC 1.11.1.5	$2 \text{ferrocyclochrome c} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{ferricycyclochrome c} + 2 \text{H}_2\text{O}$
Catalase	EC 1.11.1.6	$2 \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$
Peroxydase	EC 1.11.1.7	$\text{substrat} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{substrat oxydé} + 2 \text{H}_2\text{O}$
Iodure peroxydase	EC 1.11.1.8	$2 \text{I}^- + 2 \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{I}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$
Glutathion peroxydase	EC 1.11.1.9	$2 \text{glutathion} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{glutathion disulfure} + 2 \text{H}_2\text{O}$

Chlorure peroxydase	EC 1.11.1.10	$2 \text{RH}^+ + 2 \text{Cl}^- + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{RCl} + 2 \text{H}_2\text{O}$
L-ascorbate peroxydase	EC 1.11.1.11	$\text{L-ascorbate} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{deshydroascorbate} + 2 \text{H}_2\text{O}$
Phospholipide- hydroperoxyde glutathion peroxydase	EC 1.11.1.12	$2 \text{ glutathion} + \text{hydroperoxyde lipidique} \longrightarrow \text{glutathion disulfure} + \text{lipide} + 2 \text{H}_2\text{O}_2$
	EC 1.11.1.13	$2 \text{Mn(II)} + 2 \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Mn(III)} + 2 \text{H}_2\text{O}$
Manganèse peroxydase	EC 1.11.1.14	$\text{I,2-bis-(3.4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol} + \text{H}_2\text{O}_2$ $\longrightarrow \text{veratraldehyde} + \text{1-(3.4-dimethylphenyl)ethane-1,2-diol}$ $+ 4 \text{H}_2\text{O}$
Diarylpropane peroxydase		

III.2.2-LA CLASSIFICATION DE WELINDER

La classification repose sur les caractéristiques de la structure primaire des peroxydases à hème ferrique. Elle exclue les NADH et NADPH peroxydases, les glutathion peroxydases, les peroxydases à deux hèmes, dont le cytochrome c peroxydase (CcP) de *Pseudomonas aeruginosa* et les haloperoxydases qui catalysent l'halogénéation de composés organiques. On distingue ainsi trois superfamilles :

- Les peroxydases animales comprenant les peroxydases à halogènes et les prostaglandines synthases
- Les catalases
- Les peroxydases végétales

WeIinder en 1992 a séparé les peroxydases en trois classes :

➤ CLASSE I :

Elle renferme les peroxydases d'origine procaryotique dont la Cytochrome c Peroxydase (CcP) de *Saccharomyces cerevisiae*, les Ascorbates Peroxydases (AsP) et les Catalase-Peroxydases (CaP) bactériennes. Celle-ci sont toutes des peroxydases intracellulaires, non glycosylées, sans calcium ni pont disulfure. La CcP est une protéine

soluble de la chaîne de transport d'électrons de la mitochondrie ou elle doit servir à la détoxification des peroxydes (Yonetani et Ohnishi, 1966).

Les AsP sont les principales enzymes de détoxification de l'H₂O₂ des végétaux supérieurs. Elles ont une très grande spécificité et une grande affinité pour l'ascorbate qui leur sert de réducteur dans la destruction de l'H₂O₂ (Smirnoff, 2000) ; on les trouve dans le cytosol, les chloroplastes, les mitochondries, les peroxyosomes et les glyoxyosomes (Asada, 1999). L'expression des gènes AsP semble directement être contrôlée par l'H₂O₂ (Morita et *al.*, 1999).

Enfin, les CaP bactériennes sont des enzymes bi-fonctionnelles avec à la fois une activité catalase importante et une activité peroxydase moindre, mais conséquente proches des AsP et de la CcP, elles sont issues de la duplication d'un gène ancestral (Zamocky et *al.*, 2000). Elles semblent partager les mêmes fonctions, ce qui pourrait également les impliquer en tant que facteurs de virulence de certaines bactéries (Faguy et Doolittle, 2000).

➤ **CLASSE II**

Elle contient les peroxydases secrétées par les champignons. Leur structure ressemble beaucoup à celle des peroxydases de classe III avec la présence de sites de glycosylation (Kjalke et *al.*, 1992), de ponts disulfures, de deux molécules de calcium (Kunishima et *al.*, 1994) et d'un peptide signal. Ces enzymes impliquées dans la dégradation de la lignine sont présentes chez un grand nombre de champignons notamment les basidiomycètes (Varela et *al.*, 2000). Elles sont en général induites dans des conditions de carence nutritive pour le champignon, même s'il existe de nombreuses exceptions (Cullen, 1997), les peroxydases de la classe II sont organisées en deux types selon Conesa et collaborateurs (2002) :

- La lignine-peroxydase (LiP), qui oxyde un grand nombre de composés aromatiques non phénoliques dérivés de la lignine ; le substrat type des LiP est le vératrol fongique qui interviendrait dans le mécanisme de réaction soit en protégeant l'enzyme contre l'inactivation par l'H₂O₂ (Valli et *al.*, 1990), soit en servant d'intermédiaire d'oxydoréduction entre l'enzyme et les substrats ne pouvant approcher le site actif (Chung et Aust, 1995 ; Khindaria et *al.*, 1996);
- Les peroxydases à manganèse, qui oxydent la lignine et les composés phénoliques qui en dérivent via l'oxydation du Mn²⁺ en Mn³⁺ qui sert d'intermédiaire d'oxydoréduction (Glenn et *al.*, 1986).

➤ **CLASSE III**

Les peroxydases de classe III sont secrétées par les cellules des plantes.

On peut distinguer aussi :

▪ **Les peroxydases à hème :**

1. La famille des cyclo-oxygénases : exemples des ubiquistes prostaglandines H synthases (cyclo-oxygénase, lacto-peroxydases, myélo-peroxydases et d'autres moins ubiquistes : alpha-di-oxygénase, perodains(Pxd)
2. Les peroxydases à 2 hèmes : exemples des cytochromes C peroxydases
3. La famille des catalases
4. La famille des peroxydases DyP-type A/B/C/D : très répandues chez les bactéries et les champignons
5. Les peroxydases de classe I
6. Les peroxydases de classe II.

▪ **Les peroxydases sans hème :**

1. La famille des alkylhydroperoxydases D
2. Les haloperoxydases : exemple la manganèse catalase
3. La glutathione peroxydase : enzyme-clé du métabolisme oxydatif chez tous les animaux et plantes
4. Lesperoxyrédoxines
5. NADPH oxydases : exemple des NADPH oxydases et déshydrogénase.
6. La figure suivante illustre la classification des peroxydases.

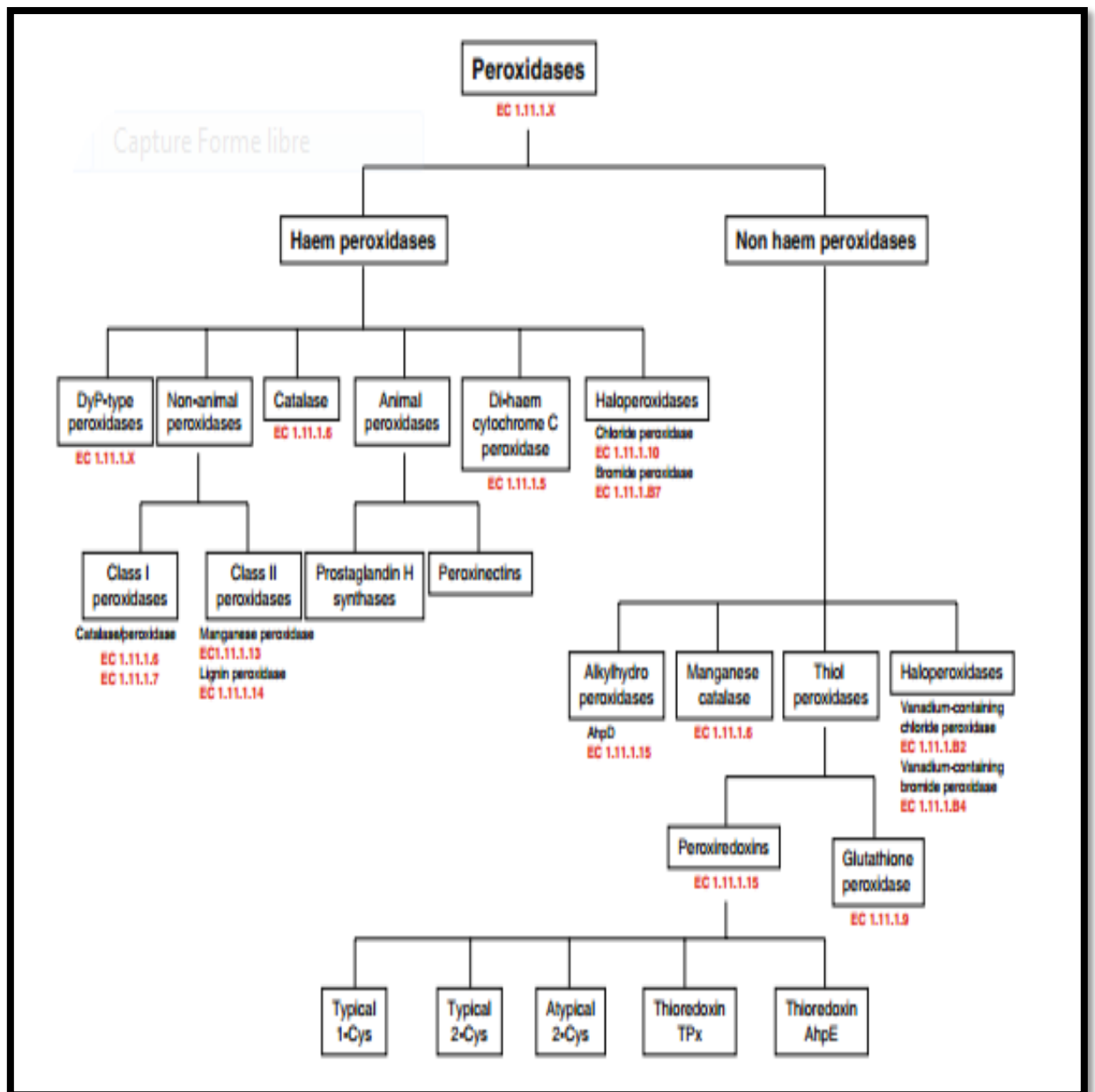


Figure 01 : Classification des peroxydases (Mrlize et al., 2011)

VI. CLASSIFICATION DES PEROXYDASES DES ACTINOMYCETES: PROPRIETES ET FONCTIONS

VI.1 PEROXYDASES HEMIQUES (HEME-PEROXYDASES)

Les Hème-peroxydases contiennent un groupe prosthétique ferriprotoporphyrine IX dans leur site actif où le cinquième ligand de l'atome de fer est spécifiquement lié à l'histidine à l'exception de la chloro-peroxydase produite par la moisissure marine *Calderiomyces fumago*, où la liaison se fait avec la cystéine. L'hème agit comme un réservoir d'électrons et fournit le potentiel permettant une variété de réactions telles que l'oxydation ou la peroxydation.

Les Hème-peroxydases ont une faible homologie de séquence (inférieure à 20%) mais la structure secondaire et le repliement de la protéine est identique. L'hème est localisé dans une crevasse situé entre deux hélices α antiparallèles (Battistuzzi et *al.*, 2010).

Bien que les hème-peroxydases ont des spécificités vis à vis du substrat différentes, elles possèdent le même cycle catalytique (tableau II), elles présentent toutes le déplacement typique de la bande de Soret qui absorbe généralement à 406-409 nm (Zou et *al.*, 1999) .

