



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : *Biotechnologie et Génomique Végétale*

**Intitulé :**

---

**Contribution à l'étude de quelques protéines du *Moringa oleifera*  
impliquées dans l'épuration des eaux usées**

---

Présenté et soutenu par : MAZAOUI Sara Narimane

Le : 07/07/2020

**Jury d'évaluation :**

<b>Présidente du jury :</b>	Mme. HAMMOUDA Dounia	MCA - UFM Constantine.
<b>Encadrant :</b>	Mme. KACEM Sandra Nadia	MCB- UFM Constantine.
<b>Examinatrice :</b>	Mlle. BOUCHEMAL Karima	MAB - UFM Constantine.

*Année universitaire  
2019 - 2020*

# Contribution à l'étude de quelques protéines du *Moringa oleifera* impliquées dans l'épuration des eaux usées

## Résumé :

Les eaux usées peuvent contenir de nombreuses substances toxiques, ainsi que de nombreux micro-organismes pathogènes qui menacent l'environnement et la santé humaine, leur traitement s'avère donc indispensable.

Les graines de *M. oleifera* présentent un floculant naturel très efficace pour le traitement de l'eau. Cette efficacité revient à la présence de protéines cationiques actives qui agissent en tant qu'agent adsorbant, coagulant et désinfectant.

Au cours de ce travail, deux composants protéiques majeurs ont été étudiés, la protéine floculante et antibactérienne MO2.1 et la protéine antifongique Mo-CBP3. Ces protéines hydrosolubles et thermorésistantes sont localisées dans les vacuoles.

La protéine MO2.1 est un homodimère de faible poids moléculaire qui présente une activité floculante naturelle très efficace. Cette protéine est constituée d'un total de 60 résidus d'acides aminés dont huit régions sont de charge positive. Sa structure secondaire est constituée principalement d'hélice alpha.

Outre son utilisation comme agent floculant, la MO2.1 est dotée d'une activité antibactérienne, cette activité a été démontrée par une Cryo-TEM sur des cellules d'*E. coli*, montrant un endommagement des membranes des cellules bactériennes par la fusion des membrane internes et externes, ainsi qu'une fusion des vésicules.

Une autre protéine antifongique nommée Mo-CBP3 a été signalée. Cette protéine a la capacité d'inhiber la germination des spores et la croissance mycélienne des champignons. Elle comporte 4 isoformes, mais seules les protéines Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4 possèdent une structure cristalline disponible. Ces dernières sont disposées d'une manière clé qui leurs confèrent stabilité et résistance à la chaleur ainsi qu'à la protéolyse.

A travers notre recherche bibliographique nous avons pu confirmer que le *Moringa Oleifera* est un arbre miracle qui connaît une place importante en tant que ressource alimentaire, médicinale et économique, c'est aussi un coagulant naturel et biologique qui s'avère une option non négligeable pour la purification de l'eau.

**Mots clés :** *Moringa oleifera*, eaux usées, protéines coagulantes, MO2.1, Mo-CBP3, activité floculante, activité antibactérienne, activité antifongique.

## **Contribution to the study of some *Moringa oleifera* proteins involved in wastewater treatment**

### **Abstract:**

Wastewater can contain many toxic substances, as well as many pathogenic microorganisms that threaten the environment and human health, so its treatment is essential.

*M. oleifera* seeds have a natural flocculant that is very effective for water treatment. This effectiveness is due to the presence of active cationic proteins that act as an adsorbent, coagulant and disinfectant agent.

During this work, two major protein components were studied, the flocculating and antibacterial protein MO2.1 and the antifungal protein Mo-CBP3. These water-soluble and heat-resistant proteins are localized in vacuoles.

MO2.1 protein is a low molecular weight homodimer with a very effective natural flocculant activity. This protein consists of a total of 60 amino acids residues including eight regions of positive charge. Its secondary structure consists mainly of alpha helix.

In addition to its use as a flocculating agent, MO2.1 has antibacterial activity. This activity has been demonstrated by a Cryo-TEM on *E. coli* cells, showing damage to bacterial cell membranes by fusion of the inner and outer membranes, as well as vesicle fusion.

Another antifungal protein named Mo-CBP3 has been reported. This protein has the ability to inhibit spore germination and mycelial growth of fungi. It has 4 isoforms, but only Mo-CBP3-1 and Mo-CBP3-4 have an available crystal structure. The latter are arranged in a key manner that gives them stability and resistance to heat and proteolysis.

Through our bibliographical research we have been able to confirm that the *Moringa oleifera* is a miracle tree that has an important place as a food, medicinal and economic resource, it is also a natural and biological coagulant which is a significant option for water purification.

**Keywords:** *Moringa oleifera*, wastewater, coagulating proteins, MO2.1, Mo-CBP3, flocculant activity, antibacterial activity, antifungal activity.

## المساهمة في دراسة بعض بروتينات المورينجا أوليفرا المشاركة في معالجة مياه الصرف الصحي

### ملخص:

يمكن أن تحتوي المياه العادمة على العديد من المواد السامة، بالإضافة إلى العديد من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض التي تهدد البيئة وصحة الإنسان، لذا فإن معالجتها ضرورية.

تحتوي بذور المورينجا على مادة تندف طبيعية فعالة جداً في معالجة المياه. هذه الفعالية ترجع إلى وجود بروتينات كاتيونية نشطة تعمل كعامل ممتز ومخثر ومطهر.

خلال هذا العمل تمت دراسة مكونين رئيسيين للبروتين، وهما بروتين التندف MO2.1، والبروتين المضاد للفطريات Mo-CBP3. هذه البروتينات القابلة للذوبان في الماء والمقاومة للحرارة تتموضع في فجوات.

MO2.1 هي بروتين متكون من وحدتين متماثلتين ذو وزن جزيئي ضئيل ونشاط تندف طبيعي فعال للغاية. يتكون هذا البروتين من 60 حمض أميني بما في ذلك ثماني مناطق ذات شحنة موجبة. أما بالنسبة للهيكل الثنائي فهي تتكون رئيسياً من اللوالب ألفا.

البروتين MO2.1 بالإضافة إلى استخدامه كعامل تندف، فهو لديه نشاط مضاد للبكتيريا، وقد تم إثبات هذا النشاط بواسطة Cro-TEM على خلايا البيكتريا الاشريكية القولونية، حيث يظهر تلفاً في أغشية الخلايا البكتيرية من خلال دمج الاغشية الداخلية والخارجية، بالإضافة الى اندماج الحويصلات.

يوجد بروتين آخر مضاد للفطريات يسمى Mo-CBP3 هذا البروتين لديه القدرة على منع إنبات الجراثيم والنمو الفطري للفطريات. هذا البروتين لديه 4 أشكال متجانسة ولكن فقط Mo-CBP3-4 و Mo-CBP3-1 لها هيكل بلوري متاح. يتم ترتيب هذا الأخير بطريقة رئيسية تمنحه الاستقرار والمقاومة للحرارة.

من خلال أبحاثنا الببليوغرافية، تمكنا من التأكد من أن المورينجا أوليفرا هي شجرة معجزة لها مكان مهم كمورد غذائي وطبي واقتصادي، كما أنه مخثر طبيعي وبيولوجي وهو خيار مهم لتنقية المياه.

**الكلمات المفتاحية:** المورينجا أوليفرا، مياه الصرف الصحي، بروتينات التخثر، نشاط الندف، النشاط المضاد للبكتيريا

النشاط المضاد للفطريات، Mo-CBP3، MO2.1.



## *Dédicaces*

Avec l'aide et la grâce de Dieu j'achevé ce modeste travail que je dédie :

À ma très chère Mère SLIMANI Karima, qui m'a toujours encouragé, conseillé et pour sa compréhension, sa patience et son soutien moral.

À mon très cher Père Noureddine, qui m'a toujours encouragé, conseillé et soutenue dans mon travail.

À ma très chère Sœur Lina pour son soutien, son encouragement, son amour et sa tendresse.

A ma tendre grand-mère BEB AKILA qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse dieu lui prêter longue vie, santé et bonheur.

A la mémoire de mes grands-pères SLIMANI Sebti et MAZAOUI Mouhamed et à ma grand-mère BENOTHMANE Warda j'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde

À l'ensemble des familles : MAZAOUI et SLIMANI.

À mes chères oncles Hassen, Hichem, Moustafa, Abdelhak, Mes tantes Halima, Souad, Chahra, leurs époux RAHMANI Mourad, ZIOU Mouhamed, BOUCHAIR Hassen et épouses Fadila, Afaf, Houda, et Linda.

A tous mes cousins et cousines Walid, Emir, Abdou, Nasreddine, Khadidja, Malak, Zineb, Abd-raouf, Mouhamed, Rahma, Lina et Zahra.

A Mes amis Romeissa, Ghada, Manel et Nedjma pour toutes les épreuves et les souvenirs inoubliables partagés ensemble.

A Toute la promotion de Biotechnologie et Génomique Végétale 2019-2020.



**Sara Narimane**



## *Remerciements*

Tout d'abord, je tiens à remercier le « **BON DIEU** » le tout puissant de m'avoir accordé patience, courage, santé et volonté afin de réaliser ce modeste travail.

J'adresse tout d'abord toute ma gratitude à **Mm. KACEM Sandra Nadia**, qui a accepté de m'encadrer, pour sa patience, sa confiance, sa gentillesse, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont mené à bien ce travail et qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je remercie Madame la présidente **HAMMOUDA Dounia** et Madame l'examinatrice **BOUCHEMAL Karima**, qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir examiner, corriger et juger avec attention mon travail.

Mes vifs remerciements vont aussi à toutes les personnes qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail en particulier : **Mr. TAHKOUBIT Abdelhakim**, et **Dr. LACHEHEUB Mohammed Nassim**.

Je désire remercier également tous mes enseignants qui m'ont aidé et qui ont contribué à ma formation durant la période de mes études universitaires.

Et enfin, je remercie toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail qu'ils trouvent ici mes sincères et profondes gratitude.



# Table des matières

**Liste des abréviations et des acronymes**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction 1**

**Chapitre I : Généralités sur *Moringa oleifera***

1.	Historique et répartition géographique	3
2.	Classification taxonomique	3
3.	Description botanique de <i>Moringa oleifera</i>	4
3.1.	Arbre	4
3.2.	Ecorce	5
3.3.	Racine	6
3.4.	Feuilles	7
3.5.	Fleurs	8
3.6.	Fruit	9
3.7.	Graines	10
4.	Exigences écologiques de <i>Moringa oleifera</i>	11
5.	Valeurs nutritives de <i>Moringa oleifera</i>	12
5.1.	Composition chimique des feuilles	12
5.2.	Composition chimique des graines	13
5.2.1.	Lipides	13
5.2.2.	Protéines	13
5.2.3.	Molécules bioactives	14
6.	Quelques propriétés et domaines d'utilisation de <i>Moringa oleifera</i>	15
6.1.	Propriétés antifongiques	15
6.2.	Engrais biologique	15
6.3.	Accélérateurs de croissance végétale	15
6.4.	Alimentation animale	17
6.5.	Consommation humaine	18
6.6.	Vertus thérapeutiques	19
6.7.	Coagulation du lait et industrie fromagère	20
6.8.	Propriétés industrielles	20
6.9.	Fabrication de biodiesel	20
6.10.	Source de biogaz	20

6.11.	Purification d'eau	21
-------	--------------------	----

**Chapitre II : Dépollution des eaux usées**

1.	Pollution de l'eau	22
2.	Origines des pollutions des eaux	22
3.	Risques de la pollution des eaux usées	23
3.1.	Risques sanitaires	23
3.2.	Risques environnementaux	23
4.	Procédés d'épuration	24
4.1.	Procédés physiques	24
4.2.	Procédés chimiques	24
4.3.	Procédés physico-chimiques	25
4.4.	Procédés biologiques	25
4.4.1.	Traitement biologique intensif	25
4.4.1.1.	Lits bactériens	25
4.4.1.2.	Disques biologiques	25
4.4.1.3.	Boues activées	26
4.4.2.	Traitement biologique extensive	26
4.4.2.1.	Lagunage	26
4.4.2.2.	Phytoépuration	26
4.4.2.2.1.	Avantages et inconvénient de la phytoépuration	27
5.	Traitements des eaux usées par les graines de <i>Moringa oleifera</i>	28
5.1.	Agent adsorbant	28
5.2.	Agent coagulant-floculant	28
5.3.	Agent désinfectant	29
5.3.1.	Effet des grains de <i>M. oleifera</i> sur les coliformes	30
5.3.2.	Effet des grains de <i>M. oleifera</i> sur les streptocoques	30
5.3.3.	Effet de <i>M.oleifera</i> sur les spores de Clostridium sulfito-réducteurs	30
5.3.4.	Effet de <i>M.oleifera</i> sur les germes pathogènes	31

**Chapitre III : Caractérisation moléculaire de quelques protéines épuratrices des graines de MO**

1.	Immuno-localisation des protéines coagulantes	33
2.	Thermo-résistance des protéines coagulantes	34

3.	Potentiel hydrogène et nature électrique	34
4.	Solubilité des protéines coagulantes	35
5.	Poids moléculaire des protéines coagulantes	35
5.1.	La protéine MO2.1	35
5.2.	La protéine Mo-CBP3	37
6.	Structure de la protéine MO2.1 et distribution de la charge électrique	38
6.1.	Séquence nucléotidique et structure primaire de la MO2.1	38
6.2.	Structure secondaire et distribution de la charge de la MO2.1	39
7.	Activité antibactérienne de la protéine MO2.1	41
8.	Activité floculante de la protéine MO2.1	44
9.	Activité antifongique de la protéine Mo-CBP3	47
10.	Isoformes de la protéine Mo-CBP3	47
11.	Structure primaire et secondaire des isoformes de la Mo-CBP3	47
11.1.	Structure primaire de la Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4	47
11.2.	Structure secondaire de la Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4	48
12.	Distribution de la charge électrique des isoformes de la Mo-CBP3	50
12.1.	Distribution de la charge électrique de la Mo-CBP3-1	50
12.2.	Distribution de la charge électrique de la Mo-CBP3-4	51
13.	Mécanisme d'action des protéines coagulantes	52

#### **Chapitre IV : Etude *in silico* des gènes de MO**

1.	Définition de la bio-informatique	55
2.	Buts de la bio-informatique	55
3.	Banques de données biologiques	56
4.	Outils de la bio-informatique	58
5.	Recherche des protéines par GENBANK	60
	<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>75</b>
	<b>Références bibliographiques</b>	<b>78</b>

## Liste des abréviations et des acronymes

<b>Bt</b>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<b>CM cellulose</b>	Carboxy-méthyl cellulose
<b>Cryo-Tem</b>	Cryo tomographie électronique
<b>DDBJ</b>	DNA Data Bank of Japan
<b>DEAE cellulose</b>	Di-éthyl-amino-éthyle cellulose
<b><i>E.coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EB</b>	Eau brute
<b>EBI</b>	The European Bioinformatics Institute
<b>EBM</b>	Eau brute traité avec <i>Moringa oleifera</i>
<b>EDL</b>	Double couche électrique
<b>EE</b>	Eau épurée
<b>EMBL</b>	The European Molecular Biology Laboratory
<b>ES</b>	Eau de sortie
<b>FAO</b>	Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
<b>FITC</b>	Isothiocyanate de fluorescéine
<b>GK</b>	Rats Goto-Kakizaki
<b>KEGC</b>	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
<b>MO</b>	<i>Moringa oleifera</i>
<b>Mo-CBP</b>	<i>Moringa oleifera</i> chiting bending protein
<b>MOCP</b>	<i>Moringa oleifera</i> cationic protein
<b>MO<sub>n</sub></b>	<i>Moringa oleifera</i> nano-micelle
<b>NCBI</b>	Nation center for biotechnology and information
<b>OMIM</b>	Online Mendelian Inheritance in Man
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>PDB</b>	Protein Data Bank
<b>RefDoc</b>	Portail de ressources documentaires
<b>SDS-PAGE</b>	Sodium Dodecyl Sulfate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
<b>Transeq</b>	Sequence Translation Sites
<b>VectorDB</b>	Vector Data Base

<b>Figure 1</b>	Arbre de <i>Moringa oleifera</i>	5
<b>Figure 2</b>	Écorce d'un arbre mature de <i>Moringa oleifera</i>	6
<b>Figure 3</b>	Racine de <i>Moringa oleifera</i>	7
<b>Figure 4</b>	Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	8
<b>Figure 5</b>	Fleurs de <i>Moringa oleifera</i>	9
<b>Figure 6</b>	Fruits de <i>Moringa oleifera</i>	10
<b>Figure 7</b>	Graines de <i>Moringa oleifera</i>	11
<b>Figure 8</b>	Coloration du jaune d'œuf des poules pondeuses nourries ...	17
<b>Figure 9</b>	L'eau de la station d'Iben Ziad avant et après l'ajout de la graine...	29
<b>Figure 10</b>	Effet de <i>M. oleifera</i> sur les spores de Clostridium sulfito-réducteurs...	31
<b>Figure 11</b>	Effet de <i>Moringa oleifera</i> sur les Pseudomonas.	32
<b>Figure 12</b>	Immuno-localisation des protéines coagulantes de <i>M.oleifera</i>	33
<b>Figure 13</b>	Analyse du poids moléculaire des protéines coagulantes de <i>M. oleifera</i>	36
<b>Figure 14</b>	Profils protéiques montrant l'homodimère et l'activité de coagulation du MO2.1.	37
<b>Figure 15</b>	Analyse tricine SDS-PAGE de la protéine Mo-CBP3	38
<b>Figure 16</b>	Séquence nucléotidique de la protéine MO2.1	39
<b>Figure 17</b>	Composition en acides aminés de la protéine MO2.1	39
<b>Figure 18</b>	Distribution de la charge positive de la protéine MO2.1	40
<b>Figure 19</b>	Structure secondaire prédite de la protéine MO2.1	41
<b>Figure 20</b>	Action de la protéine MOCP sur les cellules d' <i>E.coli</i>	42
<b>Figure 21</b>	Propriétés hydrophobes et hydrophiles de la structure antibactérienne de la protéine MO2.1.	43

<b>Figure 22</b>	Étapes de la fusion des membranes lipidiques en présence du MOCP.	44
<b>Figure 23</b>	Agglomération de particules de montmorillonite par la protéine MO2.1	45
<b>Figure 24</b>	Agrégation des bactéries <i>Paenibacillus</i> par la protéine MO2.1	46
<b>Figure 25</b>	Effet de floculation de la MOCP sur la bactérie <i>E.coli</i> (D31) et <i>B.thuringiensis</i> (Bt7)	46
<b>Figure 26</b>	Séquence primaire de de la protéine Mo-CPB3-4 avec mise en évidence des différences avec la protéine Mo-CPB3-1	48
<b>Figure 27</b>	Structure générale de la protéine Mo-CBP3-1	49
<b>Figure 28</b>	Structure cristalline et les zones polaire et non polaire de la protéine Mo-CPB3-4	50
<b>Figure 29</b>	Distribution de la charge de surface de la protéine Mo-CBP3-1	51
<b>Figure 30</b>	Distribution de la charge de surface de la protéine Mo-CBP3-4	52
<b>Figure 31</b>	Mécanisme de coagulation-floculation par les protéines de <i>Moringa oleifera</i>	53
<b>Figure 32</b>	Charge électrique entourant une particule colloïdale	54

<b>Tableau 1</b>	Classification taxonomique de <i>Moringa oleifera</i>	4
<b>Tableau 2</b>	Noms vernaculaires de <i>Moringa oleifera</i>	4
<b>Tableau 3</b>	Principales exigences écologiques de <i>Moringa oleifera</i>	12
<b>Tableau 4</b>	Composition en acides aminés des graines de <i>M. oleifera</i>	14
<b>Tableau 5</b>	Quelques résultats obtenus par aspersion foliaire...	16
<b>Tableau 6</b>	Avantages et inconvénients de la phytoépuration	27
<b>Tableau 7</b>	Les banques de données biologiques	56
<b>Tableau 8</b>	Les outils de la bio-informatique	58
<b>Tableau 9</b>	Rechercher sur NCBI de la séquence d'intérêt MO2.1	61
<b>Tableau 10</b>	La recherche d'homologie de la séquence d'intérêt MO 2.1 ...	63
<b>Tableau 11</b>	Rechercher sur NCBI de la séquence d'intérêt Mo-CBP3	67
<b>Tableau 12</b>	La recherche d'homologie de la séquence d'intérêt Mo-CBP3 ...	70

# Introduction

L'approvisionnement en eau potable suffisamment clarifiée et de haute qualité peut être problématique et parfois dangereux pour la santé. L'eau est particulièrement vulnérable à la contamination par les rejets de déchets de diverses industries, parmi lesquelles les métaux lourds sont les composants les plus importants. Contrairement aux substances toxiques organiques, qui peuvent être dégradées, les espèces métalliques inorganiques sont immuables et persistent indéfiniment dans l'environnement. La nature non biodégradable de la plupart des métaux conduit à l'accumulation potentielle des éléments toxiques dans l'environnement et à une exposition dangereuse de l'homme via l'eau ou la nourriture (**Sharma et al. 2006**).