Sur la base de l'homologie des séquences, les peroxydases à hème sont regroupées en deux superfamilles : la première famille est composée de peroxydases bactériennes, fongiques et végétales, tandis que la seconde comprend les peroxydases retrouvées chez les animaux, les champignons et les bactéries (Passardi et *al.*, 2007). Le premier groupe peut être divisée en classe I (Ascorbate peroxydase, Cytochrome c peroxydase et la Catalase peroxydase), classe II (lignine peroxydase (LiP), la manganèse peroxydase (MnP) et la peroxydase polyvalente), classe III est un groupe de peroxydases d'origine non animale. En plus des deux superfamilles, certaines familles de protéines de faible poids moléculaire sont classé dans le groupe des hèmes peroxydases: la Catalase, la Cytochrome c peroxydase composée de di-hème, la DyP-type peroxydase, l'halo-peroxydase et la NADH peroxydase (Passardi et *al.*, 2007).

VI.1.1 LIGNINE-PEROXYDASE (EC 1.11.1.14)

La lignine peroxydase sont parmi les différentes enzymes impliquées dans la déminéralisation de la lignine et catalysent la première étape de la dégradation de la lignine. Lorsque le milieu de culture est pauvre en nutriments, la LiP est sécrétée avec l' H_2O_2 pour catalyser la dépolymérisation de la lignine. Il a été rapporté que les hydrolyses enzymatiques de la lignine se font d'abord par une liaison à la paroi végétale. À ce jour, ce groupe de peroxydases ne contient formellement que les lignines peroxydases fongiques extracellulaires, mais il ya eu plusieurs rapports sur la détection de lignine peroxydases dans actinobactéries (Morgenstern et *al.*, 2008).

La plupart des actinobactéries productrices de peroxydases extracellulaires appartiennent à la famille des *Streptomycetaceae*, et les peroxydases produites ont été détectées en présence de phénol et / ou la lignine. Les travaux de Crawford (1978) montrent que les *streptomycètes* peuvent décomposer complètement la lignine en CO_2 .

VI.1.1.1 PROPRIETES DE LA LIGNINE PEROXYDASE

L'Oxydation initiale de la lignine par les actinomycètes implique un mécanisme où la peroxydase joue un rôle dans la transformation de la lignine en l'eau en générant des produits polymères solubles appelés polymères précipitables à l'acide PPA (Ramachandra et *al.*, 1988 ; Pasti et *al.*, 1990). En plus des PPA, plusieurs composés phénoliques monocycliques sont libérés lors de la dégradation de la lignine par les *streptomycètes* (Crawford et *al.*, 1993). Il est suggéré que les actinobactéries clivent initialement la liaison C_α-C_β et les liaisons éther 4-O-β, ce qui augmente la teneur en C_α- carbonyle (Crawford et *al.*, 1983 ; McCarthy et *al.*, 1987). Des études sur la croissance d'actinobactéries sur la paille de blé ont montré que la quantité des PPA diminue avec le temps.

La lignine-peroxydase produite par *S. viridosporus* T7A est une enzyme extracellulaire contenant un hème, dont quatre isoenzymes ont été identifiés avec l'ALiP-P3 comme la protéine hémique la plus dominante (Ramachandra et *al.*, 1988 ; Bon et *al.*, 1999). Cette dernière a une homologie immunologique avec la peroxydase de *Streptomyces chromofuscus* A11, mais elle est différente de la peroxydase du raifort et de la lignine-peroxydase de la moisissure *Phanerochaete chrysosporium* (Burke et *al.*, 1998). *Thermomonospora mesophila* comporte un mécanisme de dégradation de la lignine similaire à ALiP-P3 (McCarthy et *al.*, 1986) et Adhi et *al.* (1989) ont constaté que *Streptomyces badius* produit une LiP similaire à Alip-P3, mais avec une activité de peroxydasique supérieur. La lignine peroxydase de *Streptomyces viridosporus* T7A avait spécificité de substrat similaire à celle des manganèses peroxydases fongiques plutôt que la lignine peroxydase, mais elle n'a pas besoin de manganèse exogène (Spiker et *al.*, 1992). La séquence N-terminale de cette protéine partage un pourcentage de 81% d'identité avec les acides aminés 66 à 76 du manganèse peroxydase d'ascomycète, *Arthromyces ramosus* (Spiker et *al.*, 1992). Analyse HPLC et d'inhibition études ont confirmé ALiP-P3 en tant que protéine hémique (Ramachandra et *al.*, 1988).

20 souches ont été sélectionnées pour leur capacité de produire des enzymes dégradant la lignine, mais seulement six isolats ont montrés leurs capacité de produire la lignine peroxydase par le test de 2,4-dichlorophenol, une souche de *Streptomyces psammoticus*, a été signalé par sa capacité de produire les trois des principales enzymes responsables de la

dégradation de la lignine (lignine peroxydase, le manganèse peroxydase et laccase) selon Niladevi et Prema (2005).

Plusieurs peroxydases de lignine ont été trouvés dans les séquences génomiques de différentes espèces de *Mycobacterium*, mais aucune n'a été caractérisés, leur rôle potentiel serait n'est pas claire.

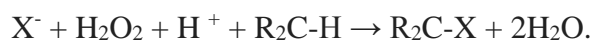
VI.1.2 MANGANESE PEROXYDASE (EC : 1.11.1.13)

MnP sont classés dans la classe II des peroxydases non-animales, et à ce jour, toutes les manganèses peroxydases connu sont produites par des champignons. Ils sont parmi les enzymes clés produites par les champignons de la pourriture blanche pendant la minéralisation de la lignine (Hofrichter, 2002). Ces glycoprotéines contenant un hème sont souvent présentes dans des iso-enzymes multiples. Par exemple, les 11 dernières du manganèse peroxydase ont été isolées à partir de *Ceriporiopsis subvermispota* (Hofrichter, 2002). Leur cycle catalytique ressemble à celle des autres hème-peroxydases, mais ils utilisent Mn^{2+} comme leurs donneur d'électrons préféré. La formation de Mn^{3+} dans les résultats de l'oxydation de divers composés phénoliques en raison du potentiel oxydatif de Mn^{3+} . Ce processus d'oxydation est également dépendant de la présence d'acides organiques (Kuan et al., 1993).

Niladevi et Prema ont utilisé un dosage plus précis et ils ont montré une activité dans MnP de *S. psammoticus*. D'autres études sont en cours pour déterminer les propriétés de cet enzyme.

VI.1.3 HALO-PEROXYDASE (CE 1.11.1.10 et CE 1.11.1.B7)

Halo-peroxydases oxydent les ions halogène (X^-) en présence de H_2O_2 résultant d'une réaction électrophile avec des substrats organiques :



Chloro-peroxidases contenant l'hème se trouvent dans des divers environnements et la structure de la chloro-peroxydase du champignon marine, *C. fumago*, a été bien étudiée (Hofmann et al., 1998).

VI.1.3.1 PROPRIETES DE HALO-PEROXYDASE

Marshall et Wright (1996) ont décrit un chloro-peroxydase contenant l'hème (CE 1.11.1.10) à partir de *Streptomyces toyocaensis* NRRL 15009, ainsi qu'un hème-bromo-peroxydase catalase (EC1.11.1.B7). La séquence N-terminale de cette protéine a montré

100% d'identité avec une catalase non publié putatif / bromoperoxydase d'un producteur de chloramphenicol, *Streptococcus venezuelae myces*. Knoch et al en 1989 ont décrit cette catalase-bromo-peroxydase de *S. venezuelae*, en détectant le bromo-activité (1,8 U / mg de protéine) et l'activité de la catalase (963 U / mg de protéine) et ils ont suggéré que cette enzyme peut être impliqué dans la chloration du chloramphenicol. Cependant, l'étude de Facey et al (1996). ont suggéré que son rôle clé dans serait une catalase.

Van Pée et Lingens (1985) ont décrit les propriétés catalytiques d'un catalase-bromo-peroxydase produite par *Streptomyces phaeochromogenes*. L'enzyme est très similaire à bromo-peroxydases et chloro-peroxydases des algues. L'activité de bromation a été difficile à détecter dans les extraits bruts puisque la fonction catalase efficacement éliminé tout H₂O₂ ajouté au système, mais après purification, l'enzyme catalyse la formation de liaisons carbone-bromure.

VI.1.3.2 ROLE DE HALO-PEROXYDASE

Certains halo-peroxydases ont été détectés dans actinobactéries, mais le rôle de cette enzyme dans la nature est encore indéterminé.

VI.1.4 CATALASE (EC 1.11.1.6)

La Catalases, également appelés hydro-peroxydases, sont classées dans la superfamille catalase et elles sont l'une des classes les plus étudiés d'enzyme (Chelikani et al., 2004).

VI.1.4.1 PROPRIETES DES CATALASES

Le dosage de la catalase est basé sur la décomposition catalytique de peroxyde d'hydrogène et définit typiquement une activité de catalase :



L'activité catalase est identifiée dans trois types de protéines de structure et séquences primaire différentes: catalases monofonctionnelles (catalase classique contenant hème), catalase-peroxydases (protéine hémique) et les catalases manganèse (protéines non hémique). En fonction de la taille de leurs sous-unités on trouve des longues (>75 kDa) ou des petites (< 60 kDa). De plus, ces enzymes ont les mêmes propriétés quel que soit la source d'isolement (Chelikani et al., 2004). Notamment, elles contiennent quatre sous-unités similaires allant de 2,5 à 4 de groupement prostatique hémique par tétramère, allant de 225-270 kDa de taille et leurs pH optimal est entre 5 et 10. Cependant, les catalases sont résistantes

aux traitements avec de l'éthanol ou le chloroforme, et sont inhibées par le 3-amino-1,2, 4-triazol (Kim et *al.*, 1994).

Les catalases des actinobactéries sont peu décrites la plus utilisée est celle produite par *Streptomyces coelicolor* ATCC 10147 (Kim et *al.*, 1994, Walker et *al.*, 1995). Ils ont montré que, lors de l'exposition de *S. coelicolor* ATCC 10147 à différentes concentrations de H₂O₂, l'activité catalase est surrégulée et la souche est devenue résistante à l'effet toxique de H₂O₂. La même réponse a été observée dans *Streptomyces sp* souche M3004 après exposition à H₂O₂ et le paraquat (Işik et *al.*, 2007). D'autres études sur la fonction de la catalase de *S. coelicolor* ATCC 10147 ont montré qu'elle a d'autres activités catalytiques et aucune activité peroxydase (Kim et *al.*, 1994, Walker et *al.*, 1995).

VI.1.3.2 ROLE DES CATALASES

La production des catalases par les bactéries est souvent dû à une réponse au stress oxydatif due à la présence d'H₂O₂ ou d'autres dérivés réactifs d'oxygène (DRO) qui sont générés par l'environnement naturel ou produits par les hôtes qu'elles infectent. La fonction principale de la catalase est la protection des bactéries d'un niveau élevé d'H₂O₂. Tavares et *al.*, 2003 ont décrit une catalase produite par *Frankia sp.* souche R43, qui est impliquée dans la formation de nodules fixateurs d'azote dans les racines des espèces de plantes dicotylédones. Pour la survie de la souche, elle nécessite un système de défense efficace contre le DRO produit par la plante hôte pendant l'infection. En plus d'une catalase cytoplasmique (intracellulaire), la souche produit également une catalase-peroxydase pour se protéger des fortes concentrations en H₂O₂. D'autres études ont aussi montré une production des catalases par d'autres espèces de *Frankia spp* (Steele et *al.*, 1986, Alskog et *al.*, 1997).

Vera-Cabrera et *al.*, (1999) ont étudié la distribution des fragments du gène codant pour la catalase de l'espèce *Nocardia brasiliensis* dans différentes espèces d'actinomycètes. Cette bactérie est connue pour sa pathogénicité qui provoque le mycétome, une maladie sous-cutanée. Les patients infectés par ce micro-organisme ont des anticorps dans le sérum qui est dû à une réaction croisée avec la catalase P61, produite par *N. brasiliensis*. Une séquence de gène similaire est identifiée dans différents genres tels que : *Nocardia*, *Gordonia*, *Rhodococcus* et *Streptomyces*. Aucune activité de la peroxydase n'a été détectée, ce qui indique que l'enzyme est une catalase classique monofonctionnelle. Wu et *al.* (2005) ont également signalé la présence et le rôle d'une catalase (KatG) dans le pathogène opportuniste, *Nocardia farcinica*. Cette enzyme, ainsi que la superoxyde dismutase, alkyl-hydro-peroxyde

réductase, la glutathion peroxydase, la méthionine sulfoxyde réductase, la thiorédoxine et la thiorédoxine réductase sont exprimées en réponse à la production de DRO par les phagocytes de l'hôte, ce qui indique l'importance de ces enzymes dans la survie de *N. farcinica* au sein de hôte.