Divers coagulants synthétiques à base d'aluminium, de sels ferriques et de soude sont largement utilisés bien que leurs sécurités pour la santé lors d'une exposition à long terme puisse induire l'Alzheimer et bien d'autres maladies (**Chantrel, 2002**). Récemment, de nombreux rapports ont fait état d'un lien possible entre des niveaux élevés d'aluminium résiduel et plusieurs troubles médicaux, ce qui a suscité un intérêt mondial pour la recherche d'un coagulant de substitution plus sûr pour la santé et sans danger pour l'environnement (**Tejavath, 2011**).

Des alternatives naturelles aux coagulants et aux désinfectants actuellement utilisés ont été envisagées, y compris les plantes cultivées dont les Capparidaceae, les Papilionaceae et les Moringaceae, cette dernière bien qu'elle est très similaire aux Capparidaceae, forment une famille à part entière comprenant un genre (*Moringa*) avec 14 espèces dont *Moringa oleifera* (**Hedji et al. 2014**). Cet arbre tropical, qui possède un énorme potentiel et des propriétés bénéfiques pour l'humanité, a une importance considérable en tant qu'agent floculant et désinfectant. En effet, contrairement aux autres coagulants naturels, les graines du *Moringa* présentent une activité floculante naturelle et plus efficace avec une réduction de la turbidité de 92-99% (**Ghebremichael et al. 2005**).

Plusieurs groupes de recherche ont étudié l'activité de coagulation des protéines de *Moringa oleifera*. Bien que de nombreuses recherches fassent état du potentiel élevé des graines, il existe toujours une lacune dans l'isolement, l'identification et la caractérisation du poids moléculaire des protéines coagulantes actives (**Choudhary et Neogie, 2017**). Ainsi divers poids moléculaires de 6 à 16 kDa ont été signalés dans la littérature, dont des protéines cationiques dimériques avec un poids moléculaire d'environ 6,5 kDa et un pI supérieur à 9,6.

En effet, plus d'une famille de protéines ayant une activité de floculation sont présente dans la graine du Moringa avec les mêmes caractéristiques moléculaires d'où la difficulté d'étude (**Gassenschmidt et al. 1995**).

A ce jour deux composants protéiques principales ont été signalé : la protéine floculante et antibactérienne (MO2.1) et la protéine antifongique (Mo-CBP3) qui est la seule protéine dont la structure cristalline est disponible (**Moulin et al. 2019**).

Pour cela des travaux supplémentaires sur le génome et le protéome de *M. oleifera* sont clairement nécessaires pour en identifier leur nature exacte, et ainsi la possibilité de les utiliser comme une alternative prometteuse à la purification et la désinfection de l'eau (**Suarez et al. 2005**).

Dans ce contexte la présente étude a tenté de récolter quelques informations afin de contribuer à l'étude de quelques protéines coagulantes de *M. oleifera*, pour cela ce mémoire va s'articuler autour de trois chapitres :

- ✚ **Un premier chapitre**, où des généralités sur la plante *M. oleifera* seront présentées, ses majeures propriétés et ses divers champs d'utilisations.
- ✚ **Le deuxième chapitre**, vas être consacré à la pollution de l'eau de manière générale, ses conséquences, les différents procédés d'épurations et l'utilisation des graines *Moringa oleifera* dans la dépollution des eaux usées.
- ✚ **Le troisième chapitre**, portera quant à lui sur les caractéristiques moléculaires de quelques protéines coagulantes des graines de MO ainsi que leurs mécanismes d'action, en terminant par une conclusion faisant le point sur l'ensemble du travail.

**Chapitre I :**  
**Généralités sur *Moringa oleifera***

## 1. Historique et répartition géographique

*Moringa oleifera* est originaire d'Asie du Sud où elle pousse sur les contreforts de l'Himalaya, du nord-ouest de l'Inde, du Pakistan et de l'Afghanistan (Frah et Bouzad, 2018). C'est de l'Inde et du Pakistan que la culture du Moringa s'est étendue vers le Moyen-Orient puis l'Afrique, et tout le long de la ceinture tropicale, puis a gagné la Méditerranée et finalement les Indes Occidentales et qui a été ensuite distribué en Amérique Centrale, Amérique du Nord et les Caraïbes (Vilaseca et al. 2014). Aujourd'hui, le Moringa a une extension géographique très développée et on la retrouve dans la plupart des pays subtropicaux ou tropicaux à saison sèche, voire en zone aride en raison de son adaptabilité à un large éventail de types de sols, elle peut être trouvée même dans les sols les plus durs et les plus secs c'est le cas des pays d'Afrique (Mashela, 2017).

Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20<sup>ème</sup> siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes. On peut rencontrer cette espèce sur trois continents et dans plus de cinquante pays tropicaux et subtropicaux (Afrique, Arabie Saoudite, Sud-est asiatique, Iles du pacifique, Amérique du sud). Dans ces pays, elle est utilisée comme plante médicinale et alimentaire (Benkaddour, 2015).

## 2. Classification taxonomique

*Moringa oleifera* appartient à la famille mono-générique des arbustes et arbres des Moringaceae (Tableau 1), elle comprend environ 13 espèces (Laleye et al. 2015), les douze autres espèces sont bien connues : *M. arborea*, *M. borziana*, *M. concanensis*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. loongituba*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. pygmaea*, *M. rivaie*, *M. ruspoliana*, *M. stenopetala* (Hedji et al. 2014). *Moringa oleifera* est l'espèce la plus largement connue et utilisée (Laleye et al. 2015). C'est un arbre connu sous diverses appellations dans le monde (Tableau 2) :

Tableau 1. Classification taxonomique de *Moringa oleifera* (Laleye al. 2015).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Capparales
<b>Famille</b>	Moringaceae
<b>Division</b>	Magnoliophyte
<b>Genre</b>	Moringa
<b>Espèce</b>	<i>Moringa oleifera</i>

Tableau 2. Noms vernaculaires de *Moringa oleifera* (Yusoff, 2016).

Inde	Arabe	Anglais	Français
▪ Horseradish	▪ Shagara	▪ Drumstick tree	▪ Ben ailé
▪ Shajnah	▪ Habbah Ghaliah (حبة غالية)	▪ Ben oil tree	▪ Moringa
▪ Dumstick	▪ Rawag	▪ Never die tree	ailé
	▪ El Ben (البن)		▪ Morungue

### 3. Description botanique de *Moringa oleifera*

#### 3.1. Arbre

*Moringa* est une plante à croissance rapide qui, en fin de croissance, peut atteindre jusqu'à 10 à 15 m de hauteur et son diamètre jusqu'à 3 mètres (Neto et al. 2017). Elle possède une couronne ouverte en forme de parapluie, un tronc droit qui mesure 20 à 40 cm de diamètre, parfois très peu développé, en général, il atteint 1,5 à 2 mètres bien qu'il puisse parfois atteindre les 3 mètres de haut avant de se ramifier en branches. Ces branches poussent de manière désorganisées (Figure 1), son écorce est de couleur gris foncé violacé ou blanchâtre, et le feuillage est persistant (Yusoff, 2016).



**Figure 1.** Arbre de *Moringa oleifera*. **A** : Jeune arbre, **B** : Arbre mature (Muhl, 2010 ; Parotta, 2009).

### 3.2. Ecorce

L'écorce est gris blanchâtre, épaisse, molle, fissurée et liège, devenant rugueuse (Figure 2). Lorsqu'elle est blessée, l'écorce exsude une gomme qui est d'abord blanche mais qui devient brune rougeâtre ou noir brunâtre à l'exposition (Parrotta, 2009).



**Figure 2.** Écorce d'un arbre mature de *Moringa oleifera* (Parrotta, 2009).

### 3.3. Racine

Le système racinaire de *Moringa oleifera* est de structure tubulaire gonflée (**Figure 3**), tubéreuse de couleur blanche qui a une odeur piquante, doté de racines latérales plutôt clairsemées (**Parrotta, 2014**) et formé d'un pivot central qui peut s'enfoncer dans le sol jusqu'à 1,30 mètre de profondeur lui offrant ainsi une grande résistance à la sécheresse. Des racines secondaires issues du pivot central se ramifient ensuite latéralement jusqu'à constituer une chevelure dense (**Olson, 2001**).



**Figure 3.** Racine de *Moringa oleifera* (Valdés-Rodríguez et Pérez-Vázquez, 2019).

### 3.4. Feuilles

Les feuilles sont alternes, bipennées au sommet tripennées à la base, et caduc (Morton, 1991) (Figure 4), qui se développent principalement dans la partie terminale des branches, dont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposées plus une au niveau de l'apex (Olson, 2001), mesurant ainsi une longueur de 20 à 70 cm (Théophile, 2014). Elles sont recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont jeunes, et se présente sous forme d'ellipse ou ovales (Agroconsult, 2016).



**Figure 4.** Feuilles de *Moringa oleifera* (Photo prise le 01/06/2020).

### 3.5. Fleurs

Les fleurs mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires. De couleur blanches ou couleur crème, avec des points jaunes à la base (**Figure 5**), ces dernières sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable (**Hedji et al. 2014**). Elles sont constituées de cinq sépales symétriques et lancéolés, cinq pétales minces, spatulés, et symétriques à l'exception du pétale inférieur, et cinq étamines (**Paikra, 2017**).



**Figure 5.** Fleurs de *Moringa oleifera* (Muhl, 2010 ; Suryawanshi et Umate, 2018).

### 3.6. Fruit

Le fruit est une gousse à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm (**Figure 6B**) de long et de 2 cm de diamètre, ses côtés forment un triangle, la capsule a une extrémité aiguë, avec une surface bosselée qui pend des branches (**Foidl et al. 2001**). Les gousses immatures sont de couleur vert clair (**Figure 6A**), minces et tendres, devenant finalement marron et ferme à maturité (**Figure 6B**). Lorsqu'ils sont secs, ils s'ouvrent en trois parties, en libérant 12 à 35 graines (**Figure 7**).



**Figure 6.** Fruits de *Moringa oleifera*. **A :** Gousse immature, **B :** Gousse mature (Parrotta, 2009 ; Ali et al. 2010).

### 3.7. Graines

Les graines sont rondes, à trois angles elles ont un diamètre de 10 à 12 mm avec une coque marron semi-perméable. La coque présente trois ailes blanches (**Figure 7**) qui s'étendent de la base au sommet à 120 degrés d'intervalle, elles sont de 2 à 2,5 cm de long et de 0,4 à 0,7 cm de large (Agroconsult, 2016). Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an (Yusoff, 2016).

En moyenne une graine pèse 0,3 g et la coque représente 25% du poids de la graine (Leone et al. 2016).



Figure 7. Graines de *Moringa oleifera* (Ali et al. 2010).

#### 4. Exigences écologiques de *Moringa oleifera*

*Moringa oleifera* est une plante qui se plaît en milieu aride ou semi-aride et peut s'adapter aux différents types de sols (Benkaddour, 2015). Elle s'adapte à des milieux différents (Aberra, 2012). Cependant, un environnement venteux peut assécher les feuilles du Moringa et les forts vents peuvent casser les branches et même le tronc de l'arbre (Agroconsult, 2016). Le tableau 3 ci-dessous montre les principales exigences écologiques du Moringa qui favorisent son épanouissement.

**Tableau 3.** Principales exigences écologiques de *Moringa oleifera* (De saint-sauveur et Broin, 2010).

Paramètres	Valeurs
Climat	Tropical / Subtropical
Altitude	0 – 2000 mètres
Température	25 – 35 °C
Pluviométrie	250 mm – 2000 mm
Sol	Sableux / Limoneux / Sablo-limoneux
pH su sol	Légèrement acide à légèrement alcalin (5 à 9)

## 5. Valeurs nutritives de *Moringa oleifera*

### 5.1. Composition chimique des feuilles

Les feuilles du Moringa sont une excellente source de protéines, de calcium, de fer, de  $\beta$ -carotène, de vitamine C et de vitamine E (De saint sauveur et broin, 2010), présentant ainsi un complément nutritionnel idéal à la santé (Harimalala et al. 2015). De plus, les feuilles ont un taux de matière sèche élevée autour de 20-25% par rapport à la plupart des autres aliments végétaux. Cette particularité en fait un légume frais encore plus intéressant puisque 100 g de feuilles fraîches apporteront deux fois plus de nutriments que 100 g de la plupart des autres légumes (De saint sauveur et broin, 2010).

Des études ont montré que les jeunes feuilles du Moringa contiennent des teneurs élevées en fibre, notamment en cellulose brute avec 9,13 à 28,2% (Kakengi et al. 2007 ; Olugbemi et al. 2010). Elles sont aussi riches en alcaloïdes, flavonoïdes, et des composés phénoliques avec 0,67% à 3,4% des phénols totaux, ainsi que des teneurs assez importantes en saponines et tanins qui varient de 5 à 6,4 % et de 0,5% à 1,4% respectivement (Richter et al. 2003).

## 5.2. Composition chimique des graines

Des analyses nutritionnelles ont montré que les graines contiennent des minéraux (Calcium, magnésium, zinc ect...), des acides aminés essentiels, des acides gras et d'autres composés bioactifs y compris les protéines, les fibres, les carbohydrates et les huiles (Leone, 2016).

### 5.2.1. Lipides

L'huile végétale contenue dans les graines du Moringa représente 38 à 40% du poids de la graine, cette huile est connue sous le nom de "Behen" ou "Ben" (Abd-Rabou et al. 2016).

A l'exception de l'acide linoléique, cette huile qualifiée de qualité contient toutes les graisses insaturées contenues dans l'huile d'olive (Abd-Rabou et al. 2016), avec environ 20.98 % d'acides gras saturés et 78.99% d'acides gras insaturés, par rapport aux huiles végétales classiques qui contiennent généralement de l'acide oléique 'Omega 9' de l'ordre de 40 % (Agroconsult, 2016), cette richesse en acides gras monoinsaturés les rend plus stables à la rancidité oxydative (Nadeem et al. 2014).

### 5.2.2. Protéines

Les graines de *M. oleifera* représentent une source importante de protéines avec 31,4% (Leone, 2016). D'où sa qualité nutritionnelle, cette dernière dépend en premier lieu des teneurs en acides aminés essentiels notamment la lysine, l'histidine, l'arginine, phénylalanine, valine, l'isoleucine, thréonine et la méthionine (Tableau 4), et en second lieu de sa biodisponibilité après digestion et absorption (James et Zikankuba 2017).

**Tableau 4.** Composition en acides aminés des graines de *M. oleifera* (James et Zikankuba 2017).

Acides aminés	mg/100g
Lysine*	312
Histidine*	1930
Valine*	1080
Leucine	3830
Isoleucine*	4230
Thréonine*	3020
Alanine	5160
Acide aspartique	1570
Sérine	3060
Proline	2180
Acide glutamique	17870
Glycine	2370
Arginine*	8280
Cystéine	1680
Tyrosine	1970
Méthionine*	310
Phénylalanine*	3270

\*Acides aminés essentiels

### 5.2.3. Molécules bioactives

La graine de *M. oleifera* est riche en alcaloïdes (Moringine) (Leone, 2016), les glucosinolates, les isothiocyanates et les thiocarbamates (Jaja-Chimedza et al. 2017). D'autres études ont aussi montré la présence des stérols, des glycosides, des alcaloïdes, des tri-terpénoïdes, des flavonoïdes, des anthraquinones, des caroténoïdes et des tannins ce qui affirme le pouvoir antioxydant de cette plante (Alhakmani et al. 2013).

## 6. Quelques propriétés et domaines d'utilisation de *Moringa oleifera*

Cette plante miracle possède plusieurs propriétés et utilisations incommensurables qui rendent son importance au sein de nos vies et celle de l'économie primordiale, parmi eux :

### 6.1. Propriétés antifongiques

La germination et la croissance mycélienne de champignons phytopathogènes peut être inhibée par la liaison de la *Moringa oleifera*-Chitin Bending Protein 3 (Mo-CBP3) à la chitine ; cette dernière est hautement thermostable et résistante aux changements de pH (Freire et al. 2015). Aussi la protéine Mo-CBP2 a la capacité d'augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire et à induire la production endogène d'espèces réactives à l'oxygène chez la levure *Candida albicans* (Neto et al. 2017).

### 6.2. Engrais biologique

Des études réalisées par Emmanuel et al. (2011), sur une ferme de maïs pendant trois saisons de culture, ont montré que les engrais organiques dérivés des graines de *Moringa Oleifera* pouvaient :

- Augmenter l'aération du sol et la richesse des invertébrés indigènes, des arthropodes bénéfiques, des vers de terre, symbiotes et microbes.
- Jouer un rôle important pour la fertilisation du sol en améliorant les éléments nutritifs de celui-ci.
- Améliorer la croissance des plantes dans un court laps de temps.

### 6.3. Accélérateurs de croissance végétale

L'extrait à l'éthanol à 80 % obtenu à partir des feuilles du *Moringa* contient des facteurs de croissance (hormones du type cytokinine). Cet extrait peut être utilisé en aspersion sur les feuilles pour accélérer la croissance des jeunes plants. Ce traitement aux hormones de croissance augmente aussi la robustesse des plants et leur résistance aux maladies. De plus, les fruits sont plus abondants et plus gros, ce qui augmente le rendement des arbres lors de la récolte (Tableau 5). L'extrait s'obtient soit par pressage, soit à l'aide d'un ultra-turrax avec filtration de 20 g de feuilles tendres dans un volume total de 675 ml d'éthanol à 80 % (Makkar et Becker, 1996).

L'aspersion des feuilles avec l'extrait du Moringa dilué dans de l'eau, produit des effets significatifs : croissance plus vigoureuse sur un cycle de vie plus long ; racines, tiges et feuilles plus robustes, fruits plus gros, teneur plus élevée en sucres, etc. L'utilisation de cet extrait permet d'augmenter globalement les rendements de 20 à 35 %, ces chiffres ont été obtenus à partir de données sur le diamètre des tiges, le nombre de nodules, de bourgeons axillaires, de bourgeons floraux et de fruits par bourgeon floral (Foidl et al. 2001).

**Tableau 5.** Quelques résultats obtenus par aspersion foliaire d'une phytohormone naturelle extraite du Moringa (Foidl et al. 2001).

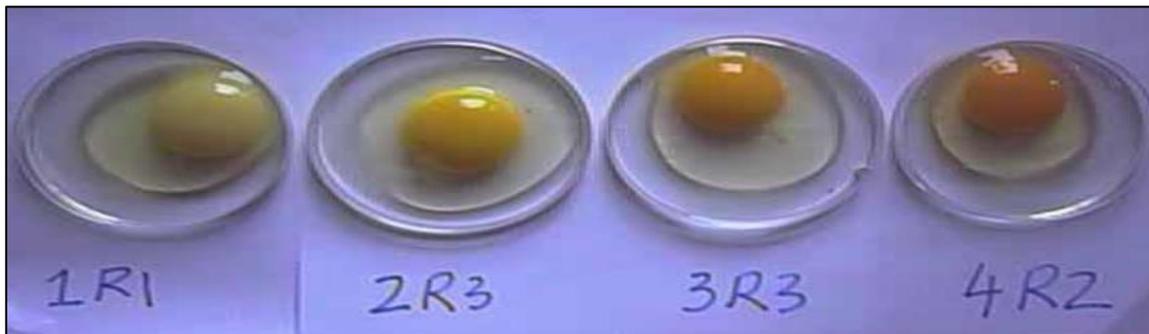
<b>Culture</b>	<b>Effets de l'hormone du Moringa</b>	<b>Rdt avec hormone (kg/manzana*)</b>	<b>Rdt sans hormone (kg/manzana*)</b>
<b>Arachide</b>	Fleurs plus grandes Rendement amélioré Fruits de meilleure qualité	3 750	2 954
<b>Soja CEA-CH 86</b>	Fleurs plus grandes Biomasse plus élevée Rendement amélioré	2 182	1 591
<b>Maïs NB-6</b>	Rendement amélioré	6 045	4 454
<b>Sorgho H887-V2</b>	Rendement amélioré	3 234	2 787
<b>Cantaloup</b>	Moins de chutes de fleurs après pollinisation Pourcentages plus élevés en sucres et minéraux	11 592	8 820
<b>Café</b>	Grains plus gros Formation des fèves améliorée	1 682	1 409
<b>Canne à sucre</b>	Plus de pousses par souche plantée Pourcentages de sucres et minéraux plus élevés	82 400	77 320

\* 1 manzana = 0,705 hectares ou 7 050 m<sup>2</sup>. Données du projet Biomasa (1999).

#### 6.4. Alimentation animale

Avec des quantités négligeables de tannins (1,4%), *M.oleifera* présente une source de fourrage de très bonne qualité et facilement accessible (Foidl et al. 2001).

Kakengi et al. (2007) ont montré que la farine de *M. oleifera* peut remplacer jusqu'à 20 % la principale source protéique des poules pondeuses sans entraîner d'effets néfastes sur la ponte. En effet l'incorporation de la farine des feuilles du Moringa en substitution au tourteau de soja, a montré une amélioration significative sur la coloration du jaune d'œuf (Figure 8) (Bello, 2010), de la productivité et de la consommation alimentaire chez ces dernières (Kakengi et al. 2007), cette coloration revient à l'existence des pigments  $\beta$ -carotènes dans les feuilles (Mbora et al. 2004).



**Figure 8.** Coloration du jaune d'œuf des poules pondeuses nourries aux rations contenant respectivement 0% (1R1), 5% (2R3), 10% (3R3) et 20% (4R2) de farine de feuilles de *Moringa oleifera* (Bello, 2010).

D'autres études ont montré que l'ajout des feuilles du Moringa dans l'alimentation des chèvres caprins a amélioré la consommation, le gain moyen quotidien et le poids vif de celles-ci (Sarwatt et al. 2004). En effet, Hedji et al. (2014) ont montré que l'incorporation des feuilles de *M.oleifera* augmente considérablement le gain moyen quotidien des bovins de boucherie et la production de lait de 30% et de 7-10 L/jour, respectivement.

Le Moringa présente le net avantage de produire une grande quantité de matière fraîche à l'unité de surface par rapport à d'autres plantes fourragères. C'est une source de fourrage particulièrement intéressante tant en termes économiques qu'en termes de productivité, compte tenu des problèmes que connaissent les éleveurs (**Foidl et al. 2001**).

### **6.5. Consommation humaine**

La grande teneur en fer, protéines, et diverses vitamines et acides aminés essentiels font des feuilles du Moringa un allié contre la malnutrition (**Saini et al. 2016**) et un excellent complément alimentaire pour la femme enceinte en favorisant l'allaitement (**Yang et al. 2006**).

En effet les feuilles peuvent se consommer fraîches ou en poudre (**Broin, 2005**) et même associées aux épices comme le piment, elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade. Les jeunes gousses vertes peuvent être consommées bouillies comme des haricots. Les graines sèches peuvent être réduites en poudre et utilisées pour assaisonner les sauces, et les fleurs peuvent également être consommées comme salade (**Foidl et al. 2001**). L'huile de *Moringa oleifera* est utilisée comme huile végétale comestible et également comme huile de cuisson (**Foidl et al. 2001**).

Des études montrent que 100 grammes de feuilles fraîches de *Moringa oleifera* contiennent (**Jideani et Diedericks 2014**) :

- 3 fois plus de potassium que la banane.
- 2 fois plus de protéine et 4 fois plus de calcium que le lait.
- 4 fois plus de vitamines A que les carottes.
- 7 fois plus de vitamines C que les oranges.
- 3 fois plus de vitamines E que l'épinard.
- 3 fois plus de fer que l'amande.

Ainsi, la consommation de 100 grammes de feuilles fraîches de *Moringa oleifera* peut couvrir (**De saint Sauveur et Broin, 2010**) :

- ❖ Entre 30 et 100% des apports journaliers recommandés en calcium (30 à 50% pour les adolescents, 40 à 60% pour les adultes, les enfants, les femmes enceintes ou allaitantes, et 80 à 100% pour les enfants en dessous de 3 ans).
- ❖ Entre 25 et 80% des apports journaliers recommandés en fer (25% pour les femmes enceintes, 40 à 60% pour les adolescents et les femmes, 50 à 100% pour les hommes et les enfants).

## 6.6. Vertus thérapeutiques

Le Moringa a longtemps été utilisé en phytothérapie par les Indiens et les Africains. La présence de composés phytochimiques en fait un bon agent médicinal (**Gopalakrishnan et al. 2016**). Les feuilles, les fruits, les graines, les racines, l'écorce ainsi que les fleurs sont traditionnellement utilisées dans diverses applications thérapeutiques, en particulier l'anémie, la perte d'appétit, les douleurs gastriques, l'ulcère à l'estomac, la diarrhée, la dysenterie, la colique, et même la régulation du taux de glycémie et de la tension artérielle (**Théophile, 2014**).

Des travaux menés par **Kumar et Mandapaka (2013)** ont montré l'activité hypoglycémique et hypocholestérolémique chez des personnes obèses atteintes de diabète de type II. Sous une autre forme, **Ndong et al. (2007)** ont étudié l'utilisation de la poudre de feuille de moringa chez les rats diabétiques GK, un modèle pertinent du diabète de type II chez les humains. Au cours de leurs essais, ils ont attribué les facteurs médiateurs qui contrôlent les taux de glycémie des rats diabétiques GK à la poudre de Moringa et à sa richesse en fibres (celle-ci contient environ 4% de fibre) et en flavonoïdes qui ralentissent l'assimilation du glucose par le sang et autres parties du corps.

De nos jours, les feuilles du Moringa sont très utilisées dans certains programmes de lutte contre la malnutrition en particulier au Sénégal, en Inde, au Bénin et au Zimbabwe (**De saint sauveur et Broin, 2010**).

Cependant, une nouvelle approche thérapeutique a été mise en évidence pour la prévention des cancers colorectaux et mammaires, par la nano-micelle de l'huile des graines de *Moringa oleifera* (MOn) qui déclenche la cytotoxicité du cancer par un

dysfonctionnement et l'apoptose mitochondriale, tout en épargnant les cellules normales avec un effet cytotoxique minime (Abd-Rabou et al. 2016).

### 6.7. Coagulation du lait et industrie fromagère

Sánchez-Muñoz et al. (2017) ont montré que l'extrait de graines de *M. oleifera* a une forte activité de coagulation du lait. Cet extrait de graines est composé de substances protéiques et génère une activité de coagulation du lait appropriée pour la fabrication du fromage, il peut être utilisé comme source potentielle d'un substitut de présure. Cette étude a conclu que l'extrait de graines de *M. oleifera* peut être utilisé avec succès pour la fabrication du fromage avec des avantages nutritionnels, ainsi que plusieurs applications industrielles (Sánchez-Muñoz et al. 2017).

### 6.8. Propriétés industrielles

Grace à sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante, l'huile de *Moringa oleifera* est utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine comme l'horlogerie. Elle est également intéressante dans l'industrie cosmétique et de parfums.

Le bois de *Moringa oleifera* constitue aussi une excellente pâte à papier grâce à sa teneur élevée en fibres, et en cellulose brute (Olugbemi et al. 2010).

### 6.9. Fabrication de biodiesel

Le biodiesel est une alternative renouvelable au carburant à base de pétrole, qui peut être mélangé avec de l'essence-diesel. Il peut être fabriqué à partir d'huile végétale, comme les huiles de *Moringa oleifera* par trans-estérification, qui est un processus dans lequel les triglycérides réagissent avec l'alcool (méthanol ou éthanol), en présence d'un catalyseur pour produire des esters alkyliques d'acides gras. Le biodiesel issu des huiles de *Moringa oleifera* a été décrit comme un carburant de haute qualité (Aliyu et al. 2013).

### 6.10. Source de biogaz

L'analyse chimique et spectroscopique a montré que la matière organique du moringa contient plus de 40% de graisses ayant un fort potentiel pour la production de biogaz (Tambone et al. 2019).

En effet, le moringa peut être utilisé comme substrat pour produire du biogaz par digestion anaérobie. Combiné à des digesteurs à petite échelle et de faible technicité, cela peut représenter une bonne opportunité pour la production de bioénergie dans les pays en développement (**Tambone et al. 2019**).

### 6.11. Purification d'eau

Les graines de *Moringa Oleifera*, une fois transformées en poudre, deviennent un flocculant naturel qui peut clarifier les eaux troubles de manière à les rendre potables et utilisables. En effet, il a été démontré que les graines du Moringa constituent un coagulant de premier ordre (**Bardi et Fanni, 2015**). Cette propriété coagulante est due à leurs richesses en poly-électrolytes cationiques actifs (**Poumayea et al. 2012**) qui neutralisent les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques (**Foidl et al. 2001**).

Les extraits de graines de *Moringa oleifera* ont été utilisées pour le développement d'un nouveau protocole de traitement des eaux usées, en tant qu'adsorbant, coagulant et désinfectant révolutionnaire de l'eau de manière naturel, et respectueuse de l'environnement (**Idris et al. 2016**). Ce processus sera présenté plus en détail dans les chapitres qui suivent.

## **Chapitre II :**

# **Dépollution des eaux usées**

## **1. Pollution de l'eau**

La pollution des eaux est définie comme toute modification physique ou chimique de la qualité des eaux, qui a une influence négative sur l'écosystème et les organismes vivants qui rend l'eau inadéquate aux usages souhaités (**Manceur et Djaballah, 2016**). Donc on dit que l'eau est polluée, lorsque sa composition ou son état est directement ou indirectement modifié par des produits chimiques, des déchets industriels ou autres comme l'action de l'homme (**Ezziane, 2007**).

L'eau constitue l'élément majeur du monde minéral et biologique. Un des problèmes sérieux dans le monde est la mise à disposition des populations d'eau potable en particulier dans les pays en voie de développement. La production d'eau potable nécessite l'utilisation des produits chimiques. L'addition de sels d'aluminium pour la coagulation, entraîne souvent la présence dans l'eau de très fortes concentrations d'aluminium dissous, suspecté d'être l'une des causes de la maladie d'Alzheimer (**Chantrel, 2002**).

## **2. Origines des pollutions des eaux**

La pollution des eaux provient essentiellement des activités domestiques et industrielles ainsi que des précipitations, elle perturbe les conditions de vie de la flore et la faune aquatiques, et compromet également l'utilisation de l'eau et l'équilibre du milieu aquatique. On distingue quatre grandes catégories d'eaux usées : les eaux domestiques, les eaux pluviales, les eaux industrielles et les eaux agricoles (**Gommella et Gurree, 1983**).

Les eaux usées sont principalement de l'eau contenant une petite quantité de déchets solides (**Ouali, 2001**). Ces derniers sont essentiellement composés de matière organique d'origine animale ou végétale élaborés sous l'influence des microorganismes. L'inconvénient des matières organiques est de favoriser l'apparition de mauvais goût qui peut être augmentés par la chloration. Une eau riche en matière organique doit toujours être suspectée de contamination bactériologique (présence de coliformes fécaux ou de streptocoques fécaux) ou chimique. Leur teneur est appréciée, le plus souvent, par des tests tels que la réduction du permanganate de potassium en milieu acide et en milieu

alcalin. Les eaux très pures ont généralement une consommation en oxygène inférieur à 1 mg/l (**Berne et Jean, 1991**).

### **3. Risques de la pollution des eaux usées**

#### **3.1. Risques sanitaires**

Les eaux usées peuvent contenir des pesticides (**Himour et Guendouz, 2017**), des vibrions, des entérobactéries, des virus, des parasites, et des éléments toxiques qui présente un danger pour la santé humaine (**Moufouk, 2007**).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) considère que 80% des maladies qui affectent la population mondiale sont directement véhiculées par l'eau (**Himour et Guendouz, 2017**). Des dizaines, voire des centaines de millions de personnes sont atteintes en permanence de gastro-entérites, de paludisme, de tuberculose, de choléra, de méningite, d'affection respiratoire et des maladies de la peau (**Moufouk, 2007**).

#### **3.2. Risques environnementaux**

Il arrive que des déchets soient déversés directement dans le milieu naturel, par exemple la présence excessive de phosphates dans les milieux aquatiques favorise le phénomène d'eutrophisation, c'est-à-dire la prolifération d'algues qui diminue la qualité d'oxygène contenue dans l'eau ce qui peut provoquer la mort des poissons et des autres organismes aquatiques qui y vivent. Les métaux lourds comme le mercure, le chrome et l'arsenic peuvent avoir aussi des effets néfastes sur les espèces aquatiques les plus fragiles (**Sahnoun, 2015**).

D'autre part, la pollution des eaux usées présente un danger considérable pour les agriculteurs. En effet, une réduction de la productivité, la fertilité et le rendement sont observé suite à des problèmes présents au niveau du sol comme la salinisation, l'alcalinité, la réduction de la perméabilité du sol, et l'accumulation d'éléments potentiellement toxiques (**Himour et Guendouz, 2017**).

## 4. Procédés d'épuration

Il existe un certain nombre de procédés destinés à traiter les eaux usées parmi eux :

### 4.1. Procédés physiques

Ce sont des opérations de séparation de phases non-miscibles dont l'une est liquide (Hadj-Sadok, 1999). Parmi ces procédés, les plus courantes sont :

- **Le dégrillage**, permettant d'éliminer les corps flottants et les gros déchets par l'intermédiaire de grilles placées à travers un canal d'amenée afin de protéger les installations contre les obstructions (Alexandre et al. 1998).
- **La filtration**, passage d'un mélange liquide-solide à travers un milieu poreux (filtre) qui retient les solides et laisse passer les liquides (filtrat). Il existe deux types de filtration ; la filtration de surface ou en profondeur (Iwema et al. 2005).
- **La décantation**, utilisant les forces de gravité pour séparer les particules de densité supérieure à celle du liquide en provoquant leur dépôt (Bürger et wendland, 2001).
- **La centrifugation**, opération de séparation par action de la force centrifuge, du mélange entraîné dans un mouvement de rotation (Hadj-Sadok, 1999).
- **La flottation**, visant à séparer les phases solides des phases liquides par la poussée d'Archimède. En flottation naturelle, les floccs de faible densité remontent librement à la surface. La flottation assistée s'obtient par l'injection d'air (Norström, 2005).

### 4.2. Procédés chimiques

Ils sont très utilisés dans le traitement final des effluents. On peut citer les procédés suivants :

- **L'oxydation** par des agents tel que le chlore et l'ozone, qui agit sur les métaux, sur les matières organiques et détruit où inactive totalement ou partiellement les germes vivants, les virus et les bactéries (Hadj-Sadok, 1999).
- **Les échanges d'ions** sont des procédés de substitution d'ions sur des résines spécifiques (Hadj-Sadok, 1999).
- **La neutralisation ou l'acidification** agissent sur le pH de l'eau (Berland et al. 2001).

### 4.3. Procédés physico-chimiques

Elles sont utilisées en général comme moyens de traitement complémentaires, ces procédés combinent les principes de la chimie et de la physique (**Hadj-Sadok, 1999**). Certaines substances comme les colloïdes sont particulièrement stables en suspension et leur durée de décantation peut être trop longue. Afin de favoriser leur décantation, le décanteur est conditionné avec des réactifs chimiques qui facilitent l'agglomération des particules (**Berland et al. 2001**). Deux techniques sont utilisées (**Hadj-Sadok, 1999**) :

- **La coagulation**, annule les charges électriques des particules en suspension par l'ajout de réactifs minéraux.
- **La floculation**, provoque l'agglomération des particules déchargées par les coagulants. La fraction des floes peut être améliorée par addition de floculants.

### 4.4. Procédés biologiques

L'épuration biologique peut s'effectuer par voie aérobie ou anaérobie, c'est un procédé qui consiste à favoriser la prolifération des micro-organismes adaptés pour absorber la pollution organique contenue dans les eaux pollués (**Himour et Guendouz, 2017**). On distingue deux dispositifs :

#### 4.4.1. Traitement biologique intensif

##### 4.4.1.1. Lits bactériens

C'est un procédé aérobie à culture fixée qui consiste à faire ruisseler l'eau à traiter, préalablement décantée, sur une masse de matériau poreux de grande surface servant de support aux microorganismes épurateurs qui y forment un feutrage percolateur (**Bakiri, 2007**). Une aération est pratiquée soit par tirage naturel soit par ventilation forcée afin de ne pas perturber la fonction aérobie (**Himour et Guendouz, 2017**).

##### 4.4.1.2. Disques biologiques

Dans ce procédé, les micro-organismes sont fixés sur des disques demi immergés et tournant lentement (quelques tours par minute) autour d'un axe horizontal. La biomasse est ainsi alternativement mouillée par les eaux résiduaires et aérée par l'air ambiant. Cette

technique présente l'avantage d'être peu coûteuse en énergie mais peut entraîner l'émanation d'odeurs (Bakiri, 2007).

### 4.4.1.3. Boues activées

Ce système comprend deux compartiments principaux. Le premier est le bassin d'aération où ont lieu les activités biologiques de transformation des polluants biodégradables par l'intermédiaire des micro-organismes en suspension. Outre les matières organiques assimilées par les hétérotrophes, principaux constituants des boues activées, les composés azotés peuvent aussi être oxydés par des phénomènes de nitrification-dénitrification. Les bactéries floculantes utilisées dans ce système, ont la faculté de transformer les éléments ingérés en matière corpusculaire. Les floccs formés dans le bassin d'aération sont alors conduits vers un second compartiment appelé décanteur secondaire où a lieu la séparation des solides de la phase liquide par décantation (Bakiri, 2007).