VI.1. 5 LA CATALASE - PEROXYDASE (EC 1.11.1.6 et EC 1.11.1.7)

Les catalase peroxydases sont classés dans les peroxydases non-animales, de la classe I. Elles ont la possibilité de supprimer H₂O₂ d'une façon catalytique et peroxydasique (Passardi et *al.*, 2007) :



Il est proposé que cette enzyme a évolué par la fusion d'un gène de peroxydase primordial avec un gène de la catalase (Passardi et *al.*, 2007). Dans les conditions faible de H₂O₂ et la présence d'un substrat approprié, l'activité peroxydasique est l'activité la plus dominante et vice-versa (Passardi et *al.*, 2007). Le substrat naturel de la fonction de la peroxydase est inconnu, mais on suppose que l'enzyme agit principalement comme la catalase donc les substrats pour cette peroxydase ne sont pas généralement trouvés dans le cytoplasme (Youn et *al.*, 1995) Bien que la catalase monofonctionnel soit répandu dans la nature, les catalase-peroxydases semblent être limités à des bactéries et des champignons (Hahn et *al.*, 2000).

VI.1.5.1 PROPRIETES DE LA CATALASE-PEROXYDASE

Les propriétés de ces enzymes bi-fonctionnelles diffèrent de celles des catalases classique dans un certain nombre de façons : Leur activité catalytique dépend du pH dont leurs pH optimum est de 6 à 6,5, ces enzymes sont plus sensibles à la température, à l'éthanol / chloroforme et à H₂O₂ que les autres catalases typiques. De plus ils sont insensibles à la 3-amino-1, 2,4-triazole, mais sont réduits par le dithionite qu'est l'une des caractéristique des peroxydases (Kim et *al.*, 1994 et Youn et *al.*, 1995). Les catalases-peroxydases microbiennes sont généralement des dimère ou tétramère avec 0,5 à 1 molécules du proto-hème IX par sous-unité et elles présentent la caractéristique de déplacement de la bande de Soret quand elles sont réduite (Zou et *al.*, 1999).

Une catalase-peroxydase hémique de *Streptomyces cyaneus* est isolé et caractérisé au cours d'une étude de la distribution des peroxydases des actinobacteries (Mliki et *al.*, 1992).

Une étude a montré qu'une catalase-peroxydase isolée à partir d'une *Streptomyces reticuli* (CpeB) a une large spécificité de substrat : Elle est capable d'oxyder l'ascorbate, et le gaïacol ainsi que l'alcool vératrylique (Zou et al., 1999). Les catalase-peroxydases les plus connues à l'exception de la KatP d'*Escherichia coli* sont cytoplasmiques. La CpeB est de 160 kDa, elle partage une haute identité de séquence d'acides aminés avec la KatG de *Caulobacter crescentus*, *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium smegmatis*, ainsi qu'avec la catalase-peroxydase (KatP) de *E. coli* et de *Pera fulgidis* *Archaeoglobus* et *Bacillus stearothermophilus*. Les auteurs ont également noté la possibilité d'expression du gène de la catalase-peroxydase qui peut être régulé par des FurS qui est un régulateur de l'absorption de fer. Hahn et al en 2000 ont montré que l'expression des catalase-peroxydases est sous la régulation de FurS et que les gènes codant pour la *fur* et la catalase-peroxydase sont sur le même opéron.

Hahn et al en 2000 ont rapporté deux isoenzymes de la catalase-peroxydase produite par *Streptomyces coelicolor* pendant la formation de mycélium aérien. Cette production transitoire de catalase-peroxydase se produit également dans d'autres streptomycètes. Par exemple, dans *Streptomyces seoulensis*, deux isoenzymes sont présents dans le mycélium du substrat, et un troisième est présent dans mycéliums aériens et sporulés. Lucana et al en 2004 ont montré que l'expression de la catalase-peroxydase de *S. reticuli* est sous le contrôle d'un système de régulation à deux composants, Sen S (capteur histidine kinase) et Sens R (régulateur de réponse), qui régule négativement la catalase-peroxydase et l'expression de la FurS ainsi que l'expression de la HbpS qui est une enzyme extracellulaire responsable de la liaison de hémique.

Divers catalase-peroxydases mycobactériennes (katG) ont été décrites : Menéndez et al en 1997 ont décrit deux catalase-peroxydases (KatG I et KatG II) produites par *Mycobacterium fortuitum*, Rafii et ses collaborateurs en 1999 ont isolé et purifié la catalase-peroxydase d'un *Mycobacterium sp* non-pathogène à croissance rapide. Ro et ses collaborateurs en 2003 ont purifié une catalase peroxydase de *Mycobacterium sp*. lorsqu'elles sont cultivées en présence de monoxyde de carbone et du méthanol comme source de carbone et d'énergie la souche DSM 3803 JC1 a été la souche la plus productrice d'enzyme. Les KatGs ont une forte homologie de séquence à d'autres peroxydases, y compris le cytochrome c fongiques peroxydase, les peroxydases procaryotique, et l'ascorbate peroxydase végétale mais elles montrent très peu d'homologie de séquence avec les catalases monofonctionnels (Ghilad et al., 2005).

VI.1.5.2 ROLE DE LA CATALASE-PEROXYDASE

Le rôle de la catalase-peroxydases des actinobactéries ressemble à celle de la catalase classique, c'est à dire l'enlèvement immédiat de H₂O₂ produit à l'intérieur de leur environnement. Tavares et *al* en 2003 ont identifié une catalase-peroxydase isolée de *Frankia* *sp.* (souche R43) mais ils n'ont pas prouvé que cette enzyme produite par la plante hôte infecté par cette souche joue un rôle dans les traitements du stress oxydatif ce qui a poussé à l'étude du rôle de la catalase-peroxydase dans la survie de l'hôte dans le genre appartenant au *Mycobacterium* (le genre le plus étudié). Ces catalase-peroxydases sont regroupés avec les T-catalases thermolabiles de *mycobactéries*, contrairement aux catalases classiques qui sont regroupés dans les M-catalases thermostables (Wayne et *al.*, 1982 ; Rafii et *al.*, 1999).

Dans les mycobactéries, les catalase-peroxydases offrent une protection contre les DRO produites par les macrophages lors d'infection de leurs hôtes humains. La catalase-peroxydase réduit les niveaux de DRO et inhibe la production d'oxyde nitrique qui est aussi parfois aussi appelée peroxy-nitritase. Les catalase-peroxydases produites par des *mycobactéries* sont responsables de l'activation de l'isoniazide, un antibiotique de première intention c'est des anti-mycobactérienne, à une forme oxydée toxique qui inhibe la production de l'acide mycolique dans le pathogène, conduisant à la mort de la mycobactérie (Martilla et *al.*, 1996 ; Menéndez et *al.*, 1997 ; Ro et *al.*, 2003 ; Kapetanaki et *al.*, 2005 ; Böttger et *al.*, 2008).

VI.1.6 DYP-TYPE PEROXYDASE (CE 1.11.1.X)

Les DyP-type peroxydases n'ont pas été alloué à une numérotation spécifique des enzymes, mais sont considérés comme appartenant au groupe général, CE 1.11.1.X. Récemment ce groupe de peroxydases colorant décolorant est proposée comme un nouveau groupe de peroxydases. Elles montrent un degré élevé de spécificité vis à vis la dégradation des colorants anthraquinoniques et les colorants azoïques mais elles sont capables d'oxyder seulement les composés phénoliques et non pas les composés non phénoliques (Kim et *al.*, 1999 ; Sugano et *al.*, 2005). La première DyP-type peroxydase était isolé à partir d'un basidiomycète appeler *Thanatephorus cucumeris*, ces peroxydases ne sont pas considérés comme des superfamilles de peroxydase végétale ou animale (Sugano et *al.*, 2005 ; Shimokawa et *al.*, 2005).

VI.1.6.1 PROPRIETES DE DYP-TYPE PEROXYDASE

Les DyP-type peroxydases sont des glycoprotéines (17 % saccharides) avec des différentes structures primaires et tertiaires par rapport aux autres peroxydases, elles ont des réactions caractéristiques uniques (Sugano et *al.*, 2005 ; Shimokawa et *al.*, 2005). Les enzymes présentent la bande Soret classique à 406 nm, la forme réduite montre un pic à 556 nm indiquant ainsi la présence d'un groupement prosthétique proto-hème (Kim et *al.*, 1999 ; Sugano et *al.*, 2005). La structure tertiaire de DyP-type peroxydases diffère des autres peroxydases hémiques, dont on peut citer le site de liaison de H₂O₂ qui contient un acide aspartique au lieu de l'histidine. De plus, leur site de liaison ressemble beaucoup plus à celui de la chloro-peroxydases (qui contient de l'acide glutamique). Les DyP-type Peroxydases ont également une activité hydrolase qui intervient dans la dégradation des xénobiotiques.

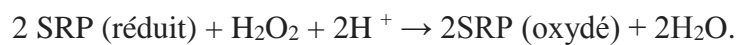
VI.1.6.2 LE ROLE DE DYP-TYPE PEROXYDASE

Le rôle naturel de DyP-type peroxydases est encore inconnu (Sugano et *al.*, 2005 ; Shimokawa et *al.*, 2005). Une recherche dans la base de données InterPro a montré qu'il y a une grande abondance du gène codant pour cette enzyme (dans différents génomes bactériens) Bloois Van Bloois et ces collaborateurs en 2010 ont donc recommandé que les DyP-type peroxydases devraient être regroupés dans une superfamille de peroxydase bactérienne similaire aux superfamilles végétales et animales. De plus PeroxiBase (PeroxiBase. 2010) a regroupées les DyP-type peroxydases en trois groupes : A c'est ceux qui contiennent une séquence Tat-signal pour le transport à travers la membrane cytoplasmique, et les groupes B et C qui sont des enzymes cytosoliques avec un rôle potentiel dans le métabolisme intracellulaire (Van et *al.*, 2010).

Récemment, Van Bloois et *al.*, en 2010 ont décrit une DyP-type peroxydase produit par *Thermobifida fusca*. Cette peroxydase est similaire à la peroxydase végétale dans sa capacité d'oxyder les sulfures aromatiques mais avec un faible rendement, une réaction n'est pas généralement catalysée par d'autres DyP-types peroxydases. La nouvelle DyP-type peroxydase de *T. fusca* est dans le groupe A, elle est facilement exprimé dans *E. coli*, elle est robuste et capable d'oxyde une gamme de substrats, ce qui en fait une alternative prometteuse bien établies aux peroxydases telles que les peroxydases de « radis de cheval" (Van Bloois et *al.*, en 2010).

VI.1.7 DI-HEME DU CYTOCHROME C PEROXYDASE (CE 1.11.1.5)

Ces enzymes se trouvent dans le périplasme de différentes bactéries, elles sont rapportées comme étant omniprésentes dans les séquences du génome (Pettigrew et *al.*, 2006). Leur rôle reste pas clair ; elles sont utilisées pour retirer H₂O₂ généré dans des conditions d'hypoxie (manque d'oxygène), mais ce qu'est toujours en question c'est ace que l'enzyme peut rivaliser la terminale oxydase pour les électrons disponibles (Pettigrew et *al.*, 2006). Elles partagent le degré d'identité de 40 à 50%, et leur fonction est la réduction de H₂O₂ en H₂O par deux électrons délivrés séparément à partir d'une petite protéine redox (SRP) :



Leur cycle catalytique est donc très différent des autres peroxydases (voir le tableau II).