### 4.4.2. Traitement biologique extensive

#### 4.4.2.1. Lagunage

Il s'agit d'un étang ou d'un système de lagunes mettant en œuvre une culture mixte alga-bactérienne. Suivant les profondeurs du bassin, on peut distinguer différents régimes de fonctionnement (Mancer, 2010).

En zone peu profonde, le traitement s'effectue dans des conditions d'aérobiose où les deux populations vivent en symbiose. Alors que des lagunes plus profondes, en plus de la zone supérieure aérobie, on peut distinguer une région intermédiaire facultative où la disponibilité de l'oxygène dépend de la lumière solaire. Le traitement a lieu dans des conditions d'aérobiose le jour, et en anaérobiose durant la nuit (Bakiri, 2007).

#### 4.4.2.2. Phytoépuration

La phytoremédiation c'est l'utilisation des plantes et des microorganismes qui leurs sont associés pour nettoyer l'environnement. C'est donc un ensemble de techniques *in situ* misant sur les plantes pour extraire, dégrader ou immobiliser les contaminants dans

les sols, les sédiments, les boues ainsi que dans l'eau de surface ou souterraine et dans l'air (**Henault-éthier, 2016**). C'est une ancienne technique qui connaît un intérêt de réhabilitation et de modernisation très sollicité par les petites et moyennes collectivités (**Benslimane et al. 2014**).

Elle est réalisée grâce à des bassins successifs, étanches, remplis de graviers et plantés de diverses espèces aquatiques, appelés macrophytes (**Allouche, 2006**). Ces macrophytes ont un rôle de structuration et d'aération du massif, tout en servant de support aux bactéries qui font l'essentiel du travail (**Brix, 1994**). Les graviers de granulométrie croissante évoluant vers la profondeur, permettent la filtration mécanique des eaux usées tout en captant les matières solides (**Alexandre et al. 1998**). Les végétaux fixent les colonies de bactéries sur la base de leurs tiges et leurs rhizomes, ce qui améliore les performances des organismes épurateurs. Par ailleurs, ils absorbent par leurs racines une partie d'environ 10 % des sels minéraux – nitrates et phosphates – issus de la décomposition de la matière organique présente dans les eaux usées. La plupart des macrophytes sont capable d'assimiler les métaux lourds, présents dans les eaux usées et nocifs pour l'environnement (**Allouche, 2006**).

#### 4.4.2.2.1. Avantages et inconvénient de la phytoépuration

Les avantages et les inconvénients rencontrés sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (**Zoubiedi, 2016**) :

**Tableau 6.** Avantages et inconvénients de la phytoépuration.

Avantages	Inconvénients
Méthode plus respectueuse de l'environnement.	Elle ne s'adapte qu'aux petites collectivités.
Simple maintenance et consomme peu d'énergie.	En cas de mauvais fonctionnement, risque d'odeurs qui pourrait apparaitre.
Bonne adaptation aux variations saisonnières.	Elle peut nécessiter l'installation d'une pompe de levage afin de faciliter l'écoulement de l'eau.

## 5. Traitements des eaux usées par les graines de *Moringa oleifera*

Les méthodes simples et peu coûteuses de traitement des eaux sont un critère essentiel de la durabilité des processus dans les pays en développement. C'est ce qui fait la force du *Moringa*, un arbre dont les graines sont utilisées pour le traitement des eaux usées. Ces dernières sont connues pour leur pouvoir floculant grâce aux protéines qu'elles contiennent permettant ainsi d'agréger les particules en suspension pour les éliminer ensuite par sédimentation ou filtration (**Benkaddour, 2015**).

Une littérature scientifique a révélé l'énorme utilité des extraits des graines du *Moringa* pour le traitement des eaux usées, en tant qu'adsorbant, coagulant et désinfectant (**Frah et Bouzad 2018**) :

### 5.1. Agent adsorbant

Plusieurs études ont montré que les graines du *Moringa* ont d'excellentes propriétés adsorbantes grâce à leurs protéines. En effet, les graines peuvent être utilisées pour réduire les concentrations en métaux lourds tels que : le fer, le cuivre, le zinc, l'aluminium, le plomb et le magnésium (**Fatombi et al. 2007**), par le mécanisme de patch électrostatique (**Nand et al. 2012**). Ce dernier consiste en l'adsorption et la neutralisation des protéines chargées positivement issues des graines, qui attirent les impuretés chargées négativement dans l'eau (colloïdales) (**Ravikumar et Sheeja, 2013**).

### 5.2. Agent coagulant-floculant

La coagulation-floculation est une méthode permettant d'éliminer la turbidité constituée, d'une part, de matières en suspension (minérales et organiques) et d'autre part de matières organiques dissoutes (**Kabore et al. 2013 ; Meenakshi et al. 2015**).

Il a été prouvé que *Moringa oleifera* est le meilleur coagulant naturel encore découvert, qui peut en effet, remplacer les floculants minéraux, tels que le sulfate d'alumine, qui est largement utilisé dans le monde entier (**Vilaseca et al. 2014**), une propriété qui permet de traiter l'eau de boisson, les eaux usées et les effluents d'usines (**Aruna et Srilatha, 2012**).

Plusieurs études ont montré une forte diminution de la turbidité après addition de la poudre des graines de *Moringa oleifera* (Figure 9) (Mangale et al. 2012 ; Benkaddour, 2015 ; Derdour, 2019).



**Figure 9.** L'eau de la station d'Iben Ziad avant et après l'ajout de la graine de *Moringa Oleifera*. **EB** : Eau Brute, **ES** : Eau de Sortie, **EBM** : Eau Brute traitée avec le Moringa, **ESM** : Eau Sortie traitée avec le Moringa (Derdour, 2019).

En effet, les graines contiennent des protéines chargées positivement qui se lient à une partie de la surface des particules minérale et organiques chargées négativement par des interactions électrostatiques (Milind et al. 2012). En raison de la collision de particules et de la neutralisation, il se produit des floccs (Amagloh et Benang, 2009) qui se déposent par sédimentation sous l'effet de la gravité, laissant l'eau trouble plus ou moins claire (Mangale et al. 2012 ; Atakpama et al. 2014 ; James et Zikankuba, 2017).

### 5.3. Agent désinfectant

La poudre des graines de *M. oleifera* possède des propriétés antimicrobiennes contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif comme *Staphylococcus*, les coliformes et

*Escherichia coli* (Ngandjui, 2019) pour traiter des eaux usées (Otunyo et Wokocha, 2015) et aussi contre les champignons et les cyanobactéries (Frah et Bouzad, 2018).

### **5.3.1. Effet des grains de *M. oleifera* sur les coliformes**

Les coliformes sont considérés comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale (Leyral et al. 2002). Des études ont montré que l'addition des graines de *Moringa oleifera* dans une eau contaminée diminue significativement le taux des coliformes totaux et fécaux avec un taux d'abattement de 99,99% (Benkaddour, 2015 ; Frah et Bouzad, 2018).

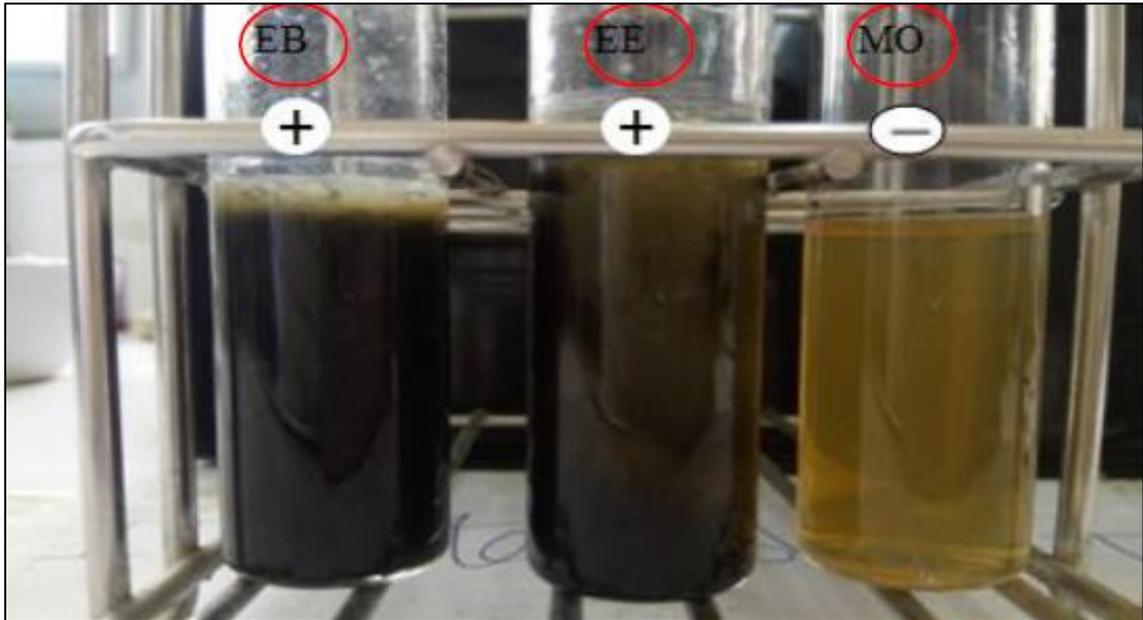
### **5.3.2. Effet des grains de *M. oleifera* sur les streptocoques**

Les streptocoques sont susceptibles de contaminer les eaux d'approvisionnement. Ils sont typiques des déjections animales et peuvent parfois être présents chez l'homme ou dans les végétaux (Bitton, 2005). Les travaux de Frah et Bouzad (2018), ont montré qu'après le traitement de l'eau avec les graines du Moringa, les concentrations en streptocoques fécaux ont régressé considérablement avec un taux d'abattement de 99.87%.

### **5.3.3. Effet de *M.oleifera* sur les spores de Clostridium sulfito-réducteurs**

Les spores des Clostridiiums peuvent survivre dans l'eau et dans l'environnement pendant plusieurs mois, elles ne seraient pas toujours inactivées par le chlore et par les rayons ultraviolets (Delarras, 2014).

D'après les analyses de Frah et Bouzad (2018) et Derdour (2019), le traitement avec les graines de *Moringa oleifera* a montré une élimination totale des spores Clostridium sulfito-réducteurs, avec un taux d'abattement de 100% (Figure 10).

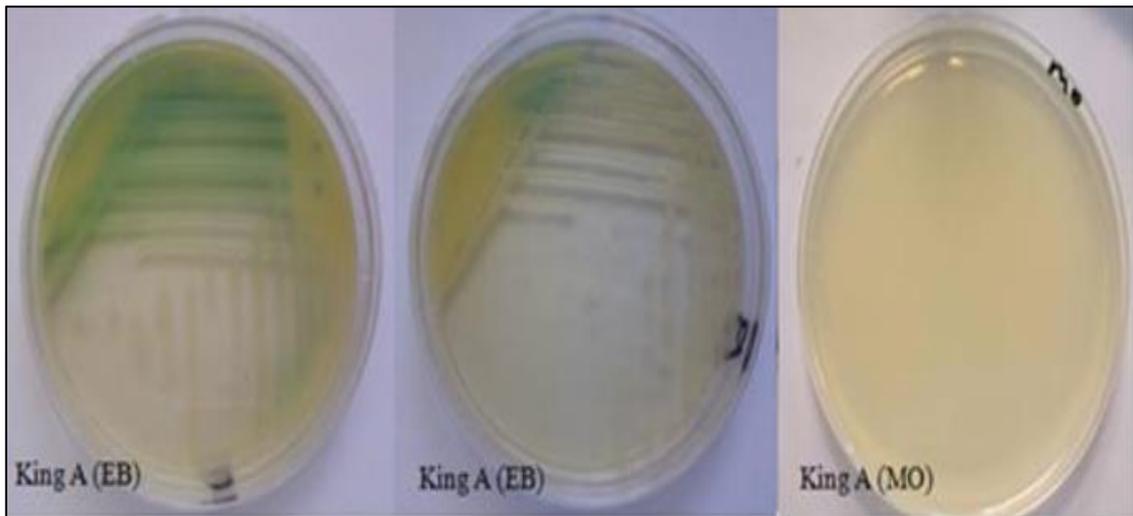


**Figure 10.** Effet de *M. oleifera* sur les spores de Clostridium sulfito-réducteurs dans trois types d'eau ; **EB** : eau brute, **EE** : eau épurée, **MO** : eau épurée avec *Moringa oleifera* (Frah et Bouzad, 2018).

#### 5.3.4. Effet de *M.oleifera* sur les germes pathogènes

*Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *pseudomonas*, et *staphylococcus aureus* occupent une place importante dans la pathologie humaine et animale. Ce sont les pathogènes les plus recherchés dans les eaux usées (Frah et Bouzad, 2018).

D'après les analyses de **Frah et Bouzad (2018)**, le traitement avec les graines de *Moringa oleifera* a montré une absence totale des germes pathogènes dans les eaux traitées par celles-ci (**Figure 11**), à l'exception des Staphylocoques où il a été signalé une réduction de 98%.



**Figure 11.** Effet de *Moringa oleifera* sur les *Pseudomonas*. **EB** : eau brute, **EE** : eau épurée, **MO** : eau traité avec *M.oleifera* (Frah et Bouzad, 2018).

De ces résultats, il ressort que le traitement des eaux brutes avec les graines de *M.oleifera* améliore considérablement la qualité microbiologique des eaux.

Tous ces résultats semblent très encourageants et les graines de la plante s'avèrent très efficaces pour la décontamination des eaux usées qui pourrait être réutilisées dans le domaine de l'agriculture. De plus, ils répondent aux exigences et normes nationales et internationales (OMS et FAO), concernant les caractéristiques des eaux d'irrigation (Frah et Bouzad, 2018).

Grâce à sa capacité épuratrice, cette plante attire l'attention de plusieurs chercheurs dans le monde. En 1995, Gassenschmidt et ses collaborateurs ont pu isoler une molécule parmi tant d'autre issue des graines du Moringa qui présentaient des propriétés floculantes (Foild et al. 2001). Cette molécule impliquée dans le mécanisme de coagulation et de purification des eaux usées, est dénommée *Moringa oleifera* 2.1 (MO2.1) (Broin et al. 2002). Cette protéine sera discutée plus en détail dans le chapitre qui suit.

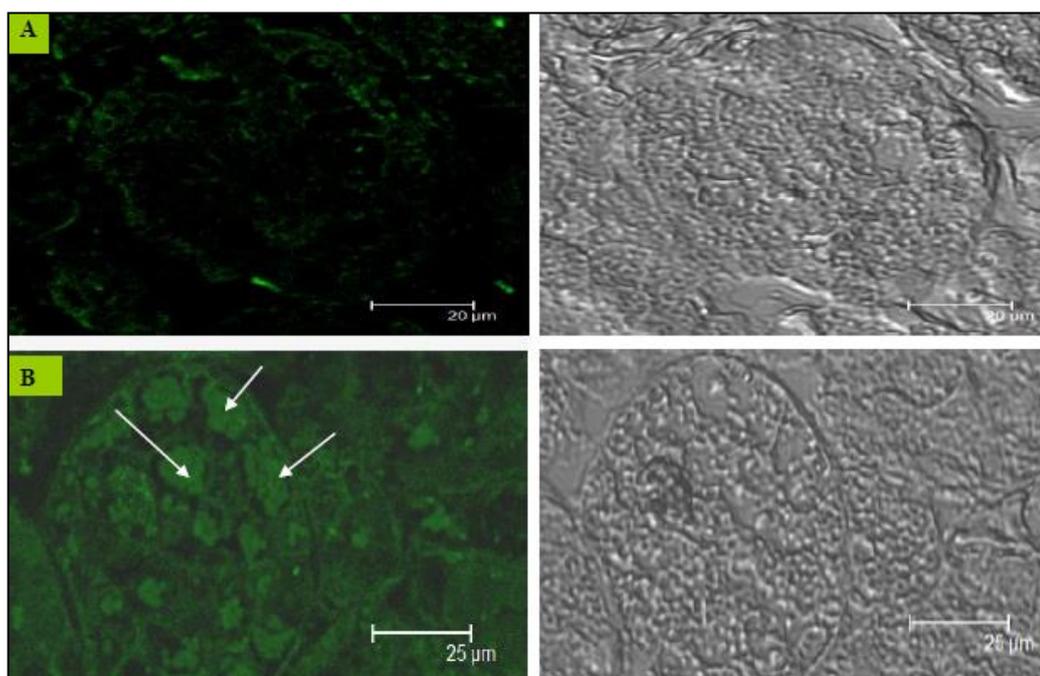
## **Chapitres III :**

**Caractérisation moléculaire de  
quelques protéines épuratrices  
des graines de MO**

## 1. Immuno-localisation des protéines coagulantes

Les études de **Tejavath (2011)** sur la localisation subcellulaire ont révélé que les protéines coagulantes sont accumulées dans les vacuoles de stockage, ces dernières ont montré une présence assez abondante dans les graines sèches. Cela signifie que ces protéines coagulantes sont des protéines de stockage.

En incubant les fines sections de la graine de *Moringa oleifera* avec l'IgG spécifique, et en utilisant un anticorps secondaire conjugué au FITC (Isothiocyanate de fluorescéine), il a été démontré que les protéines étaient effectivement localisées dans les vacuoles (**Tejavath, 2011**) (**Figure 12**).



**Figure 12.** Immuno-localisation des protéines coagulantes de *M.oleifera*. (A) Coupe transversale de la graine de *M.oleifera* testé avec du sérum pré-immun, et (B) avec l'antisérum de la protéine suivie d'une incubation avec un anticorps secondaire conjugué FITC (vert) (**Tejavath, 2011**).

## 2. Thermo-résistance des protéines coagulantes

Les travaux menés par **Ghebremichael et al. (2005)** ont permis de confirmer que la protéine coagulante est thermorésistante. En effet, la protéine conserve son activité de coagulation et reste fonctionnelle après un traitement thermique de 5 heures à 95 °C.

**Ghebremichael et al. (2005)** ont révélé que les rendements de coagulation des échantillons traités thermiquement étaient légèrement supérieurs à ceux des échantillons bruts. Pour des temps d'ébullition de 30 min à 5 h, la réduction de l'absorbance était de 79 à 87 %, alors que celle de l'échantillon brut elle était de 79 %. Une stabilité thermique aussi élevée rend le produit facile à traiter et à manipuler. Dans ce cas, le traitement thermique pourrait être utilisé pour décomposer les grosses molécules afin d'améliorer l'adsorption.

## 3. Potentiel hydrogène et nature électrique

Afin de déterminer la nature des charges portées par les protéines coagulantes, **Ndabigengesere et al. (1995)** ont utilisés une résine échangeuse de cations, à savoir la carboxy-méthyl-cellulose (CM cellulose) aussi utilisée comme méthode de purification, et une résine échangeuse d'anions le di-éthyl-amino-éthyle (DEAE Sephadex).

Ces expériences ont montré que les protéines actives portent des charges positives (**Ndabigengesere et al. 1995**). En effet lorsqu'une solution de Moringa a été appliquée sur de la cellulose DEAE, les protéines actives ne se sont pas liées. Cependant, avec la CM cellulose, les protéines actives étaient bien liées à cette dernière, cela qualifiera cette protéine coagulante de protéine cationique (**Ghebremichael et al. 2005**).

Concernant le potentiel hydrogène de ces molécules, des expériences ont été menées par l'iso-électrofocalisation en gels de polyacrylamide dans un gradient de pH de 3 à 11, en utilisant les protéines de Moringa purifiées de la colonne de la CM cellulose. Cela a montré que ces protéines avaient des points isoélectriques (pI) supérieur à 9,5 (**Ghebremichael et al. 2005**), entre 10 et 11 (**Ndabigengesere et al. 1995**), démontrant ainsi clairement leur nature hautement cationique (**Ghebremichael et al. 2005**).

#### 4. Solubilité des protéines coagulantes

Les essais de précipitation avec le sulfate d'ammonium ont montré que le précipité a d'excellentes propriétés coagulantes par rapport à celui de l'eau qui est loin d'être pure (protéines, lipides et glucides) (Ndabigengesere et al. 1995). Ces résultats suggèrent que les agents responsables de la coagulation et la floculation sont des protéines hydrosolubles (Ndabigengesere et al. 1995). Ce qui est cohérent avec les travaux de Gassenschmidt et al. (1995), qui proposent que les agents actifs sont des protéines solubles dans l'eau.

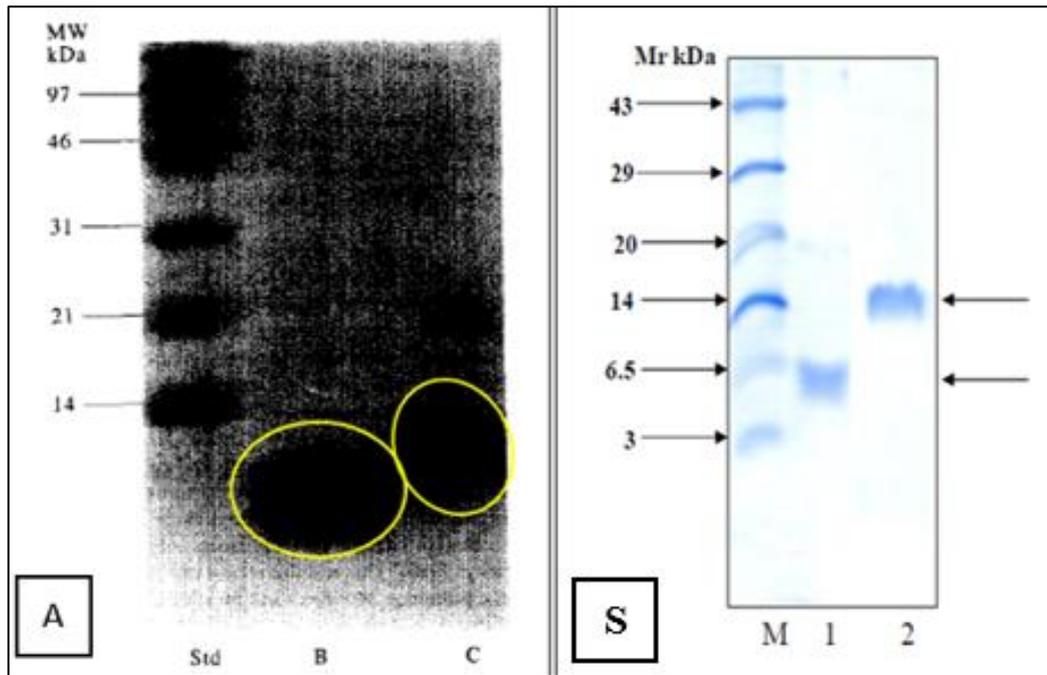
En effet, selon Okuda et al. (1999), il a été montré que l'extraction de l'agent coagulant préparé avec une solution saline (exemple : NaCl) est plus efficace que l'extraction avec de l'eau en raison du mécanisme de salage des protéines, dans lequel un sel augmente les dissociations protéine-protéine et la solubilité des protéines lorsque la force ionique du sel augmente (Okuda et al. 1999). Une augmentation de la quantité de protéines est observée par l'augmentation de la concentration du NaCl, à ce résultat il a été prouvé que l'agent floculant le plus efficace était obtenu à l'aide d'une solution saline de 1M (Ghebremichael et al. 2005 ; Madrona et al. 2012).

#### 5. Poids moléculaire des protéines coagulantes

Des études préliminaires sur les principes actifs de *Moringa oleifera* comme coagulant ont suggéré que les composants actifs sont des peptides cationiques d'un poids moléculaire allant de 6 à 16 kDa et d'un point isoélectrique supérieur à 9,5 entre 10 et 11 (Ndabigengesere et al. 1995 ; Ghebremichael et al. 2005).

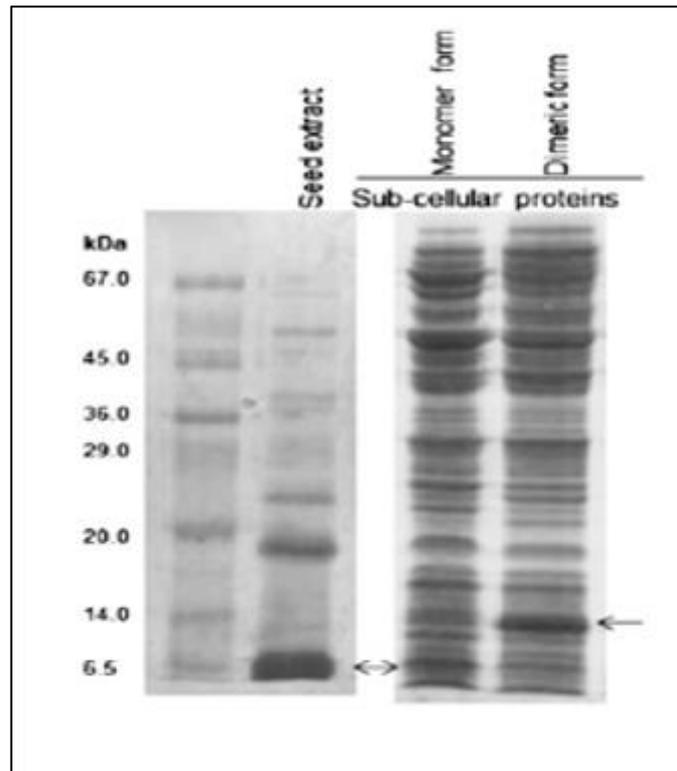
##### 5.1. La protéine MO2.1

La protéine MO2.1 aussi appelé MOCP (*Moringa oleifera* cationic protein) (Saini et al. 2016 ; Moulin et al. 2019), est un homodimère de 13kDa avec des sous unités d'environ 6,5kDa. En effet, la détermination de la masse moléculaire des protéines coagulantes par tamisage moléculaire a montré un poids de 6,5 kDa dans des conditions réductrices et de 13 kDa en conditions non réductrices (Ndabigengesere et al. 1995), la **figure 13.A** montre la migration d'une série d'étalons de poids moléculaire, allant de 14 à 97 kDa et des protéines de Moringa, en présence et en absence de mercaptoéthanol. Le même résultat a été démontré par Tejavath (2011) (**Figure 13S**).



**Figure 13.** Analyse du poids moléculaire des protéines coagulantes de *M. oleifera*. [A] SDS-PAGE (15%) : (Std) étalons de poids moléculaire ; (B) en conditions réductrices de mercaptoéthanol ; (C) en conditions non réductrices. [S] analyse Tricine-PAGE (18%) : (M) Marqueurs de poids moléculaire : ovalbumine (43 kDa), anhydrase carbonique (29 kDa), inhibiteur de trypsine de soja (20 kDa), lysozyme (14 kDa), aprotinine (6,5 kDa) et insuline (3 kDa) ; (1) protéines dans des conditions réduites ; (2) protéines dans des conditions non réductrices. Les protéines ont été détectées en colorant le gel avec du bleu de Coomassie R-250 (Ndabigengesere et al. 1995 ; Tejavath, 2011).

D'autres travaux menés par **Pavankumar et al. (2014)** ont confirmé l'existence de forme monomérique et dimérique de la protéine MO2.1 en exprimant le gène codant pour la MO2.1 dans les cellules d'*E. Coli*. En effet, l'analyse du profil protéique par électrophorèse sur gel de polyacrylamide a montré la présence d'une bande de 6,5 kDa traité au DTT, et la présence d'une bande de 14 kDa dans des conditions non réductrices (**Figure 14**).

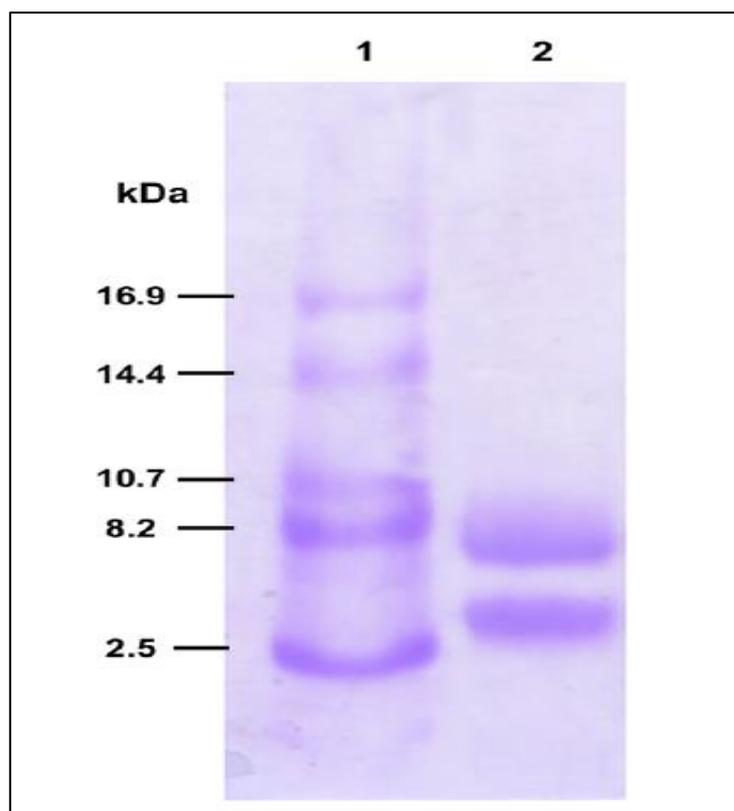


**Figure 14.** Profils protéiques montrant l'homodimère et l'activité de coagulation du MO2.1. Analyse électrophorétique d'un extrait de graines brut et des fractions sous-cellulaires d'*E. coli* d'un clone recombinant. Les masses moléculaires apparentes des protéines ont été déterminées par comparaison avec des marqueurs de faible poids moléculaire (Sigma) (Pavankumar et al. 2014).

## 5.2. La protéine Mo-CBP3

Récemment, une nouvelle protéine, de liaison à la chitine (CBP), a été purifiée à partir des graines de *M. oleifera* et nommée Mo-CBP3 (Gifoni et al. 2012). Cette dernière est une protéine thermostable de 14kDa.

La Mo-CBP3 s'avère un homologue à la 2S Albumine se composant d'une petite chaîne (~4 kDa) et d'une grande chaîne (~8 kDa) reliées par des liaisons disulfure (Figure 15) (Freire et al. 2015).



**Figure 15.** Analyse tricine SDS-PAGE de la protéine Mo-CBP3. La Mo-CBP3 a été purifiée des graines de *M. oleifera* par chromatographie d'affinité sur une matrice de chitine suivie d'une chromatographie d'échange de cations. Les bandes protéiques ont été colorées au bleu brillant de Coomassie. **Voie 1** : marqueurs de poids moléculaire. **Voie 2**: Mo-CBP3 traité avec du  $\beta$ -mercaptoéthanol (Freire et al. 2015).

## 6. Structure de la protéine MO2.1 et distribution de la charge électrique

### 6.1. Séquence nucléotidique et structure primaire de la MO2.1

La séquence nucléotidique est constituée de 183 nucléotides (Figure 16) (Pavankumar et al. 2014), codant pour 17-18 acides aminés différents avec des teneurs élevées en glutamine (15), arginine (7) et proline (7) dont un total de 60 résidus (Figure 17) (Gassenschmidt et al. 1995).

```

CAGGGACCTG GTCGGCAGCC GGACTTTCAG CGTTGCTGCC AACAGCTGCG GAACATATCT
CCTCCTTGCA GGTGCCCATC ACTCAGGCAA GCAGTACAGT TGACACACCA GCAGCAGGGA
CAGGTGGGTC CTCAGCAGGT AAGGCAGATG TACCGAGTGG CATCCAATAT ACCTAGCACC
TAA

```

**Figure 16.** Séquence nucléotidique de la protéine MO2.1 (Pavankumar et al. 2014).

```

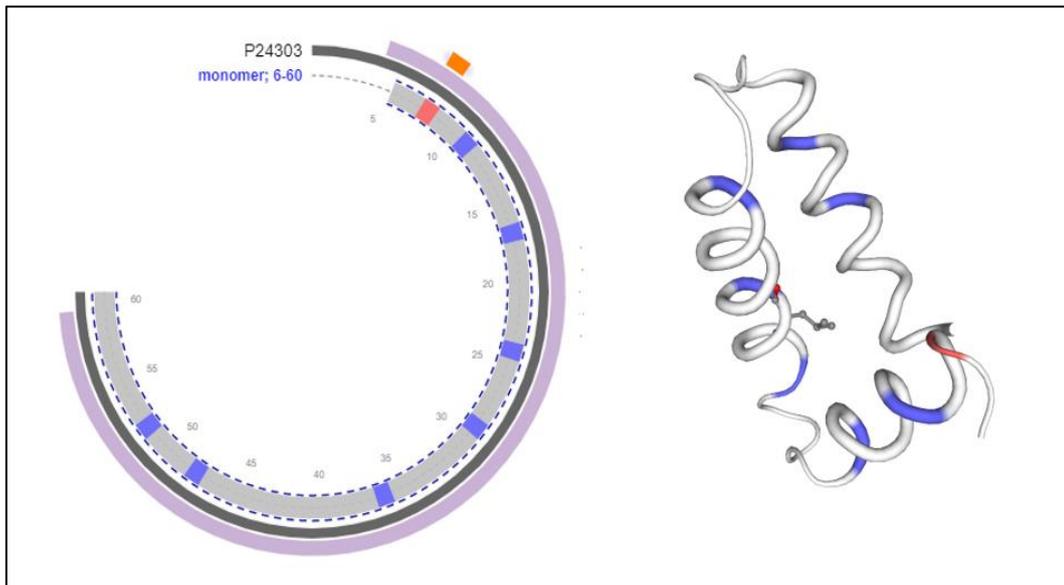
          10          20          30          40          50
QGPGRQPDFQ RCGQQLRNIS PPQRCPSLRQ AVQLTHQQQG QVGPQQVRQM
          60
YRVASNIPST

```

**Figure 17.** Composition en acides aminés de la protéine MO2.1 Montrant les 60 résidus, Q : Glutamine, R : arginine, P : proline (Gassenschmidt et al. 1995).

## 6.2. Structure secondaire et distribution de la charge de la MO2.1

Les protéines MO2.1 de *M. oleifera* contiennent huit régions de charge positive dans différentes positions au niveau de l'acide aspartique, l'arginine et l'histidine (Figure 18) et avec un point isoélectrique autour de 10,8 (Suarez et al. 2005 ; Nordmark, 2018).

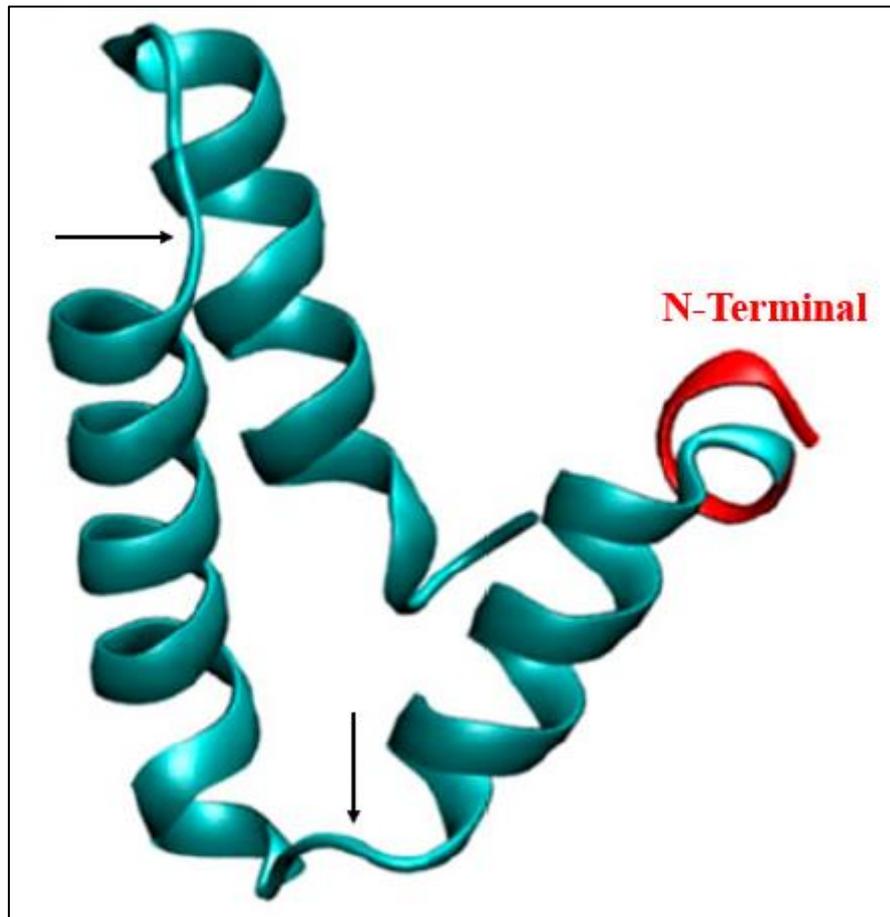


**Figure 18.** Distribution de la charge positive de la protéine MO2.1. La position de chaque charge positive est démontrée comme suit débutant du point rouge : Acide aspartique (D) en position 8, 11, 17, 24, 29 et 48, Arginine (R) en position 52, et l’Histidine (H) en position 36 (Nordmark et al. 2018).

Une étude qui a utilisé le dichroïsme circulaire pour déterminer les caractéristiques de la structure secondaire a montré qu'elle était constituée de 60% d'hélices alpha, 30% de structures non ordonnées et 10% de feuilles bêta (Kwaambwa et al. 2008).

Cependant, une autre étude a modélisé les structures secondaires et tertiaires par comparaison avec les protéines d'albumine 2S de diverses plantes (Napins et MabinlinB), en raison de leur degré élevé de similarité avec les protéines de *M. oleifera* (Suarez et al. 2005 ; Pavankumar et al. 2014). Le modèle a montré que ces protéines sont principalement composées d'hélices alpha (Figure 19) (Suarez et al. 2005 ; Pavankumar et al. 2014).

La structure secondaire proposée s'est révélée composée de trois hélices alpha et deux régions en boucle (un motif en Hélice-boucle-hélice) (Figure 19), où la région de cinq résidus (QGPGR) indique l'extrémité N-terminale de la protéine (Figure 19) (Pavankumar et al. 2014).