PeroxiBase (PeroxiBase 2010) indique la présence d'un di-hème cytochrome c peroxydase isolé à partir d'une actinomycète *Symbiobacterium thermophilum*, mais il ne contient pas les séquence détecter lors de l'extraction du génome. L'étude de Niebisch et Bott (2001) ont suggéré qu'un di-hème cytochrome c peroxydase fait partie de la chaîne respiratoire de la bactérie du sol *Corynebacterium glutamicum* dans le complexe cytochrome bc1, mais pour la confirmation d'autre études sont nécessaires.

VI.1.7 PEROXYDASES ANIMAL OU LA SUPERFAMILLE DE LA PEROXYDASE CYCLO-OXYGENASE

Ces peroxydases ne sont pas seulement détectées dans les cellules animales, mais aussi trouver chez les bactéries même s'il n'ya pas de véritable explication des raisons de leurs présence, certaines peroxydases animales sont isolé à partir des séquences génomiques des actinomycètes. Il est possible que la présence des séquences de peroxydase animales peut être attribué à l'évolution divergente de transfert horizontal de gène ou aux erreurs commises dans l'interprétation des données sur le génome (Zámocký et *al.*, 2010).

La prostaglandine H synthase (EC 1.14.99.1) est connu pour présenter à la fois l'activité de la cyclooxygénase et de la peroxydase. Dans les cellules d'organes des mammifères, elle joue un rôle clé dans la production de prostaglandines, prostacyclines et des thromboxanes, avec l'utilisation des acides gras polyinsaturés comme substrat (Ilyina et *al.*, 2008).

Les séquences de la Prostaglandine H synthase (cyclo-oxygénase) sont détectées dans les séquences du génome de *Frankia sp.*, *M. smegmatis*, *Mycobacterium vanbaalenii* et de *Streptomyces avermitilis* (PeroxiBase. 2010).

En outre, l'extraction du génome a détecté une séquence ovo-peroxydase dans le génome de *Frankia sp.* Cette enzyme joue un rôle clé dans la mobilisation di-tyrosine des liens croisés entre les polypeptides (H_2O_2 dépendant) lors de la formation d'enveloppe des œufs de fertilisation sur la fécondation chez les mammifères, amphibiens, insectes, mollusques et crustacés (LaFleur et al., 1998). L'analyse phylogénétique effectuée par La Fleur et al. ont montré que ovo-peroxydases partagent une identité de séquence avec d'autres hème-peroxydases dépendantes telles que la peroxydase de raifort, cytochrome c peroxydase de levure et la catalase péroxysomale humain (LaFleur et al., 1998).

VI.2 PEROXYDASES NON HEMINIQUE (NON HEME-PEROXYDASES)

Les peroxydases non héminique se composent de quatre principales familles de protéines : alkyl-hydro-peroxydases haloper-oxydases, la manganèse catalases et les peroxydases thiol, ces derniers sont regroupés en glutathion peroxydases et peroxyrédoxines (Passardi et al., 2007).

Le site actif de ces peroxydases est soit associé à une manganèse, soit à un vanadium, soit il n'est pas associé du tout à un métal.

VI.2.1 PEROXYREDOXINE (CE 1.11.1.15)

Les Peroxyrédoxines sont des peroxydasesthiols ou des antioxydants thiol-spécifique qui sont impliquées dans la dégradation enzymatique de H_2O_2 en eau, les hydro-peroxydes organiques en alcool correspondant et le peroxynitrite en nitrite (Immenschuh et al., 2005 ; Dayer et al., 2008).

VI.2.1.1 PROPRIETES DE PEROXYREDOXINES

Peroxyrédoxines sont classés en trois sous-classes principales : peroxyrédoxine typique 2-cystéine (Prx I-IV), peroxyrédoxine atypique 2-cystéine (Prx V) et la peroxyrédoxine 1-cystéine (Prx VI), c'est par rapport au nombre et à la position des résidus de cystéine impliqués dans la réaction catalytique par la formation de liaisons disulfure (Rhee et al., 2005 ; Barranco-Medina et al., 2009) (Tableau II). L'activité redox est dépendante de la conservation d'une cystéine au N terminal qui est analogue de la séléno-cystéine de site actif trouvé dans glutathion peroxydases (Schröder et al., 1998).

VI.2.1.2 ROLE DE PEROXYREDOXINES

Peroxyrédoxines se trouvent chez les micro-organismes, les plantes et les mammifères, en combinaison avec les glutathion peroxydases et les catalases elles jouent un rôle clé dans la protection contre DRO et dans l'élimination des réactives d'azote (Schröder et *al.*, 2005 ; Dayer et *al.*, 2008). Les peroxyrédoxines de même que les catalases et les catalase peroxydases jouent un rôle dans la survie des bactéries pathogènes à l'intérieur de leurs hôtes. Chez les mycobactéries, la thiorédoxine peroxydase est essentielle pour la survie de ces dernières dans les phagocytes des hôtes humains (Trujillo et *al.*, 2006). Cette enzyme joue un rôle important dans l'industrie pharmaceutique puisque elle contient un gène à effet thérapeutique (AhpC). Sherman et ces collaborateurs en 1999 ont rapporté un lien entre AhpC chez *M. tuberculosis* et la pharmaco-résistance où l'expression d'AhpC est suggérée à être impliquée dans la résistance à l'isoniazide. Wu et ces collaborateurs en 2005 ont identifié la clé antioxydant de système de défense chez *Nocardia farcinica* qui se compose de : AhpC, KatG (catalase), la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la thiorédoxine. Ceci est similaire à d'autres mécanismes de bactéries qui permettent par exemple la croissance aérobie de *Staphylococcus aureus* qui sont impliqués dans la résistance au stress oxydatif, la chaleur, le sel ou le stress de l'éthanol de *Bacillus subtilis* (Wu et *al.* ; 2005).

VI.2.2 HALO-PEROXYDASE (CE 1.11.1.B2 ET CE 1.11.1.B4)

Ce groupe de peroxydases inclut les halo-peroxydases non métalliques et non hémique, les chloro-peroxydases contenant du vanadium.

VI.2.2.1 HALO-PEROXYDASE NON METALLIQUES ET NON HÉMIQUE

Les halo-peroxydases non hémique halogéner ont de divers substrats en présence d'halogènes et H₂O₂; elles diffèrent des caractéristiques des halo-peroxydases de type hémique et forment une famille distincte (Pelletier et *al.*, 1995). Une estérase isolé à partir d'une *Pseudomonas fluorescens* partage une similarité de 40 à 50% de séquence d'acides aminés avec les halo-peroxydases non hémique, elle a la capacité de catalyser une réaction de bromation. Les Bromoperoxydases sont également capables de catalyser une hydrolyse ester, c'est cette bi-fonctionnalité qui a conduit à une analyse détaillée sur la relation structurelle et fonctionnelle des estérases et des halo-peroxydases non-hémique : une comparaison de sérine-hydrolases à

une halo-peroxydase a montré la conservation de α / β -hydrolase dans les deux groupes et une triade catalytique de Ser-His Asp (Pelletier et *al.*, 1995 ; Hofmann et *al.*, 1998). La présence d'une courte chaîne d'acides aliphatique Comme avec les lipases et les estérases est nécessaire pour que la réaction puisse se produire, il est proposé que les peroxyacides soient impliqués comme intermédiaires de réaction (Hofmann et *al.*, 1998). Ce groupe de halo-peroxydases est donc reclassés en α / β -hydrolases (De Mot et *al.*, 2003). Bien que la chloro-peroxydase non hémique isolé de *S. coelicolor* soit connue pour être liée à l'activité de protéosomes dans l'organisme (De Mot et *al.*, 2007), la fonction générale de halo-peroxydases des bactéries dans la nature reste encore inconnue.

VI.2.2.2 HALO-PEROXYDASES CONTENANT DU VANADIUM

Les halo-peroxydases contenant du vanadium ont été détectés principalement dans les algues marines. La solution acide de cis-dioxy vanadium (V) catalyse l'oxydation d'halogènes de H_2O_2 résultant d'halogénéation de substrats organiques et la dismutation assistée aux halogènes de H_2O_2 (Butler et *al.*, 1998). Les bromo-peroxydases vanadium sont recherchés dans l'industrie en raison de leur capacité à introduire des groupes de brome dans des composés aromatiques qui ont souvent des propriétés antibactériennes ou anticancéreuse (Littlechild et *al.*, 2009). Littlechild et ces collaborateurs en 2009 ont définitivement montré que cette enzyme est responsable de la bromation de composés organiques. Les bromo-peroxydases de vanadium se trouvent dans le milieu marin (algues marines), tandis que chloro-peroxydases vanadium n'ont pas été identifiés dans les champignons terrestres et deux mécanismes détaillés de réaction de *Streptomyces* sont décrits par Neumann et ces collaborateurs en 2008. C'est le premier rapport d'une chloro-peroxydase de vanadium des bactéries, elle est placée dans le contexte d'un groupe de gènes de biosynthèse dédié : napyradiomycin biosynthèse de *Streptomyces aculeolatus* NRRL 18422 et *Streptomyces sp.* CNQ-525 (Neumann et *al.*, 2008).

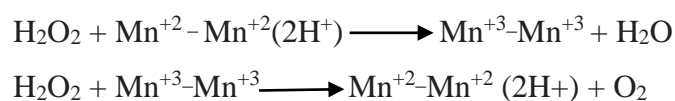
VI.2.3 LA GLUTATHION PEROXYDASE (EC 1.11.1.9)

L'activité de glutathion peroxydase est similaire à celle des peroxyrédoxines, mais diffère au niveau de séquence (Dayer et *al.*, 2008). La Glutathion peroxydase réduit respectivement le H_2O_2 en l'eau ou en alcool ou hydroperoxyde organiques utilisant la glutathion réduite correspondante (Herbette et *al.*, 2007). Chez les mammifères, cette enzyme joue un rôle clé dans la protection contre les érythrocytes DRO et veille à leur recyclage. Leur activité est

dépendante de la présence d'un séléno-cystéine hautement conservée dans le site actif (Herbette et *al.*, 2007). La production de glutathion chez les procaryotes est principalement limitée aux cyanobactéries et les bactéries pourpres ; mycothiol est le principal thiol produit dans actinobactéries (Wu et *al.*, 2005). La détection d'une glutathion peroxydase putatif à l'intérieur de la séquence du génome de *N. farcinica* n'est pas nécessairement une indication de la production de glutathion, cette enzyme peut être produite à des niveaux élevés de conversion de glutathion produit par l'hôte infecté (Wu et *al.*, 2005). Ce qu'est intéressant, c'est les 26 génomes d'actinobactéries disponibles qui y ont la séquence putative pour la glutathion peroxydase qui veut dire que cette dernière peut être plus répandue dans actinobactéries qu'on ne le pensait.

VI.2.4 MANGANESE CATALASE (EC 1.11.1.6)

Catalases manganèse sont souvent dénommé pseudo-catalases parce qu'elles n'ont pas de protoporphyrine hémique présentes à leur cœur catalytique, mais à la place elles présentent deux ions manganèse (Chelikani et *al.*, 2004). Elles catalysent la réaction suivante :



La MnCatn'est pas aussi répandu dans la nature que les catalases hémique, elle se trouve principalement chez les bactéries (Chelikani et *al.*, 2004). La peroxydase de manganèse signalé pour *S. reticuli* peut être une MnCat (Lucana et *al.*, 1998 et 2004).