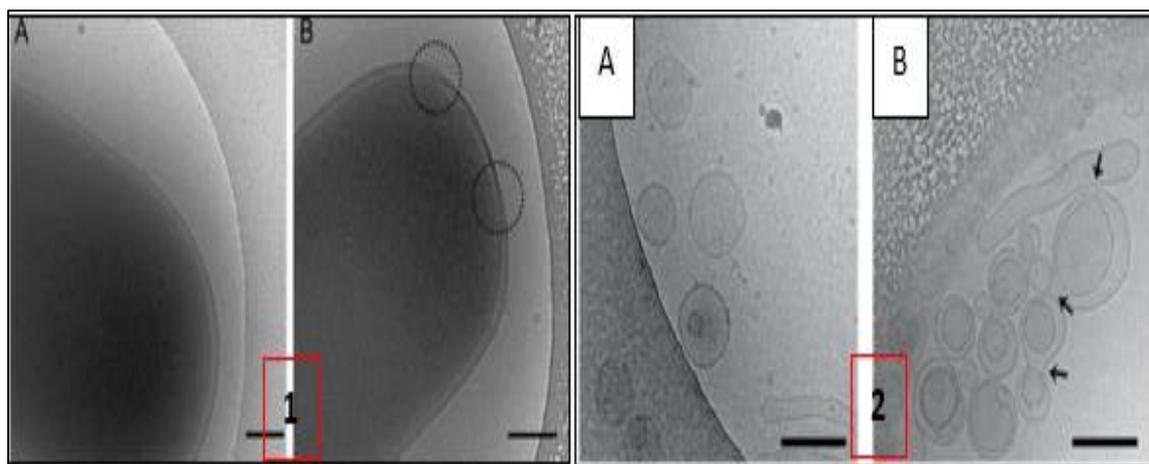


**Figure 19.** Structure secondaire prédite de la protéine MO2.1. La région colorée en rouge indique l'extrémité N-terminale de la protéine, et les flèches en noir indique les deux boucles (Pavankumar et al. 2014).

## 7. Activité antibactérienne de la protéine MO2.1

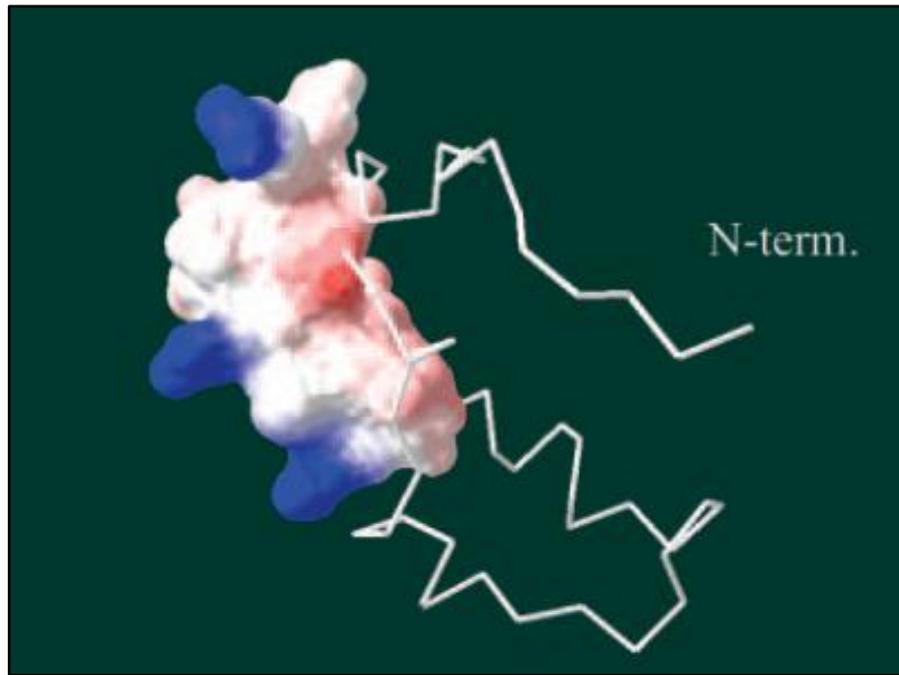
La protéine MO2.1 présente une activité antibactérienne très intéressante (Saini et al. 2016 ; Moulin et al. 2019). L'activité d'un tel peptide contre les agents pathogènes, notamment les *Pseudomonas* et *Streptococcus* a été bien étudiée (Suarez et al. 2005).

Le comportement de ces protéines en tant qu'agent antibactérien a été étudié par Cryo tomographie-électronique (Cryo-TEM) sur des cellules d'*E. coli*, montrant un endommagement des membranes des cellules bactériennes en provoquant la fusion des membrane internes et externes (Figure 20.1), ainsi qu'une fusion des vésicules et la formation d'agrégats plus grands et multi lamellaires (Figure 20.2) (Shebek et al. 2015).



**Figure 20.** Action de la protéine MOCP sur les cellules d'*E.coli*. [1] (A) Cellules témoins. (B) Cellules incubées avec la protéine. [2] (A) Cryo-tomographie électronique des vésicules lipidiques d'*E. coli* sans ajout de la protéine. (B) Cryo-TEM de vésicules lipidiques d'*E. coli* après l'ajout de la protéine. Les flèches indiquent les sites de fusion possibles (Shebek et al. 2015).

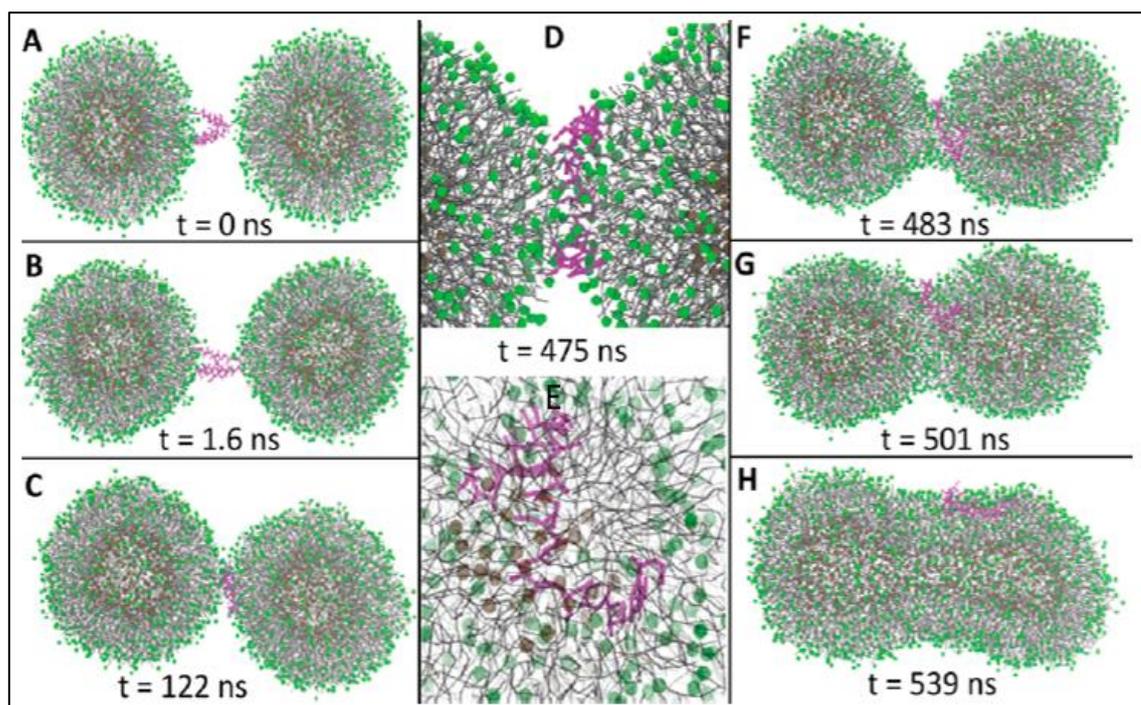
Certains auteurs suggèrent que cette activité bactéricide impliquant la déstabilisation de la membrane est due à la présence d'une boucle hydrophobe au niveau de la protéine (Figure 21) (Suarez et al. 2005 ; Moulin et al. 2019). En effet, cette protéine cationique possède un motif amphiphile structurel en forme d'hélice-boucle-hélice qui l'aide à s'intégrer dans les membranes bactériennes.



**Figure 21.** Propriétés hydrophobes et hydrophiles de la structure antibactérienne de la protéine MO2.1. La partie impliquée dans l'activité antibactérienne est montrée à l'aide d'un modèle de remplissage d'espace. Les surfaces colorées indiquent les zones polaires de la molécule, les chaînes latérales chargées positivement des arginines sont indiquées en bleu, tandis que les surfaces non chargées sont en blanc (Suarez et al. 2005).

La fusion des vésicules se fait en plusieurs étapes, qui sont illustrées dans la **figure 22**. En effet, le peptide se lie rapidement aux vésicules grâce à une combinaison d'éléments hydrophobes et électrostatiques (**Figure 22.A, B**) tout en rassemblant les vésicules afin de maximiser les interactions peptide-lipides (**Figure 22.C**). Une fois que le peptide et les vésicules sont en contact étroit, la protéine prend une configuration en "Z" au point de contact entre les deux vésicules (**Figure 22.D, E**), et crée une poche à l'intérieur où une tige lipidique peut commencer à se former reliant les deux vésicules (**Figure 22.F**). Cette tige pousse jusqu'à la largeur des vésicules (**Figure 22.G**) et la membrane qui sépare les deux espaces intérieurs fusionne avec la membrane externe, ce qui entraîne la fusion des vésicules (**Figure 22.H**) (Shebek et al. 2015).

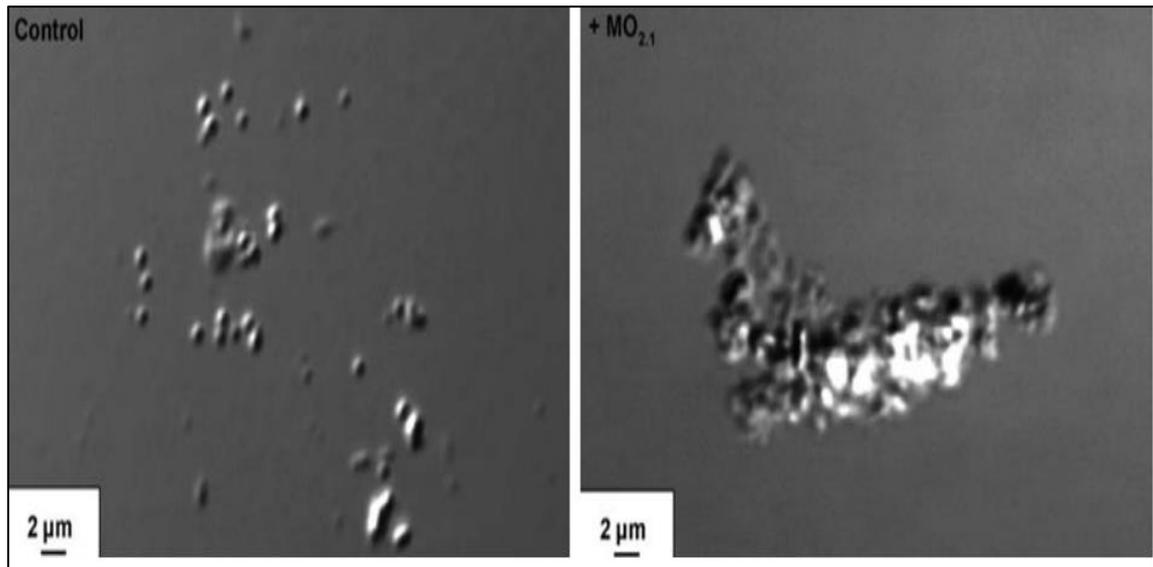
En résumé, le peptide crée une poche protégée à l'intérieur où les lipides entrent en contact étroit, entraînant la formation de tiges et la fusion des vésicules (Shebek et al. 2015).



**Figure 22.** Étapes de la fusion des membranes lipidiques en présence du MOCP. Les temps de fusion sont motionnés en nano secondes (Shebek et al. 2015).

## 8. Activité floculante de la protéine MO2.1

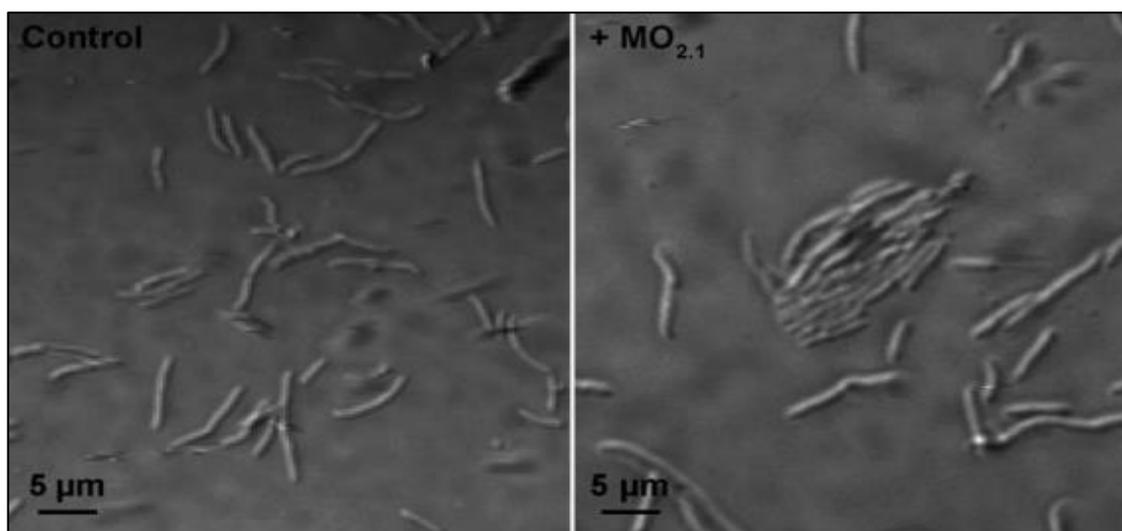
L'activité floculante de la protéine a d'abord été testée sur l'argile. En effet, après l'incubation de la protéine MO2.1 avec une suspension de montmorillonite pendant 4 h, une aliquote a été observée au microscope optique. La **figure 23** montre que les agrégats de montmorillonite, qui sont inexistants en l'absence de la MO2.1, sont observés lorsque la protéine est présente (Broin et al. 2002).



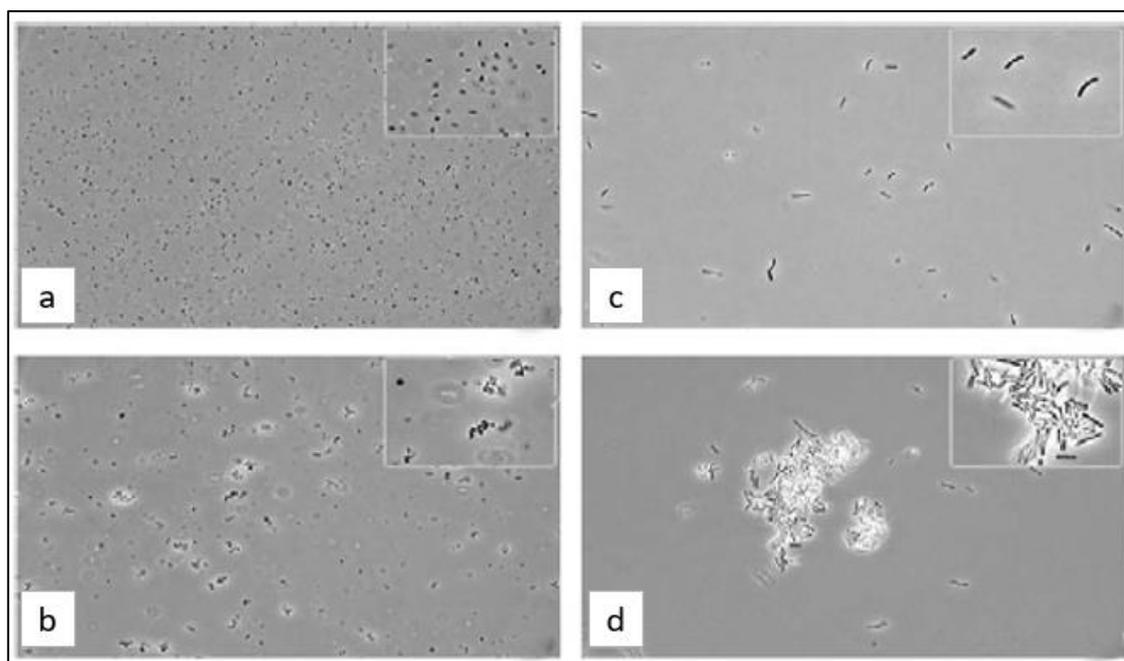
**Figure 23.** Agglomération de particules de montmorillonite par la protéine MO2.1. Images obtenues de montmorillonite obtenues par microscopie optique à immersion dans l'huile en l'absence (à gauche) et en présence (à droite) de MO2.1 (Broin et al. 2002).

Par la suite cette activité a été testée sur des bactéries à gram-positives à savoir *Paenibacillus* (CF43) et *B.thuringiensis* (Bt7), et à gram négatives à savoir *E.coli* (D31). Comme le montre la **figure 24** et **25** (Broin et al. 2002 ; Ghebremichael et al. 2005) :

- Les rhizo-bactéries *Paenibacillus* CF43 ont formé des agrégats en présence de la MO2.1, tandis que lorsque la protéine est absente aucune activité de floculation n'a été détectée.
- Par comparaison avec les échantillons contrôles et les échantillons traités, les résultats montre que la MOCP a pu regrouper 2 espèces de micro-organismes : *E. coli* (D31) et *B. thuringiensis* (Bt7).



**Figure 24.** Agrégation des bactéries *Paenibacillus* par la protéine MO2.1. Images de *Paenibacillus* obtenues par microscopie optique à immersion dans l'huile en l'absence (à gauche) et en présence (à droite) de MO2.1 (Broin et al. 2002).



**Figure 25.** Effet de flocculation de la MOCP sur la bactérie *E.coli* (D31) et *B.thuringiensis* (Bt7). **a** : échantillon D31 contrôle, **b** : échantillon D31 traité avec la MOCP, **c** : échantillon Bt7 contrôle, **d** : échantillon Bt7 traité avec la MOCP. Les agrégations de cellules ont été analysées au microscope optique et les images ont été capturées à l'aide d'un appareil photo Sony PC 120 (Ghebremichael et al. 2005).

## 9. Activité antifongique de la protéine Mo-CBP3

La Mo-CBP3 est une protéine antifongique qui inhibe la germination des spores et la croissance mycélienne de l'*ascomycète Fusarium solani* et d'autres champignons phytopathogène (Batista et al. 2014). L'activité antifongique de ces CBP est le résultat de la liaison des protéines à la chitine de la paroi cellulaire des champignons naissants (Freire et al. 2015).

## 10. Isoformes de la protéine Mo-CBP3

Une étude établie par Freire et al. (2015) montre que la Mo-CBP3 présente quatre isoformes, où leur masse moléculaire est de 11,7 (Mo-CBP3-1), 11,8 (Mo-CBP3-2), 12,1 (Mo-CBP3-3) et 11,8 kDa (Mo-CBP3-4).

En outre, les points isoélectriques calculés à partir des séquences des isoformes Mo-CBP3 étaient de 11,7 pour la Mo-CBP3-1 et Mo CBP3-4 ; 11,6 pour Mo-CBP3-2 et Mo-CBP3-3.

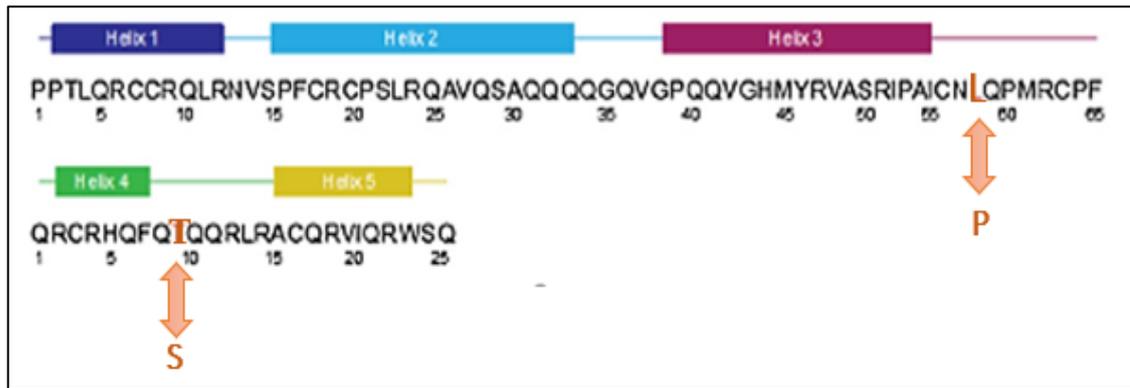
Cependant, selon la littérature scientifique, la Mo-CBP3-1 et Mo-CBP-4, sont les seules protéines de la graine du Moringa dont la structure cristalline est disponible (Ullah et al. 2015 ; Moulin et al. 2019).

## 11. Structure primaire et secondaire des isoformes de la Mo-CBP3

Ces protéines se caractérisent par un pli compact dû à la présence d'une petite chaîne (4kDa) et d'une grande chaîne (8 kDa) reliée entre elles par quatre liaisons disulfures. Cette disposition est la clé de la stabilité marquée de la protéine et de sa résistance à la chaleur et à la protéolyse (Moulin et al. 2019).

### 11.1. Structure primaire de la Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4

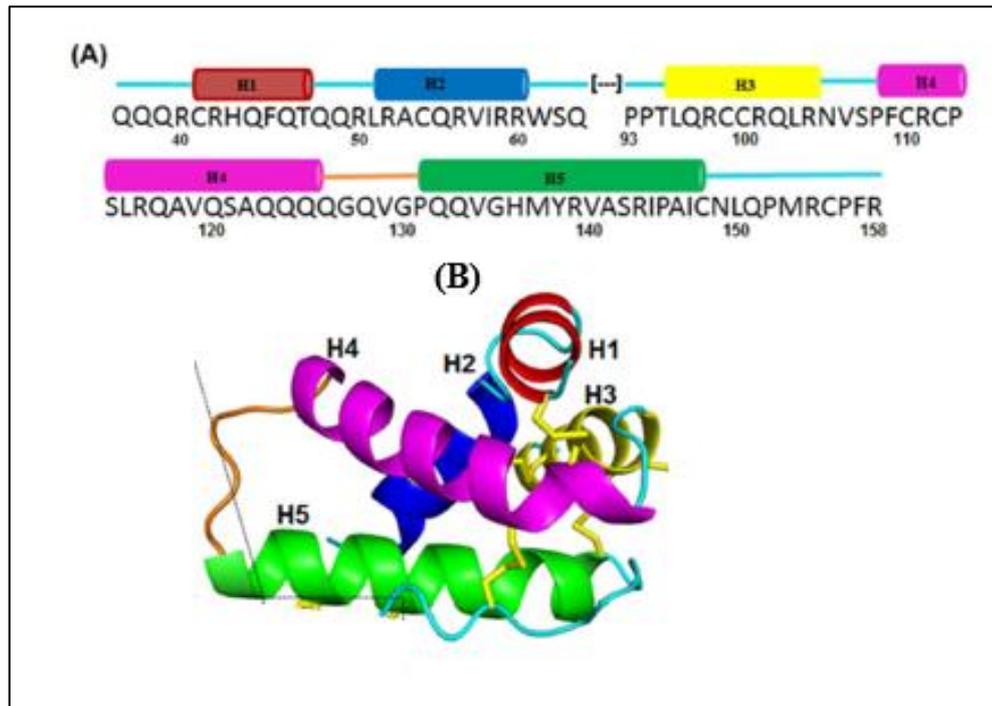
La séquence primaire des 2 isoformes Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4 compte 163 résidus (Freire et al. 2015), où la principale différence réside dans deux résidus d'acides aminés (Figure 26), la thréonine en position 9 qui devient une sérine et la leucine en position 58 qui devient une proline, dans le Mo-CPB3-1 (Moulin et al. 2019).



**Figure 26.** Séquence primaire de la protéine Mo-CPB3-4 avec mise en évidence des différences avec la protéine Mo-CPB3-1 (Moulin et al. 2019).

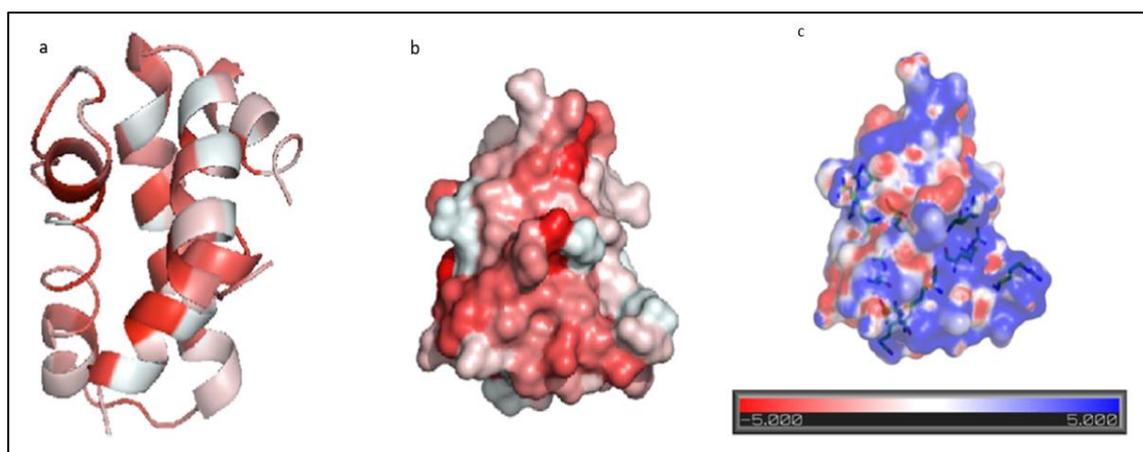
## 11.2. Structure secondaire de la Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4

La Mo-CBP3-1 ne contient que des hélices alpha et des boucles constituées de deux chaînes polypeptidiques, une chaîne légère (37 à 63 résidus) et une chaîne lourde (93 à 158 résidus) (**Figure 27A**). Cette protéine adopte une conformation caractéristique des albumines 2S. La structure hélicoïdale  $\alpha$  est constituée de cinq hélices marquées H1 à H5, reliées par de courtes boucles (en orange) (**Figure 27A ; 27B**). Deux ponts disulfure inter-chaîne (Cys41-Cys110 et Cys54-Cys99) sont formés entre les deux chaînes et deux ponts disulfure intra-chaîne (Cys100-Cys148 et Cys112-Cys155) stabilisent d'avantage la chaîne lourde (Ullah et al. 2015).



**Figure 27.** Structure générale de la protéine Mo-CBP3-1. (A) Séquence d'acides aminés. Les crochets indiquent les chaînes légères et lourdes. La boucle variable est en orange. (B) Représentation en dessin animé de la structure cristallographique. Les ponts disulfures sont représentés par des bâtonnets jaunes (Ullah et al. 2015).

La structure moléculaire de la Mo-CBP3-4 est constituée de 5 hélices alpha formant deux chaînes, chacune ayant une liaison disulfure intra et inter-chaîne ce qui la rend compacte et très stable (Moulin et al. 2019). La figure 28a et 28b montre la structure cristalline mettant en évidence les résidus hydrophobes (en rouge). Alors que le noyau de la protéine semble être principalement hydrophobe, la région exposée au solvant, qui contient un grand nombre de résidus d'arginine (10 sur 90 résidus) est hautement hydrophile (Figure 28c) (Moulin et al. 2019).

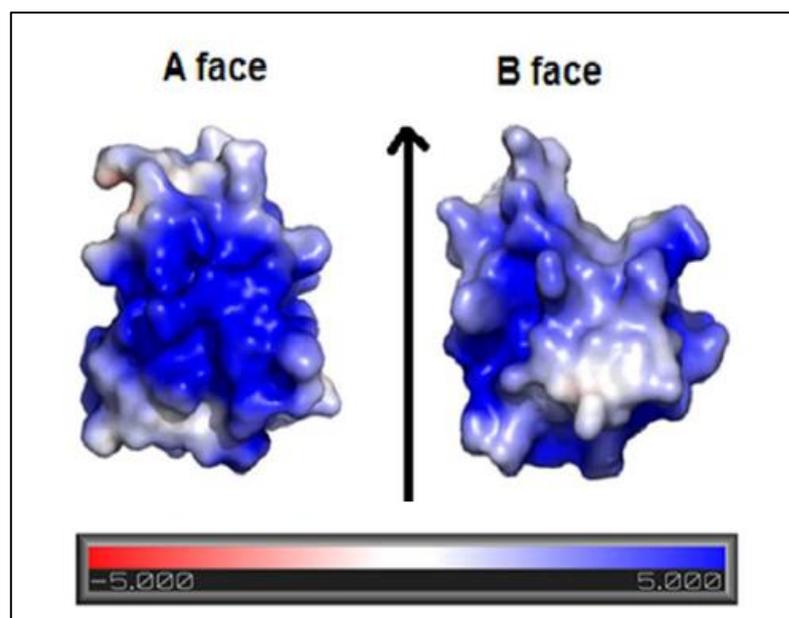


**Figure 28.** Structure cristalline et les zones polaire et non polaire de la protéine Mo-CPB3-4. (a) et (b) Le rouge représente les régions les plus hydrophobes et les plus blanches les régions les plus hydrophiles. (c) Met en évidence les résidus d'arginine (Moulin et al. 2019).

## 12. Distribution de la charge électrique des isoformes de la Mo-CBP3

### 12.1. Distribution de la charge électrique de la Mo-CBP3-1

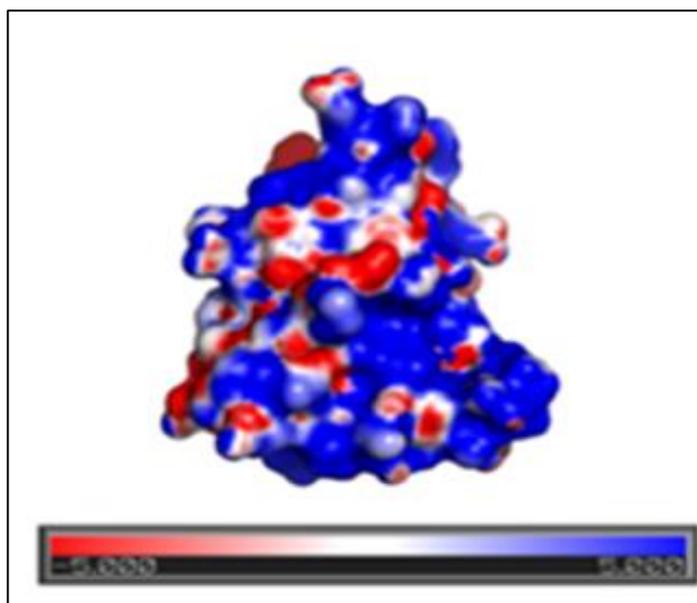
L'analyse de la charge de surface de la Mo-CBP3-1 démontre que la face A (Figure 29) de la protéine est hautement positive, tandis que la face B (Figure 29) révèle une charge neutre, aucun résidu anionique n'a été détecté, cela confirme sa charge positive nette élevée (Ullah et al. 2015 ; Moulin et al. 2019).



**Figure 29.** Distribution de la charge de surface de la protéine Mo-CBP3-1 où le bleu, le blanc et le rouge représentent respectivement la charge positive, neutre et négative (Ullah et al. 2015).

## 12.2. Distribution de la charge électrique de la Mo-CBP3-4

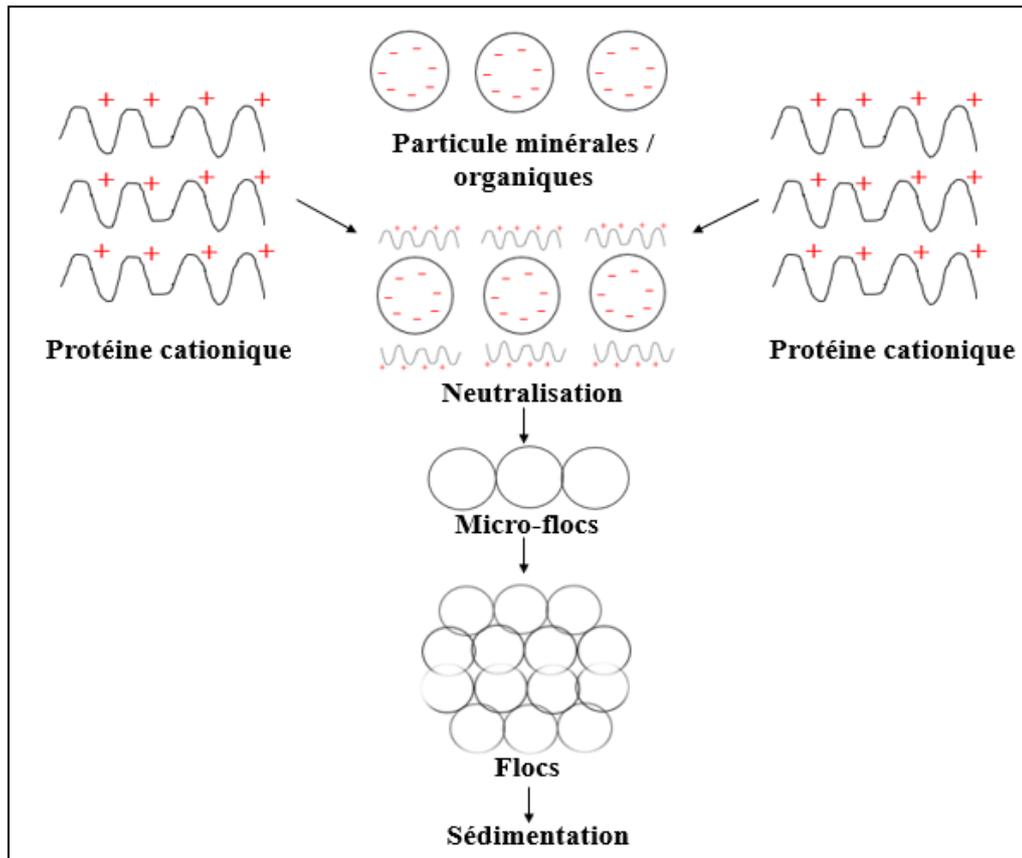
La distribution de la charge de surface de la protéine Mo-CBP3-4 (**Figure 30**) confirme sa charge positive élevée, ainsi que l'existence de résidus à la fois cationiques et anioniques. Ceci est cohérent avec le point isoélectrique élevé calculé de la protéine (11.7) (Moulin et al. 2019).



**Figure 30.** Distribution de la charge de surface de la protéine Mo-CBP3-4 où le rouge, le blanc et le bleu représentent respectivement la charge négative, neutre et positive avec le potentiel électrostatique (Moulin et al. 2019).

### 13. Mécanisme d'action des protéines coagulantes

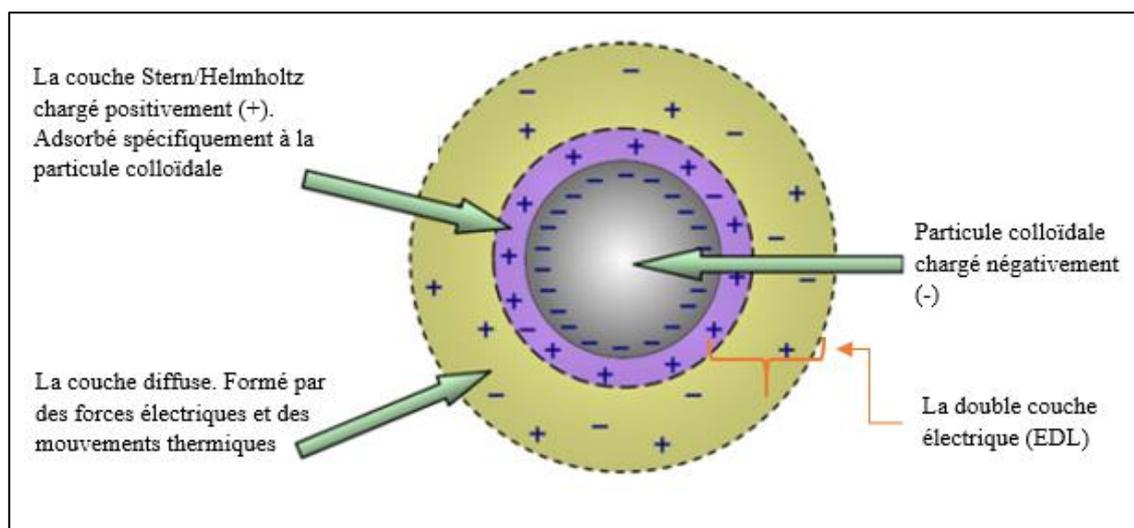
Les protéines cationiques s'attachent à des surfaces de particules minérales et organiques chargées négativement comme le limon, l'argile, les bactéries, etc, où ils vont être éliminés par adsorption suite à des interactions électrostatiques (**Figure 32**) (Milind et al. 2012). En raison de la collision de particules et de la neutralisation, il se produit des floccs (Amagloh et Benang, 2009) qui se déposent par sédimentation sous l'effet de la gravité (**Figure 31**), laissant l'eau trouble plus ou moins claire (James et Zikankuba, 2017).



**Figure 31.** Mécanisme de coagulation-floculation par les protéines de *Moringa oleifera*.

Comme le montre la **figure 32**, une couche de cations se lie étroitement à la surface d'une particule chargée négativement pour former une couche d'adsorption fixe, cette dernière connue sous le nom de couche de Helmholtz ou Stern est liée à la surface de la particule par des forces électrostatiques et d'adsorption. Au-delà de la couche de Helmholtz, une charge négative nette et un champ électrique sont présents qui attirent un excès de cations et repoussent les anions, dont aucun n'est en position fixe. Ces cations et anions se déplacent sous l'influence de la diffusion, et l'excès de concentration de cations se prolonge dans la solution jusqu'à ce que toute la charge de surface et le potentiel électrique soient éliminés et que l'électroneutralité soit satisfaite, cette dernière est connue sous le nom de la couche diffuse (**Crittenden et al. 2012**).

L'ensemble des éléments adsorbés (Helmholtz) et la couche diffuse sont connus sous le nom de double couche électrique (EDL) (**Figure 32**).



**Figure 32.** Charge électrique entourant une particule colloïdale, selon le modèle de **Crittenden et al. (2012)**.

Les particules déstabilisées subissent alors une floculation par un mouvement brownien, un cisaillement des fluides ou une sédimentation différentielle (**Crittenden et al. 2012**), où elles se collent entre elles au contact, formant des solides connus sous le nom de "flocs" (**Pritchard et al. 2010**).

# **Chapitre IV :**

## **Etude *in silico* des gènes de MO**

## 1. Définition de la bio-informatique

La bio-informatique est une approche *in silico* de la biologie qui consiste en une analyse informatisée des données biologiques en utilisant un ensemble de moyens (concepts, méthodes, logiciels, etc.). Il s'agit d'un champ de recherche multidisciplinaire qui associe informaticiens, mathématiciens, physicien et biologistes (Sid, 2014).

C'est un domaine de recherche qui permet d'analyser et d'interpréter des données biologiques, afin de créer de nouvelles connaissances en biologie, effectuer la synthèse des données disponibles, énoncer des hypothèses et formuler des prédictions (Lezzar et Meziani, 2015).