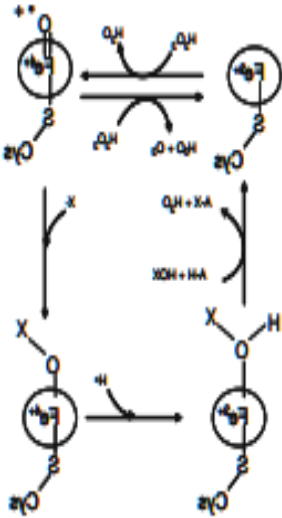
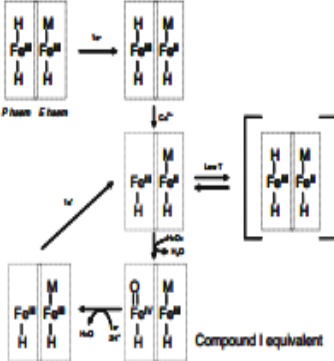
VI.2.5 ALKYLHYDROPEROXIDASE

Les membres de cette superfamille sont souvent désignés comme carboxy-muconolactone décarboxylases (CMD), elles sont connues pour leurs implications dans le catabolisme protocatéchuate. Ces enzymes n'ont pas de similarité de séquence avec AhpC, mais elles ont une activité Alkylhydroperoxydases due à la présence d'un site actif de la thiorédoxine-like c'est pour ça qu'elles jouent un rôle clé dans le mécanisme de défense antioxydant dans divers organismes (Koshkin et *al.*, 2004 ; Ito et *al.*, 2006). Les différentes sous-classes sont composées de protéines avec différents domaines de CMD, Par exemple l'Alkylhydroperoxydases D (AhpD ; CE1.11.1.15) contient deux domaines CMD; chez certaines bactéries, une fusion de gènes de CMD et les résultats d'hydrolase dans l'expression

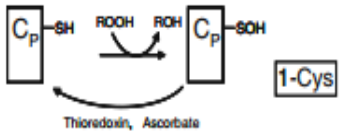
de deux enzymes dans la même voie sont toujours nécessaires (Ito et *al.*, 2006). Dans ce groupe, seul l'AhpD présente une activité de peroxydase. L'AhpD a été détectée dans un certain nombre bactéries, et ils pensent que ces enzymes jouent un rôle similaire dans le mécanisme de défense antioxydant dans ces organismes (Ito et *al.*, 2006).

Tableau II : le cycle catalytique des peroxydases et leurs rôles dans les bactéries :

Type d'enzymes	Cycle catalytique	Rôles
<p>Peroxydases à hème</p> <p>Catalase</p> <p>Catalase-peroxydase</p> <p>Lignine peroxydase</p> <p>Manganèse peroxydase</p> <p>Haloperoxydase</p> <p>DyP-type peroxydase</p> <p>Peroxydase animal</p> <p>Di-Hème cytochrome</p> <p>C Peroxydase</p>	<p>Le cycle catalytique général des peroxydases à hème :</p> <p>Le cycle catalytique de Haloperoxydases à hème :</p>	<p>Catalase (EC 1.11.1.6) :</p> <p>La défense contre les radicaux libres de l'oxygène généré au sein de leur croissance dans l'environnement ou par infection d'hôtes (pour la plupart défense contre H₂O₂).</p> <p>Catalase-peroxydase (EC : 1.11.1.6 et EC : 1.11.1.7)</p> <p>Même fonction que la catalase ; essentiellement pour la survie dans le genre <i>Mycobacterium</i></p> <p>Lignine peroxydase (EC 1.11.1.14)</p> <p>La dégradation de la lignine dans le cycle de carbone</p> <p>Manganèse peroxydase (EC 1.11.1.13)</p> <p>Il est dit que cette enzyme est présente dans certains actinomycètes et que son rôle est similaire à celle du manganèse peroxydase fongique, qui joue un rôle essentiel</p>

		<p>dans la dégradation de la lignine.</p> <p>Elle peut être impliquée dans la dégradation des diurons (pesticide).</p> <p>Haloperoxydases (EC 1.11.1.10 et EC 1.11.1.B7)</p> <p>son rôle reste inconnu.</p>
	<p style="text-align: center;">le cycle catalytique de di-Hème cytochrome C peroxydases</p> 	<p>DyP-type peroxydase (EC 1.11.1.X)</p> <p>Leurs rôles dans les bactéries est inconnu, mais elles peuvent être utilisé dans la dégradation des anthraquinones colorants.</p> <p>Di-Hème cytochrome C peroxydase (EC 1.11.1.5)</p> <p>le rôle de cette peroxydase n'est pas clair, mais peut jouer un rôle dans l'élimination des H₂O₂ en vertu de conditions hypoxiques.</p>
<p style="text-align: center;">Non-hème peroxydases</p> <p style="text-align: center;">Peroxyredoxines</p>		<p>Peroxyredoxines (EC : 1.11.1.15)</p> <p>Se compose de différents types :</p>

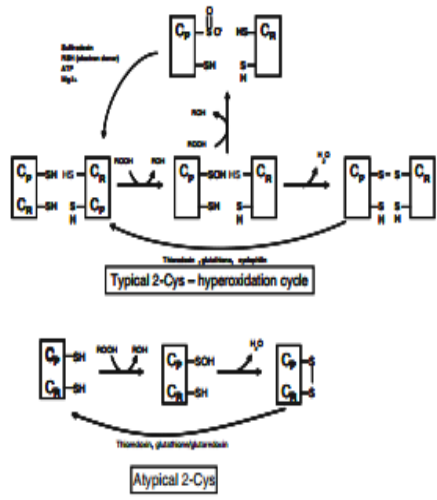
Halo-peroxydases
 Glutathione pero-xydase
 Manganèse catalase
 Alkylhydro-peroxydases
 (AhpD)



1-cystéine, typique 2-cystéine et la atypiques 2-cysteine. Elles jouent un rôle clé dans la réponse de stress oxydatif par enlèvement de réactif d'oxygène et de réactif d'azote. En liaison avec les catalases et le glutathione peroxydase, ces enzymes sont essentielles à la survie des agents pathogènes lors de l'infection de l'hôte.

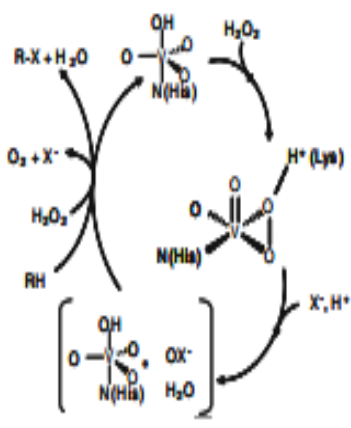
Haloperoxydases (EC : 1.11.1.B2 et EC : 1.11.1.B4)

l'activité de chloroperoxydases non hème dans les streptomycètes est liée à l'activité de protéosome, mais la fonction générale reste inconnue. Le vanadium contenant l'halo- Peroxydase dans les streptomycètes sont émis dans l'hypothèse de jouer un rôle dans des antibiotiques de protection, mais elles doivent être confirmées.



Glutathione peroxydase (EC : 1.11.1.9)

Fonction similaire a la celle de la peroxyredoxines.

	<p>Cycle catalytique de vanadium haloperoxydas :</p> 	<p>Manganèse catalase (EC : 1.11.1.6)</p> <p>Même rôle que la catalase classique mais exige le manganèse pour catalyser la réaction.</p> <p>Alkylhydroperoxydase D (EC 1.11.1.15) :</p> <p>Fait partie des antioxydants (mécanisme de défense).</p>
--	--	---

VII -DIFFERENTS TESTS D'ACTIVITES DES PEROXYDASES

VII .1-TEST A ABTS (2, 2 azino bis benzo 3 d'éthyle thiazine 6 acide sulfonique)

Des cultures de *Bacillus sp* centrifugés à 12000 g à 4°C pendant 20 min. Les surnageants sont récupérés pour déterminer l'activité de la peroxydase. Cette dernière est dosée par méthode spectrophotométrique à 414 nm. Le mélange réactionnel (1ml) est composé de 100 mM de tampon de citrate phosphate , 0,9 ml de ABTS (2, 2 azino bis benzo 3 d'éthyle thiazoline 6 acide sulfonique) à 1,7 mM, 25 ul de H₂O₂ à 2,5 mM et 0,1ml du surnageant.

Le même mélange réactionnel contenant 0,1 ml d'eau distillée à la place du surnageant sert de témoin. Une unité d'enzyme est définie comme étant la variation d'absorbance de 1,0 / ml / min à 414 nm (R.Rajkumar et *al.*, 2013)

VII .2 TEST UTILISANT LE 2,4-DICHLOROPHENOL / 4-AMINOANTIPYRINE COMME SUBSTRATS (Emerson, 1943)

10 µl L'enzyme est ajouté avec 3 ml de substrat en mélange (2,4- dichlorophénol à 4,1 mM, et 4-aminoantipyrine à 0,67 mM), 2,9 mM de H₂O₂ et 33 mM de tampon sodium / potassium phosphate à pH 6.

L'activité est mesurée à 50 °C. L'augmentation de l'absorbance à 500 nm a été enregistrée en continu et l'activité catalytique a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire : $\epsilon_{500} = 1,36 \times 10^4 \text{ mole}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Tamaoku et *al.*, 1982).

Différents types de donneurs d'hydrogène sont testés comme substrats (tableau III). Le mélange du 4-aminoantipyrine et du 2,4-dichlorophénol donne la plus grande activité enzymatique. De même, le produit réactionnel donne l'absorbance la plus élevée à 512 nm. Le 2,4-Dichlorophénol est un meilleur donneur d'hydrogène que le phénol, donnant une activité trois fois plus grande. Selon Shinmen et collaborateurs (1986), les dérivés du phénol absorbe mieux que le phénol, la peroxydase de *B. stearothermophilus* présente une spécificité élevée vis à vis du mélange 4-aminoantipyrine et du 2,4-dichlorophénol (ou un phénol) parmi les substrats étudiés. L'activité vis-à-vis du o-aminophénol et du pyrogallol est faible mais négligeable avec le catéchol et le gaïacol (Ichikawa et *al.*, 1981).

Pour les substrats 1 et 2, les conditions étaient identiques à celles décrites précédemment dans le test d'activité. Pour les substrats 3 à 6, la concentration du substrat dans le mélange réactionnel était de 0,7 mM; l'absorbance de 1 et 2 a été mesurée à 500 nm, et pour le 3 et 5 a été à 480 nm, et pour le substrat 4 c'était à 420 nm et pour le substrat 6 a été à 430nm. L'augmentation de l'absorbance à 1 min a été comparée et exprimée en activité relative. Pour le dichlorophénol + aminoantipyrine le pourcentage d'activité relative était maximal pour une concentration de 18,6 µmol.min⁻¹.ml⁻¹.

Substrats	L'activité relative (%)
1 Dichlorophénol + aminoantipyrine	100

2 Phénol +aminoantipyrine	37
3 <i>o</i> -Aminophénol	1.6
4Pyrogallol	1.3
5 Catéchol	0
6 Gaïacol	0

Tableau III : Spécificité du substrat de peroxydase à partir de *B. stearothermophilus*

VII .3 TEST D'ACTIVITE DE LA LIGNINE PEROXYDASE EN UTILISANT N-PROPANOL

L'activité de la lignine peroxydase a été analysée par la procédure de Shanmugam *et al.* Il a déterminé son activité en surveillant la formation de propanaldehyde à 300 nm dans un mélange réactionnel (2.5 ml) contenant 100 mM d'acide tartrique, et 100 mM de H₂O₂. Les fractions contenant l'activité de la lignine peroxydase ont été mises en commun et dialysées pendant une nuit dans un tampon de phosphate de sodium (pH 7). Le dialysat de l'enzyme a été concentré par le saccharose et utiliser pour l'optimisation des paramètres physicochimiques de l'enzyme ainsi que colorant décoloration.

L'activité de la lignine peroxydase a été dosée avec différentes concentrations de n-propanol (1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 et 15.0 mM) pour étudier les valeurs de Km (Shanmugam *et al.*, 1999).

VII .4 L'ACTIVITE DE LA PEROXYDASE MESUREE EN UTILISANT LE 2,4-DICHLOROPHENOL (2,4- DCP) (Antonopoulos *et al.*, 2001)

Le mélange réactionnel contenait des volumes égaux de 100 mmol.l⁻¹ de Tampon Tris - HCl (pH 8), 16 mmoles.l⁻¹de 4 -aminoantipyrine, 50 mmoles.l⁻¹ H₂O₂, 25 mmol.l⁻¹ de 2,4-DCP et l'extrait d'enzyme. La réaction est initiée par l'addition de H₂O₂ et l'augmentation de la A₅₁₀ suivi pendant 5 min sur un AnthosZenyth lecteur de plaque 1100 µl. Une unité (U) de l'activité de peroxydase est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour l'oxydation

d'un μmol de substrat (2,4- DCP) en 1min. Dans toutes les expériences, l'HRP commerciale diluée ($0.002 \text{ mg. ml}^{-1}$) est utilisée comme témoin positif, et l'eau comme témoin négatif.

VIII. APPLICATION INDUSTRIELLES DES PEROXYDASES

Du fait de leur forte robustesse et de leur activité spécifique, les peroxydases ont trouvé de nombreuses applications industrielles et biotechnologiques.

Certaines peroxydases sont capables d'oxyder un substrat de haut potentiel redox d'une manière spécifique, et par conséquent, il existe un large éventail d'utilisations potentielles de ces enzymes. Les peroxydases sont connues pour catalyser une large gamme de réactions, y compris la réduction énantiosélective d'hydroperoxydes de leurs alcools correspondants, l'hydroxylation des arènes, l'oxydation des amines aromatiques et de phénols, l'époxydation des oléfines, halogénéation, N-oxydation et sulfoxydation (Adam et *al.*, 2000). Bien que relativement peu de peroxydases bactériennes aient déjà été utilisées dans ces applications, leur potentiel d'utilisation est clair.

Les peroxydases bactériennes sont utilisées dans l'élimination des produits chimiques toxiques dans les eaux usées au lieu des méthodes physiques et chimiques puisqu'elles présentent de nombreux avantages : elles sont peu coûteuses, elles ne forment aucun sous-produits dangereux ainsi qu'elles permettent un haut rendement.

VIII.1 DEGRADATION DE LA PLUPART DES POLLUANTS

Les composés aromatiques (y compris les phénols et amines aromatiques) constituent l'une des principales catégories de polluants, on les retrouve dans tous les effluents industriels.

La majorité des rapports sur la détoxification des eaux usées contaminées avec les phénols, crésols et phénols chlorés utilisent la peroxydase de raifort (HRP), d'autres sources de peroxydases font également l'objet d'étude comme la peroxydase de soja (Kennedy et *al.*, 2002), de navet (Caza et *al.*, 1999 ; Duarte-Vazquez et *al.*, 2003) et les peroxydases de *Coprinus macrorhizus* (Al-Kassim et *al.*, 1994) tandis que l'utilisation des peroxydases bactériennes dans la dégradation des polluants n'est pas aussi vaste, les peroxydases des actinobactéries font de plus en plus l'objet de recherche à cet effet. Antonopoulos et ses collaborateurs en 2001 ont étudiés la déchloration des chlorophénols en utilisant une souche d'actinobactéries (*Streptomyces albus* ATCC 3005), où le concentré brut de la peroxydase de *S. albus* a oxydé avec succès tous les chlorophénols testé sauf le pentachlorophénol. Winter et ses collaborateurs en 1991 ont montré que les actinobactéries

isolés du sol sont adaptés à dégrader et déshalogéner partiellement des composés chlorés dont les effluents sont traités par l'eau de javel. Les lignines peroxydases sont largement étudiées pour l'application industrielle des pâtes et de papiers où de nombreux composés récalcitrants lignosulphonatés sont formés (Hernandez-Pérez et *al.*, 1997).

Plusieurs actinobactéries produisent les peroxydases ligninolytiques (Pasti et *al.*, 1990 ; Ramachandra et *al.*, 1998) qui peuvent avoir le potentiel de dégrader des substances de lignin-like comme la lignine fongique et la manganèse peroxydase, par exemple le charbon. Pizzul et ces collaborateurs en 2006 et 2007 ont constaté que *Rhodococcus wratislaviensis* est capable de dégrader le phénanthrène et anthracène (hydrocarbures aromatiques polycycliques ; HAP), et *Rhodococcus sp.* DSM 44126 est capable de dégrader le phénanthrène en milieu liquide. Bien que ces études n'aient pas montré que les peroxydases étaient responsables de la dégradation, une forte corrélation entre la dégradation des HAP et le potentiel d'ionisation dans les systèmes de peroxydation du manganèse de la peroxydase lipidique est indiqué (Bogan et *al.*, 1995). De plus, Lee et ces collaborateurs en 1991 ont comparé l'aptitude de *P. chrysosporium* avec celle de *Streptomyces spp.* (*S. viridosporus* T7A, *S. badius*252 et *Streptomyces* 75Vi2) pour dégrader le plastique polyéthylène dégradable. Les souches bactériennes étaient plus efficaces dans la dégradation de ces matière plastique que les souches fongiques, et c'était le premier rapport de la dégradation bactérienne des polyéthylènes oxydés en culture pure (Lee et *al.*, 1991).

Les peroxydases ont montré un potentiel de dégradation de divers herbicides persistants dans l'environnement, préoccupantes sur leur accumulation à long terme et leur toxicité. Trois souches d'actinobactéries isolées à partir d'un sol contaminé ont montré un potentiel de dégradation d'herbicides complexes, avec une souche qui dégrade jusqu'à 37% du diuron herbicide dans des essais *in vitro* (Esposito et *al.*, 1998). Il est suggéré que cette dégradation est due à l'oxydation de la structure aromatique de l'herbicide par MnP, comme cela a été rapporté pour le champignon *P. chrysosporium* (Sundaramoorthy et *al.*, 2010).

VIII.2. LA DEGRADATION DE LA LIGNINE ET DE LA LIGNOCELLULOSE

La lignine est un polymère très complexe, stable et irrégulier constitué d'unités répétitives de phényle non propanoïde liés par divers carbone-carbone et des liaisons éther (Sarkanen et *al.*, 1971 ; Conesa et *al.*, 2002). Le rôle de la LiP dans la dépolymérisation de la lignine est

bien connu, et son mécanisme d'action est très similaire à HRP (Aitken et *al.*, 1989). L'étude de Crawford en 1978 était la première à montrer la preuve concluante que les streptomycètes peuvent avec une minéralisation complète de décomposer la lignine en CO₂. Parmi les bactéries sélectivement isolé pour leur pouvoir de dégradation de lignocellulose trois dégradeurs premiers appartenaient tous à la famille Streptomycetaceae. L'Oxydation initiale de la lignine semble impliquer un mécanisme à la peroxydase où la peroxydase joue un rôle dans la transformation de la lignine en générant des produits polymères solubles dans l'eau appelée APPL (Ramachandra et *al.*, 1988 ; Pasti et *al.*, 1990).

Dans de nombreux cas, la participation directe de la LiP et/ou la MnP (fongique) dans les processus de biopulpage et bioblanchiment était démontrée. L'activité extracellulaire de la peroxydase est démontrée pour sa responsabilité dans dépolymérisation la lignine par *P. chrysosporium* et l'activité ligninolytiques similaire était décrite à partir des streptomycètes (Ramachandra et *al.*, 1988) et dans d'autres actinobactéries (Ball et *al.*, 1990). La LiP et la MnP purifié décolorer effluents (Ferrer et *al.*, 1991) et oxyde une large gamme des composés xénobiotiques (Field et *al.*, 1993). Tuncer et ces collaborateurs en 1999 ont optimisé la production d'une enzyme lignocellulolytiques extracellulaire isolé à partir de *T. fusca* BD25, cette souche est capable de solubiliser la lignine à des températures élevées de manière plus efficace que les autres bactéries ou des champignons. Plusieurs peroxydases bactériennes ont été montrées pour dépolymériser la lignine.

VIII.3. LA DEGRADATION DES COLORANTS (DYP-TYPE PEROXYDASE)

Les colorants synthétiques qui possèdent des structures moléculaires aromatiques complexes sont utilisés dans de nombreux procédés industriels, de l'impression sur papier à la teinture des textiles, et une partie significative (10-15%) de récalcitrants, ces colorants toxiques sont des effluents industriels libérer dans l'environnement où ils causent des dommages (Spadaro et *al.*, 1992). Pour éliminer ces polluants, divers méthodes physico-chimiques sont utilisées telles que l'oxydation chimique, l'osmose inverse et l'adsorption mais en raison de leur coût et leur exigence en énergie élevé ainsi que leur application limitée et la possibilité d'engendrer des sous-produits toxique, la dégradation microbienne est considéré comme une alternative moins coûteuse, moins intrusive (Ulson de Souza et *al.*, 2007).

La MnP est démontré pour catalyser l'oxydation de plusieurs phénols monomériques et des colorants aromatiques. Les réactions dépendent de la présence des deux manganèses divalents et certains types de tampons (Aitken et *al.*, 1989). HRP est efficace à la dégradation des colorants industriels importants, telle que le bleu de Remazol (Bhunia et *al.*, 2001). HRP sous sa forme libre est efficace dans la décoloration des colorants textiles et les effluents ainsi que dans la réduction des effluents toxiques (Ulson de Souza et *al.*, 2007). Cependant, l'inactivation de HRP par les colorants est une limitation majeure à la commercialisation de ce processus. L'utilisation des actinobactéries dans la dégradation de colorant est documentée. Les colorants tels que le poly B-411, le poly-R418 et rbbp sont souvent utilisés en tant que substrats pour surveiller l'activité ligninolytique de *Streptomyces sp* (Pasti et *al.*, 1991). Les souches suivantes *T. mesophila*, et *S.badius S.viridosporus* T7A sont parmi les souches les plus actifs d'actinobactéries décolorantes de Poly R (Ball et *al.*, 1996). Même s'il est suggéré que l'action de dégradation de colorant est due à l'action de la lignine peroxydase, aucune étude n'a prouvé que ce soit le cas (Ball et *al.*, 1996). DyP-type peroxydase (colorant de type peroxydase) récemment décrite de *T. bifida* est recommandé comme une alternative pour la dégradation des colorants d'anthraquinone, par ce que l'enzyme est solide, donc elle peut être exprimée dans un hôte approprié et dégrade les colorants d'anthraquinone avec un rendement élevé (Van Bloois et *al.*, 2010).

Les souches *P. chrysosporium* et *S. chromofuscus* sont démontré pour leur pouvoir de dégradation des colorants azotiques (Goszczyński et *al.*, 1994). Au cours de l'oxydation des colorants et de l'acide sulfanilique en utilisant l'extrait brut de peroxydases de *P. chrysosporium* (deux MnP et la LiP détecté dans l'extrait brut) et de *S. chromofuscus*, il n'y avait pas la consommation ou libération d'oxygène qui les a poussés à suggérer que l'eau ou H₂O₂ était l'agent d'hydroxylation qui agit sur les colorants (Goszczyński et *al.*, 1994). L'analyse des produits intermédiaires et les mécanismes de dégradation de colorant azoïque par les peroxydases ligninolytiques de *P. chrysosporium* et *S. chromofuscus* ont conduit à la conclusion que les peroxydases ligninolytiques convertissent le colorant azoïque à un radical cation qu'est sensible à l'attaque nucléophile des molécules d'eau ou de H₂O₂ (Pasti et *al.*, 1991 ; Goszczyński et *al.*, 1994).

CONCLUSION

Les peroxydases abstraites sont des enzymes redox qui peuvent être trouvées sous toutes les formes de la vie où elles jouent divers rôles c'est pour cette raison qu'elles ont une grande utilité industrielle.

Beaucoup de peroxydases ont été intensivement étudiées. En général, des peroxydases peuvent être groupées dans les peroxydases hémiques et non hémiques, chaque protéine contenant des familles qui partagent la similitude d'ordre.

L'ordre d'actinomycétales constitue d'un grand groupe des bactéries qui sont souvent exploitées pour leurs diverses possibilités métaboliques.

Afin de poursuivre ce travail, il est recommandé d'entreprendre les études suivantes :

- ✓ Faire des études plus approfondies sur les peroxydases bactériennes à fin de les appliquer dans le domaine industriel.
- ✓ Utiliser le 2,4-dichlorophénol / 4-aminoantipyrine comme substrat augmente l'activité de la peroxydase.
- ✓ Faire des études sur peroxydases des actinobactéries puisque elles sont très répandues et d'un haut intérêt industriel.
- ✓ La poursuite de ce travail théorique pour mettre en expérience les différents tests.

- Adam, W., Lazarus, M., Saha-Möller, C. R., Weichold, O., Hoch, U., Häring, D., et al. (2000). Biotransformations with peroxidases. In K. Faber (Ed.), *Biotransformations*. Berlin: Springer.
- Adhi, T. P., Korus, R. A., & Crawford, D. L. (1989). *Applied and Environmental Microbiology*, 55(5), 1165–1168.
- Aitken, M. D., & Irvine, R. L. (1989). *Biotechnology and Bioengineering*, 34(10), 1251–1260.
- Al-Kassim, L., Taylor, K. E., Nicell, J. A., Bewtra, J. K., & Biswas, N. (1994). *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 61(1), 179–182.
- Alskog, G., & Huss-Danell, K. (1997). *Physiologia Plantarum*, 99, 286–292.
- Antonopoulos, A. Rob, A. S. Ball, M. T. Wilson, *Enzyme and Microbial Technol.*, 2001, 29: 62-69.
- Arenskötter, M., Bröker, D., & Steinbuchel, A. (2004). *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6), 3195–3204.
- Asada K, 1999.- The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Bioi.*, 50, 601-639.
- Ball, A. S., Godden, B., Helvenstein, P., Penninckx, M. J., & McCarthy, A. J. (1990). *Applied and Environmental Microbiology*, 56(10), 3017–3022.
- Ball, A., & Colton, J. (1996). *Journal of Basic Microbiology*, 36(1), 13–18.
- Barranco-Medina, S., Lázaro, J.-J., & Dietz, K.-J. (2009). *FEBS Letters*, 583, 1809–1816.
- Battistuzzi, G., Bellei, M., Bortolotti, C. A., & Sola, M. (2010). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 500, 21–36.
- Bhunia, A., Durani, S., & Wangikar, P. P. (2001). *Biotechnology and Bioengineering*, 72, 562–567.
- Bogan, B. W., & Lamar, R. T. (1995). *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7), 2631–2635.
- Bon, E. P. S., Nascimento, H. J., Macedo, J. M. B., & Silva, J. G., Jr. (1999). *Biotechnology Techniques*, 13, 289–293.
- Böttger, E. C., & Springer, B. (2008). *European Journal of Pediatrics*, 167, 141–148.
- Burke, N. S., & Crawford, D. L. (1998). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49, 523–530.
- Butler, A. (1998). *Current Opinion in Chemical Biology*, 2(2), 279–285.

- Caza, N., Bewtra, J. K., Biswas, N., & Taylor, K. E. (1999). *Water Research*, 33(13), 3012–3018.
- Chang, A., Scheer, M., Grote, A., Schomburg, I., & Schomburg, D. (2009). *Nucleic Acids Research*, 37, D588–D592. Database issue.
- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(2), 192–208.
- Chemistry*, 270, 13740–13747.
- Chung N. & S.D. Aust, 1995.- Veratryl alcohol-mediated indirect oxidation of pentachlorophenol by lignin peroxidase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 322, 143-148.
- Claiborne, A. and Fridovich, I. (1979). Purification of the o-dianisidine peroxidase from *Escherichia coli* B. Physicochemical characterization and analysis of its dual catalytic and peroxidatic activities. *Journal of biological chemistry* 254, 4245-4252.
- Conesa A., P.J. Punt & C.A.M.J. van den Hendel, 2002.-Fungal peroxidases : molecular aspects and applications. *J. Biotechnol.*, 93, 143-158.
- Conesa A., P.J. Punt & C.A.M.J. van den Hendel, 2002.Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. *J. Biotechnol.*, 93, 143-158.
- Crawford, D. L. (1978). *Applied and Environmental Microbiology*, 35(6), 1041–1045.
- Crawford, D. L., Pometto, A. L., 3rd, & Crawford, R. L. (1983). *Applied and Environmental Microbiology*, 45(3), 898–904.
- Crawford, D., Doyle, J., Wang, Z., Hendricks, C., Bentjen, S., Bolton, H., Jr., et al. (1993). *Applied and Environmental Microbiology*, 59(2), 508–518.
- Cullen D., 1997.- Recent advances on the molecular genetics of ligninolytic fungi. *J. Biotechnol.*, 53, 273-289.
- Dayer, R., Fischer, B. B., Eggen, R. I. L., & Lemaire, S. D. (2008). *Genetics*, 179, 41 – 57.
- De Mot, R., De Schrijver, A., Schoofs, G., & Parret, A. H. A. (2003). *FEMS Microbiology Letters*, 224, 197–203.
- De Mot, R., Schoofs, G., & Nagy, I. (2007). *Archives of Microbiology*, 188, 257–271.
- Dolin, M. I. (1957). Streptococcus faecalis oxidase for reduced diphosphopyridine nucleotide. *Journal of biological chemistry* 225, 557-573.
- Duarte-Vazquez, M. A., Ortega-Tovar, M. A., Garcia-Almendarez, B. E., & Regalado, C. (2003).
- Dunford H.B., 2000.- Heme peroxidase nomenclature. *Plant Perox. Newslet.*, 13, 65-71

- Emerson, J. (1943). The condensation of aminantipyrine II. A new color test for phenolic compounds. *Journal of organic chemistry* 8, 417-428.
- Esposito, E., Paulilo, S. M., & Manfio, G. P. (1998). *Chemosphere*, 37(3), 541–548.
- Facey, S. J., Groß, F., Vining, L. C., Yang, K., & Van Pée, K.-H. (1996). *Microbiology*, 142, 657–665.
- Faguy D.M. & W.F. Doolittle, 2000.- Horizontal transfer of catalase-peroxidase genes between archaea and pathogenic bacteria. *Trends Gen.*, 16, 196-197. Fournand.
- Ferrer, I., Dezotti, M., & Duran, N. (1991). *Biotechnology Letters*, 13(8), 577–582.
- Field, J. A., de Jong, E., Feijoo-Costa, G., & de Bont, J. A. M. (1993). *Trends in Biotechnology*, 11(2), 44–49.
- Finzel, B. C., Poulos, T. L. and Kraut, J. (1984). Crystal structure of yeast cytochrome c peroxidase refined at 1.7-Å resolution. *Journal of biological chemistry* 259, 13027-13036.
- Fujiyama K., 1988.-Structure of the horseradish peroxidase isozyme C genes. *Eur. J. Biochem.*, 173, 681-687.
- Fukumori, Y., Fujiwara, T., Okuda-Tahahashi, Y., Mukohata, Y. and Yamanaka, T. (1985). Purification and properties of peroxidase from *Halobacterium holobium* L-33. *Journal of biochemistry* 98, 1055-1061.
- Ghiladi, R. A., Knudsen, G. M., Medzihradzky, K. F., & Ortiz de Montellano, P. R. (2005). *The Journal of Biological Chemistry*, 280(24), 22651–22663.
- Glenn J.K., L. Akileswaran & M.H. Gold, 1986.- Mn(II) oxidation is the principal function of the extracellular Mn-peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 251, 688-696.
- Goszczynski, S., Paszczynski, A., Pasti-Grigsby, M. B., Crawford, R. L., & Crawford, D. L. (1994). *Journal of Bacteriology*, 176(5), 1339–1347.
- Goszczynski, A.Paszczynski, M.B. Pasti-Grigshy, D.L. Crawford, *J.Bacteriol.*, 1994, 176: 1339-47.
- Hahn, J.-S., Oh, S.-Y., & Roe, J.-H. (2000). *Journal of Bacteriology*, 182(13), 3767–3774.
- Harazono, R.Kondo, K. Sakai, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, 62: 913-917.
- Herbette, S., Roedel-Drevet, P., & Drevet, J. R. (2007). *The FEBS Journal*, 274(9), 2163–2180.
- Hernandez-Pérez, G., Goma, G., & Rols, J. L. (1997). *Biotechnology Letters*, 19(3), 285–289.

- Hofmann, B., Tölzer, S., Pelletier, I., Altenbuchner, J., Van Pée, K.-H., & Hecht, H. J. (1998). *Journal of Molecular Biology*, 279(4), 889–900.
- Hofrichter, M. (2002). *Enzyme and Microbial Technology*, 30, 454–466.
- Ichikawa, K., Okazaki, K., Kimoto, K. and Watanabe, Y. (1981). Partial purification of peroxidase from *pellicularia filamentosa*. *Agricultural and biological chemistry* 45, 1297-1299.
- Ilyina, A., Huerta-Guel, P. J., Martinez-Hernandez, J. L., Rodriguez-Martinez, J., & Gorokhovskiy, A. (2008). *Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic*, 51,1 –9.
- Immenschuh, S., & Baumgart-Vogt, E. (2005). *Antioxidants and Redox Signalling*, 7(5–6), 768–777.
- Işık, K., Kayali, H. A., Şahin, N., Gündoğda, E. O., & Tarhan, L. (2007). *Process Biochemistry*, 42(2), 235–243.
- Ito, K., Arai, R., Fusatomi, E., Kamo-Uchikubo, T., Kawaguchi, S.-I., Akasaka, R., et al. (2006). *Protein Science*, 15(5), 1187–1192.
- Kapetanaki, S. M., Choucane, S., Yu, S., Zhao, X., Magliozzo, R. S., & Schelvis, J. P. M. (2005). *Biochemistry*, 44(1), 243–252.
- Kennedy, K., Alemany, K., & Warith, M. (2002). *Water SA*, 28(2), 149–158.
- Khindaria A., I. Yamazaki & S.D. Aust, 1996. Stabilization of the veratryl alcohol cation radical by lignin peroxidase. *Biochemistry*, 35, 6418-6424.
- Kim, H.-P., Lee, J.-S., Hah, Y. C., & Roe, J.-H. (1994). *Microbiology*, 140, 3391–3397.
- Kim, S. J., & Shoda, M. (1999). *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 1029–1035.
- Kjalke M., M.B. Andersen, P. Schneider, B. Christensen, M. Schulein & K.G. Welinder, 1992.-Comparison of structure and activities of peroxidases from *Coprinus cinereus*, *Coprinus macrorhizus* and *Arthromyces ramosus*. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1120, 248-256.
- Kjalke M., M.B. Andersen, P. Schneider, B. Christensen, M. Schulein & K.G. Welinder, 1992.- Comparison of structure and activities of peroxidases from *Coprinus cinereus*, *Coprinus macrorhizus* and *Arthromyces ramosus*. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1120, 248-256.
- Knoch, M., Van Pée, K.-H., Vining, L. C., & Lingens, F. (1989). *Journal of General Microbiology*, 135, 2493–2502.
- Koja, J. Ogawa, Y. N. Choi, S. Shimizu, *FEMS Microbiol. Lett.* 1999, 175: 113-117.

- Koshkin, A., Knudsen, G. M., & Ortiz de Montellano, P. R. (2004). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 427(1), 41–47.
- Kuan, I.-C., Johnson, K. A., & Tien, M. (1993). *The Journal of Biological Chemistry*, 268(27), 20064– 20070.
- Kunishima N., K. Fukuyama, H. Matsubara, H. Hatanaka, Y. Shibano & T. Amachi, 1994.- Crystal structure of the fungal peroxidase from *Arthromyces ramosus* at 1.9 Å resolution. Structural comparisons with the lignin and cytochrome c peroxidases. *J. Mol. Biol.*, 235, 331-344.
- LaFleur, G. J., Jr., Horiuchi, Y., & Wessel, G. M. (1998). *Mechanisms of Development*, 70(1–2), 77–89.
- Lagrimini L.M., W. Burkhart, M. Moyer & S. Rothstein, 1987.- Molecular cloning of complementary DNA encoding the lignin-forming peroxidase from tobacco : molecular analysis and tissue-specific expression. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 84, 7542-7546.
- Lee, B., Pometto, A. L., III, Fratzke, A., & Bailey, T. B., Jr. (1991). *Applied and Environmental Microbiology*, 57(3), 678–685.
- Lenhoff, H. M. and Kaplan, N. O. (1956). A cytochrome peroxidase from *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of biological chemistry* 220, 967-982.
- Linossier G., 1898.-Contributions a l'etude des ferments oxydants. Sur la peroxydase du pus. *C. R. Soc. Biol.*, 50, 140-145.
- Littlechild, J., Rodriguez, E. G., & Isupov, M. (2009). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 103(4), 617– 621.
- Lucana, D. O. D. O., Schaa, T., & Schrempf, H. (2004). *Microbiology*, 150, 2575–2585.
- Lucana, D. O. D. O., Zou, P., Nierhaus, M., & Schrempf, H. (2005). *Microbiology*, 151, 3603–3614.
- Marilize le Roes-Hill, Nuraan Khan, Stephanie Gail Burton, 2011. Actinobacterial Peroxidases: an Unexplored Resource for Biocatalysis. *Appl biochem biochnol* 164:681-713.
- Marshall, G. C., & Wright, G. D. (1996). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 219 (2), 580–583.
- Martilla, H. J., Soini, H., Huovinen, P., & Viljanen, M. K. (1996). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(9), 2187–2189.
- McCarthy, A. J. (1987). *FEMS Microbiology Reviews*, 46(2), 145–163.
- McCarthy, A. J., Paterson, A., & Broda, P. (1986). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 24(4), 347–352.

- Menéndez, M. C., Ainsa, J. A., Martín, C., & García, M. J. (1997). *Journal of Bacteriology*, 179(22), 6880–6886
- Mliki, A., & Zimmerman, W. (1992). *Applied and Environmental Microbiology*, 58(3), 916–919.
- Morgenstern, I., Klopman, S., & Hibbett, D. S. (2008). *Journal of Molecular Evolution*, 66, 243–257.
- Morita S., H. Kaminaka, T. Masumura & K. Tanaka, 1999.· Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress; the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signalling. *Plant Cell Physiol.*, 40, 417-422.
- Neumann, C. S., Fujimori, D. G., & Walsh, C. T. (2008). *Chemistry & Biology*, 15, 99–109.
- Niebisch, A., & Bott, M. (2001). *Archives of Microbiology*, 175(4), 282–294.
- Niladevi, K. N., & Prema, P. (2005). *Actinomycetologica*, 19(2), 40–47.
- O'Brien P.J., 2000.· Peroxidases. *Chemico-Biological Interactions*, 129, 113-139.
- Passardi, F., Theiler, G., Zámocký, M., Cosio, C., Rouhier, N., Teixeira, F., et al. (2007). *Phytochemistry*, 68, 1605–1611.
- Passardi, F., Zamocky, M., Favet, J., Jakopitsch, C., Penel, C., Obinger, C., et al. (2007). *Gene*, 397, 101–113.
- Pasti, M. B., & Crawford, D. L. (1991). *Canadian Journal of Microbiology*, 37(12), 902–907.
- Pasti, M. B., Pometto, A. L., III, Nuti, M. P., & Crawford, D. L. (1990). *Applied and Environmental Microbiology*, 56(7), 2213–2218.
- Pelletier, I., Altenbuchner, J., & Mattes, R. (1995). *Biochimica et Biophysica Acta*, 1250(2), 149–157.
- PeroxiBase. (2010). PeroxiBase—peroxidase database. Available at <http://peroxibase.isb-sib.ch>.
- Pettigrew, G. W., Echalié, A., & Pauleta, S. R. (2006). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 100, 551–567.
- Pizzul, L., Castillo, M., & Stenstrom, J. (2007). *International Biodeterioration and Biodegradation*, 59 (2), 111–118.
- Pizzul, L., del Pilar Castillo, M., & Stenström, J. (2006). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 745–752.

- R.Rajkumar* ,Z.Yaakob, M.S. Takriff and K.F. Kamarudin. (2013). Optimization of medium composition for the production of peroxidase by *Bacillus* sp. *Der pharma Chemica*, 5(2):167-174.
- Rafii, F.,Lunsford, P., Hehman, G.,& Cerniglia,C.E.(1999). *FEMS Microbiology Letters*, 173, 285 –290.
- Ramachandra, M., Crawford, D., & Hertel, G. (1988). *Applied and Environmental Microbiology*, 54 (12), 3057–3063.
- Rhee, S. G., Chae, H. Z., & Kim, K. (2005). *Free Radical Biology & Medicine*, 38(12), 1543–1552.
- Ro, Y. T., Lee, H. I., Kim, E. J., Koo, J. H., Kim, E., & Kim, Y. M. (2003). *FEMS Microbiology Letters*, 226(2), 397–403.
- Sarkanen, K. V., & Ludwig, C. H. (1971). *Lignins: Occurrence, formation, structure and reactions* (pp. 1–18). New York: Wiley-Interscience.
- Schröder, E., & Ponting, C. P. (1998). *Protein Science*, 7, 2465–2468.
- Shanmugam, V., M. Kumari, and K. D. Yadav (1999) n-propanol as a substrate for assaying the ligninperoxidase activity of *phanerochaete chrysosporium*. *Indian J. Biochem. Biophys.* 36: 39-43.
- Sherman, D. R., Mdluli, K., Hickey, M. J., Barry, C. E., III, & Stover, C. K. (1999). *Biofactors*, 10(2– 3), 211–217.
- Shimokawa, T., Shoda, M., & Sugano, Y. (2009). *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107(2), 113–115.
- Shinmen, Y., Asami, S., Amachi, T., Shimizu, S. and Yamada, H. (1986). Crystallization and characterization of an extracellular fungal peroxidase. *Agricultural and biological chemistry* 50, 247-249.
- Smirnoff N., 2000.- Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Cur. Op. Plant Bioi.*, 3, 229-235.
- Spadaro, J. T., Gold, M. H., & Renganathan, V. (1992). *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (8), 2397–2401.
- Spiker, J. K., Crawford, D. L., & Thiel, E. C. (1992). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37, 518–523.
- Steele, D. B., & Stowers, M. D. (1986). *Canadian Journal of Microbiology*, 32(5), 409–413.
- Sugano, Y. (2009). *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66, 1387–1403.

- Sundaramoorthy, M., Gold, M. H., & Poulos, T. L. (2010). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 104, 683–690.
- Tamaoku, K., Murao, Y., Akiura, K. and Ohkura, Y. (1982). New water soluble hydrogen donors for the enzymatic spectrophotometric determination of hydrogen peroxide. *Analytica chimica acta* 136, 121-127.
- Tavares, F., Bernardo, L., & Sellstedt, A. (2003). *Plant and Soil*, 254, 75 –81.
- Theorell H., 1942.-Crystalline peroxidase. *Enzymologia*, 10, 250-252.
- Trujillo, M., Mauri, P., Benazzi, L., Comini, M., De Palma, A., Flohé, L., et al. (2006). *The Journal of Biological Chemistry*, 281(29), 20555–20566.
- Tuncer, M., Ball, A. S., Rob, A., & Wilson, M. T. (1999). *Enzyme and Microbial Technology*, 25(1–2), 38–47.
- Ulson de Souza, S. M., Forgiarini, E., & Ulson De Souza, A. A. (2007). *Journal of Hazardous Materials*, 147(3), 1073–1078.
- Valli K., H. Wariishi & M.H. Gold, 1990.- Oxidation of monomethoxylated aromatic compounds by lignin peroxidase: role of veratryl alcohol in lignin biodegradation. *Biochemistry*, 29, 8535-8539.
- Van Bloois, E., Pazmiño, D. E. T., Winter, R. T., & Fraaije, M. W. (2010). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(5), 1419–1430.
- Van Pée, K.-H., & Lingens, G. D. (1985). *Journal of General Microbiology*, 131, 1911–1916.
- Varela E., A.T. Martinez & M.J. Martinez, 2000.-Southern blot screening for lignin peroxidase and arylalcohol oxidase genes in 30 fungal species. *J. Biotechnol.*, 83, 245-251.
- Vera-Cabrera, L., Johnson, W. M., Welsh, O., Resendiz-Uresti, F., & Salinas-Carmona, M. C. (1999).
- Walker, G. E., Dunbar, B., Hunter, I. S., Nimmo, H. G., & Coggins, J. R. (1995). *Microbiology*, 141, 1377–1383.
- Wayne, L. G., & Diaz, G. A. (1982). *International Journal of Systematic Bacteriology*, 32(3), 296–304.
- Welinder K.G., 1979.- Amino acid sequence studies of horseradish peroxidase. Amino and carboxyl termini, cyanogen bromide and tryptic fragments, the complete sequence, and some structural characteristics of horseradish peroxidase. *Eur.J. Biochem.*, 96, 483502.

- Welinder K.G., 1992.- Superfamily of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Cur. Op. Struc. Bioi.*, 2, 388-393.
- Winter, B., Fiechter, A., & Zimmermann, W. (1991). *Applied and Environmental Microbiology*, 57(10), 2858–2863.
- Wu, G., Nie, L., & Zhang, W. (2005). *Antonie van Leeuwenhoek*, 89(1), 135–136.
- Yonetani T. & T. Ohnishi, 1966.- Cytochrome c peroxidase, a mitochondrial enzyme of yeast. *J. Biol. Chem.*, 241' 2983-2984.
- Youn, H.-D., Yim, Y.-I., Kim, K., Hah, Y. C., & Kang, S.-O. (1995). *The Journal of Biological Chemistry*, 270, 13740–13747.
- Zamocky M., S. Janecek & F. Koller, 2000.- Common phylogeny of catalase-peroxidases and ascorbate peroxidases. *Gene*, 256, 169-182.
- Zámocký, M., Furtmüller, P. G., & Obinger, C. (2010). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 500, 45–57.
- Zou, P.-J., Borovok, I., Lucana, D., Müller, D., & Schrempf, H. (1999). *Microbiology*, 145, 549–559.
- Zou, P.-J., Borovok, I., Lucana, D., Müller, D., & Schrempf, H. (1999). *Microbiology*, 145, 549–559.

Résumé

Dans ce travail, plusieurs études sur les peroxydases en général (classification, rôle, propriétés) et les peroxydases bactériennes en particulier.

Les peroxydases bactériennes et spécialement celles d'actinobactéries sont très étudiées en raison de leurs diversités et de leurs intérêts industriels et économiques. Seules les applications biotechnologiques sont rapportées.

Plusieurs souches d'actinobactéries ont été isolées, qui sont en cours d'études vue leur production en peroxydases élevé, plus spécialement les streptomyces

Les différents tests sont effectués à fin de mesurer l'activité de la peroxydase en utilisant différents substrats : ABTS, n-propanol, 2,4-dichlorophnol / 4-aminoantipyrine et 2,4-DCP en présence de H₂O₂, l'activité était presque 100% en présence des deux substrats en mélange (2,4-dichlorophnol / 4-aminoantipyrine).

Les peroxydases ont une grande application industrielle surtout dans la décoloration des colorants qui sont toxiques pour l'environnement, la dégradation microbienne est considérée comme une alternative moins coûteuse, moins intrusive.

Mots-clés : Peroxydases, Actinobactéries, Tests d'activité, Application industrielle.

Abstract

In this work, gathered many studies on peroxidases in general (classification, role and properties) and especially bacterial peroxidases.

These peroxidases like the actinobacter are well studied because of their diversity, industrial and economic interest. Only the biotechnological applications are described.

Many strains of actinobacter were isolated and the studies on it are still ongoing because of their production of peroxidases when using Streptomyces in particular.

Different tests are performed to measure peroxidase activity using different substrates: ABTS, n-propanol, 2,4-dichlorophnol / 4-aminoantipyrine et 2,4-DC in the presence of H₂O₂, the activity is almost 100% when two substrates mixed are used ((2,4-dichlorophnol / 4-aminoantipyrine).

Peroxidases have a wide industrial implementation, especially in the discoloration of dyes which are toxic to the environment. The microbial degradation is considered as cheaper alternative and less intrusive.

Key-words : peroxidase, actinobacterial, activities tests, industrial application.