Selon les définitions données à la bio-informatique, les activités de cette discipline peuvent être résumé en trois points principaux (David, 2004) :

- ✚ Acquisition et organisation des données biologiques.
- ✚ Conception de logiciels pour l'analyse, la comparaison et la modélisation des données.
- ✚ Analyse des résultats produits par les logiciels.

## 2. Buts de la bio-informatique

La bio-informatique a pour objectif de :

- ✚ **Décoder l'information contenue dans les séquences d'ADN** : trouver les gènes, prédire la séquence d'acide aminé produite par un gène, identifier les régions régulatrices du génome, et étudier l'évolution des génomes ...etc.
- ✚ **Génomique structurale** : prédire les structures 2D et 3D des protéines, les différences et les similarités entre eux.
- ✚ **Génomique fonctionnelle** : prédire la fonction des gènes, étudier la régulation des gènes, étudier le niveau d'expression des gènes, et déterminer les réseaux d'interaction entre les protéines...
- ✚ Etudes phylogénétiques et l'évolution des espèces.

### 3. Banques de données biologiques

C'est l'ensemble de bases de données contenant des informations biologiques et des données de séquences largement diffusées par le réseau internet. Elles sont généralement reliées entre elles par des liens, ou des cross références (**Tableau 7**) (**Coutouly et al. 2012**).

**Tableau 7.** Les banques de données biologiques (**Coutouly et al. 2012**).

Noms	Commentaires	Adresse internet
<b>Portails</b>		
<b>NCBI</b>	Portail américain de bio-informatique, points forts : banques de séquences nucléotidiques, BLAST, banques génomiques, PubMed	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov">http://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<b>EBI</b>	Portail européen de bio-informatique. Points forts : banques de séquences nucléotidique, FASTA, ClustalW	<a href="http://www.ebi.ac.uk">http://www.ebi.ac.uk</a>
<b>KEGG</b>	Portail japonais de bio-informatique. Points forts : voies métaboliques, banques de biomolécules.	<a href="http://www.genome.ad.jp/kegg">http://www.genome.ad.jp/kegg</a>
<b>EXPASY</b>	Portail e l'institut suisse de bio-informatique. Points forts : protéines, enzymes, structure 3D	<a href="http://www.expasy.ch">http://www.expasy.ch</a>
<b>Bioweb Pasteur</b>	Portail de bio-informatique de l'institut Pasteur, points forts :	<a href="http://bioweb.pasteur.fr">http://bioweb.pasteur.fr</a>

	logiciel de bio-informatique en ligne.	
<b>Acides nucléiques</b>		
<b>Genbank</b>	Banques de séquences nucléotidiques dotées de système d'interrogation. Elles échangent régulièrement leurs informations.	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez</a>
<b>EMBL</b>		<a href="http://pir.ebi.ac.uk">http://pir.ebi.ac.uk</a>
<b>DDBJ</b>		<a href="http://www.ddjb.nig.ac.jp">http://www.ddjb.nig.ac.jp</a>
<b>Protéines</b>		
<b>Swiss_prot</b>	Séquences bien annotées et faiblement redondantes	<a href="http://ca.expasy.org/sprot">http://ca.expasy.org/sprot</a>
<b>PIR</b>	Séquences et outils d'analyses	<a href="http://pir.georgetown.edu">http://pir.georgetown.edu</a>
<b>TrEMBL</b>	Séquences déduites à partir de séquences codantes des banques nucléotidiques EMBL/GenBank/DDBJ	<a href="http://ebi.ac.uk/trembl">http://ebi.ac.uk/trembl</a>
<b>Uniprot</b>	Consortium regroupant Swiss-Prot-TrEMBL-PIR	<a href="http://www.ebi.uniprot.org">http://www.ebi.uniprot.org</a>
<b>PDB</b>	Structure 3D des protéines au format PDB	<a href="http://www.rcsb.org">http://www.rcsb.org</a>
<b>Banques de données spécialisées</b>		
<b>Mapviewer</b>	Génome complets, localisation des gènes	<a href="http://www.ncbi.nih.gov/mapview">http://www.ncbi.nih.gov/mapview</a>
<b>OMIM</b>	Informations sur les maladies génétiques chez l'homme	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim</a>
<b>Orphanet</b>	Base de données sur les maladies rares	<a href="http://www.prpha.net/consor/cgi-bin/index.php">http://www.prpha.net/consor/cgi-bin/index.php</a>

<b>VectorDB</b>	Base de données de vecteurs utilisés en biologie	<a href="http://genome-www.stanford.edu/vectordb">http://genome-www.stanford.edu/vectordb</a>
<b>Bibliographie</b>		
<b>PubMed-Medline</b>	Articles, publication en biologie et en médecine	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov">http://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>
<b>Refdoc</b>	Service du CNRS, articles, thèses...	<a href="http://refdoc.fr/http://www.refdoc.fr/">http://refdoc.fr/http://www.refdoc.fr/</a>
<b>Google scholar</b>	Publications scientifiques avec Google	<a href="http://scholar.google.com">http://scholar.google.com</a>

#### 4. Outils de la bio-informatique

Le traitement des séquences biologiques peut être :

- ✚ **Simple** : traduction, carte de restriction, recherche de cadres ouverts de lecture composition, calcul de  $T_m$  ;
- ✚ **Complexe** : alignement, recherche d'amorces, prédiction de structures secondaires et tertiaires, recherche de motifs, et construction d'arbre phylogénétique (Tableau 8).

**Tableau 8.** Les outils de la bio-informatique (Coutouly et al. 2012)

Outils	Commentaires	Adresse internet
<b>Séquences nucléotidiques</b>		
<b>Readseq</b>	Conversion des formats de séquences (Fasta, Embl...)	<a href="http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi">http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi</a>
<b>TACG</b>	Etablissement de la carte de restriction	<a href="http://moo.nac.uci.edu/tacg4/form4.html">http://moo.nac.uci.edu/tacg4/form4.html</a>

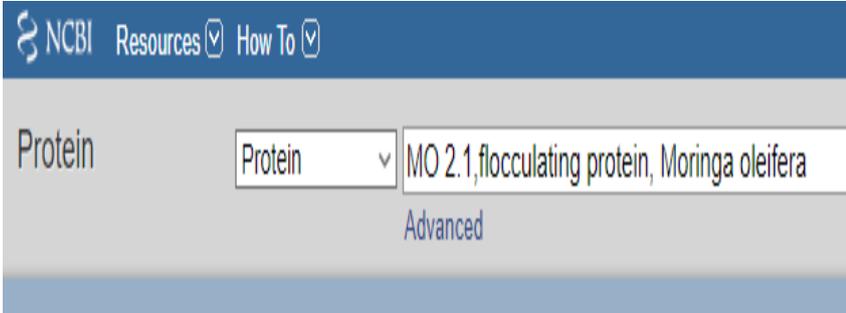
	d'une séquence avec choix des enzymes	
<b>ORFfinder</b>	Recherche des ORF	<a href="http://ncbi.nlm.nih.gov/gorf">http://ncbi.nlm.nih.gov/gorf</a>
<b>Transeq</b>	Traduction dans les 6 phases de lecture	<a href="http://ebi.ac.uk/emboss/transeq">http://ebi.ac.uk/emboss/transeq</a>
<b>VecScreen</b>	Détection des fragments de vecteurs de clonage	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/vecScreen">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/vecScreen</a>
<b>Genmarck</b>	Prédiction de gènes eucaryotes et procaryotes	<a href="http://www.opal.biology.gatech.edu/GenMark">http://www.opal.biology.gatech.edu/GenMark</a>
<b>Outils our ARN</b>	Outils de prédiction de structures des ARN	<a href="http://bioweb.pasteur.fr/seqanal/rna">http://bioweb.pasteur.fr/seqanal/rna</a>
<b>Outils pour la PCR</b>		
<b>OligoCalc</b>	Détermination de Tm par différents méthodes	<a href="http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html">http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html</a>
<b>Primer3</b>	Recherche d'amorces pour PCR	<a href="http://www.biotools.umassmed.edu">http://www.biotools.umassmed.edu</a>
<b>FastPCR</b>		<a href="http://www.primerdigital.com/fastpcr.html">http://www.primerdigital.com/fastpcr.html</a>
<b>Séquences d'acides aminés</b>		
<b>ProtParam</b>	Détermination de paramètres physiologiques	<a href="http://www.expasy.org/tools/protoparam.html">http://www.expasy.org/tools/protoparam.html</a>
<b>Psipred</b>	Prédiction des hélices alpha, feuille beta	<a href="http://www.expasy.org/tools/#secondary">http://www.expasy.org/tools/#secondary</a>
<b>SignalIP</b>	Recherche de peptide signal	<a href="http://www.cbs.dtu.dk/service/SignalIp">http://www.cbs.dtu.dk/service/SignalIp</a>

<b>TMpred</b>	Prédiction de fragments transmembranaires	<a href="http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html">http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html</a>
<b>Prosite</b>	Banque de motifs	<a href="http://www.expasy.ch/prosite">http://www.expasy.ch/prosite</a>
<b>SWISS-MODEL</b>	Modélisation 3D	<a href="http://swissmodel.expasy.org">http://swissmodel.expasy.org</a>
<b>Alignement de séquence</b>		
<b>Needle</b>	Alignement global (algorithme de needlman)	<a href="http://www.ebi.ac.uk/emboss/align">http://www.ebi.ac.uk/emboss/align</a>
<b>Fasta</b>	Alignement local	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST</a>
<b>BLAST</b>	Alignement local	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST</a>
<b>T-coffee</b>	Alignement multiple	<a href="http://www.igs.cnrs.mrs.fr/Tcoffee">http://www.igs.cnrs.mrs.fr/Tcoffee</a>
<b>Multalin</b>		<a href="http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin">http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin</a>
<b>Clustalw</b>	Alignement multiple et analyse phylogénétique	<a href="http://www.ebi.ac.uk/clustalw">http://www.ebi.ac.uk/clustalw</a>

## 5. Recherche des protéines par GENBANK

Les séquences nucléotidiques correspondant aux gènes d'intérêts de *Moringa oleifera*, ont été identifiées via GENBANK, dans le but de chercher les séquences génétiques codant pour les protéines responsables de l'activité floculante, antibactérienne et antifongique. Nous avons choisi un exemple d'application pour les protéines MO2.1 et Mo-CBP3 (Tableau 9, 10, 11 et 12).

**Tableau 9.** Rechercher sur NCBI de la séquence d'intérêt MO2.1.

<p><b>-1-</b></p> <p><b>A l'aide du moteur de recherche intégré, rechercher la séquence de protéine souhaitée. Sélectionner la catégorie Protéine dans le bandeau de recherche.</b></p>	 <p>The screenshot shows the NCBI search interface. At the top, there is a blue header with the NCBI logo and links for 'Resources' and 'How To'. Below this, the search category is set to 'Protein'. The search term entered is 'MO 2.1, flocculating protein, Moringa oleifera'. There is also a link for 'Advanced' search options.</p>
---	---



**Tableau 10.** La recherche d'homologie de la séquence d'intérêt MO 2.1 avec les séquences de la base de données GANBANK par l'outil BLAST.

-1-

**Chercher dans BLAST l'alignement de la séquence d'intérêt, à l'aide du moteur de recherche, entrer le numéro d'accession ou la forme FASTA.**

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) Clear

ZGPGIGPQDFORCGOOLANTSPQPCPSLRQAVLTHQOQGGVGPQVROMVIVASNTST

From

To

Or, upload file  Aucun fichier choisi

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

Align two or more sequences

Choose Search Set

Database

Organism   exclude

Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown.

Exclude  Models (XM/XP)  Non-redundant RefSeq proteins (WP)  Uncultured/environmental sample sequences

Program Selection

Algorithm

Quick BLASTP (Accelerated protein-protein BLAST)

blastp (protein-protein BLAST)

PSI-BLAST (Position-Specific Iterated BLAST)

PHI-BLAST (Pattern Hit Initiated BLAST)

DELTA-BLAST (Domain Enhanced Lookup Time Accelerated BLAST)

Choose a BLAST algorithm

**BLAST**

Search database nr using Blastp (protein-protein BLAST)

show results in a new window

[+ Algorithm parameters](#)

**Séquence requête**

**Choix de la base de données**

**Choix de l'algorithme**

-2-

**Résultats du BLAST entre la protéine LEA avec d'autres séquences déjà disponibles**

<b>Job Title</b>	<b>Protein Sequence</b>
<b>RID</b>	<a href="#">F53TG52901N</a> <small>Search expires on 06-25 07:24 am</small> <a href="#">Download All</a> <span style="font-size: 0.8em;">▼</span>
<b>Program</b>	BLASTP <span style="font-size: 0.8em;">?</span> <a href="#">Citation</a> <span style="font-size: 0.8em;">▼</span>
<b>Database</b>	nr <a href="#">See details</a> <span style="font-size: 0.8em;">▼</span>
<b>Query ID</b>	lcl Query_93953
<b>Description</b>	None
<b>Molecule type</b>	amino acid
<b>Query Length</b>	60
<b>Other reports</b>	<a href="#">Distance tree of results</a> <a href="#">Multiple alignment</a>

Banque de données

Pas de domaines conservés

Nombre de hits

No putative conserved domains have been detected

**Distribution of the top 47 Blast Hits on 47 subject sequences**

Alignment Scores  < 40  40 - 50  50 - 80  80 - 200  >= 200

Partie 1 : Répartition des hits

select all: 47 sequences selected		GenPop	Graphics	Distance tree of results	Multiple alignment	
Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	% Ident	Accession
<a href="#">NacName: Full-Flocculant-active protein MO2.1 (Moringa oleifera)</a>	117	117	100%	4e-33	98.33%	<a href="#">P24303.1</a>
<a href="#">MO 2.1-flocculating protein (Moringa oleifera, seeds) (Peptide, 80 aa) (Moringa oleifera)</a>	117	117	100%	4e-33	100.00%	<a href="#">AAB34890.1</a>
<a href="#">flocculating protein (Moringa oleifera)</a>	117	117	100%	4e-33	98.33%	<a href="#">Z111235A</a>
<a href="#">pBE-S-Yng-MO (synthetic construct)</a>	93.2	93.2	100%	6e-23	95.00%	<a href="#">QGH81812.1</a>
<a href="#">2.1 protein (Moringa oleifera)</a>	90.5	90.5	100%	2e-22	95.00%	<a href="#">CAC89951.1</a>
<a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	87.0	87.0	98%	7e-20	93.22%	<a href="#">AHG99853.1</a>
<a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	86.7	86.7	98%	9e-20	93.22%	<a href="#">AZA04493.1</a>
<a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	86.7	86.7	98%	9e-20	93.22%	<a href="#">AZA04493.1</a>
<a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	86.6	86.6	93%	6e-12	80.38%	<a href="#">AZA04494.1</a>
<a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	86.2	86.2	93%	9e-12	80.38%	<a href="#">AHG99854.1</a>
<a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	83.5	83.5	93%	9e-11	78.57%	<a href="#">AZA04493.1</a>
<a href="#">mabinin I-1 B-chain+seed protein mabinin I (Capparis maoakal, Lev), seeds, Peptide, 7</a>	47.4	47.4	93%	3e-05	49.15%	<a href="#">AAB31597.1</a>
<a href="#">mabinin II B-chain+seed protein mabinin I (Capparis maoakal, Lev), seeds, Peptide, 7</a>	45.8	45.8	93%	1e-04	47.48%	<a href="#">AAB31599.1</a>
<a href="#">NacName: Full-Sweet protein mabinin-1; AltName: Full=Mabinin I; Short=MAB I; Con</a>	46.6	46.6	93%	1e-04	49.15%	<a href="#">P80351.1</a>
<a href="#">mabinin II B chain+2S albumin AT253 homolog (Capparis maoakal, seeds, Lev), Pepti</a>	45.8	45.8	93%	1e-04	42.88%	<a href="#">AAB25171.1</a>
<a href="#">NacName: Full-Sweet protein mabinin-4; AltName: Full=Mabinin IV; Short=MAB IV; C</a>	46.2	46.2	100%	1e-04	48.03%	<a href="#">P80353.1</a>
<a href="#">Chain A, 2S albumin (Moringa oleifera)</a>	45.4	45.4	90%	1e-04	72.22%	<a href="#">853F_A</a>
<a href="#">Chain B, Crystal Structure Of Mabinin II (Capparis maoakal)</a>	45.4	45.4	93%	2e-04	42.88%	<a href="#">2D52_B</a>
<a href="#">seed protein mabinin-4-like (Carica papaya)</a>	46.6	46.6	80%	3e-04	63.46%	<a href="#">XP_021908812.1</a>
<a href="#">NacName: Full-Sweet protein mabinin-3; AltName: Full=Mabinin III; Short=MAB III; C</a>	45.4	45.4	93%	4e-04	47.48%	<a href="#">P80352.1</a>
<a href="#">NacName: Full-Sweet protein mabinin-2; AltName: Full=Mabinin II; Short=MAB II; Co</a>	45.8	45.8	93%	5e-04	42.88%	<a href="#">P80233.3</a>
<a href="#">mabinin I (Capparis maoakal)</a>	45.8	45.8	93%	5e-04	42.88%	<a href="#">BAA12204.1</a>
<a href="#">2S seed storage protein 1-like (Carica papaya)</a>	45.8	45.8	95%	5e-04	43.86%	<a href="#">XP_021892915.1</a>
<a href="#">Chain A, 2S albumin (Moringa oleifera)</a>	45.1	45.1	93%	6e-04	71.43%	<a href="#">SD0M_A</a>
<a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	45.4	45.4	91%	7e-04	72.73%	<a href="#">AHG99881.1</a>
<a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	45.4	45.4	91%	6e-04	72.73%	<a href="#">AHG99882.1</a>
<a href="#">seed protein mabinin-2-like (Carica papaya)</a>	45.4	45.4	93%	6e-04	61.40%	<a href="#">XP_021908584.1</a>
<a href="#">2S seed storage protein 5-like (Carica papaya)</a>	45.1	45.1	80%	0.001	61.22%	<a href="#">XP_021908585.1</a>
<a href="#">HMW glutelin I (Panicum andersonii)</a>	44.7	44.7	80%	0.001	47.92%	<a href="#">P8061452.1</a>
<a href="#">HMW glutelin I (Triticum orientale)</a>	43.5	43.5	80%	0.004	43.79%	<a href="#">P8000443.1</a>
<a href="#">hypothetical protein AAL1^ AA2G114400 (Arabidopsis thaliana)</a>	42.4	42.4	100%	0.010	39.34%	<a href="#">KFKA1317.1</a>
<a href="#">hypothetical protein AAL1^ AA1G345700 (Arabidopsis thaliana)</a>	41.8	41.8	100%	0.027	39.34%	<a href="#">KFKA5110.1</a>
<a href="#">SESA4 (Arabidopsis thaliana)</a>	40.8	40.8	100%	0.038	38.67%	<a href="#">GAC98844.1</a>
<a href="#">seed storage albumin 4 (Arabidopsis thaliana)</a>	40.8	40.8	100%	0.041	38.67%	<a href="#">NP_194447.1</a>
<a href="#">PREDICTED: 2S sulfur-rich seed storage protein 2 (Carica papaya)</a>	40.0	40.0	81%	0.066	38.73%	<a href="#">XP_007021030.1</a>
<a href="#">2S sulfur-rich seed storage protein large chain 2 like (Carica papaya)</a>	38.9	38.9	98%	0.18	39.88%	<a href="#">P8516281.1</a>
<a href="#">hypothetical protein AG4045_027883 (Aquilaria gracilis)</a>	39.3	39.3	85%	0.18	39.22%	<a href="#">KAF1001603.1</a>
<a href="#">seed protein mabinin-2-like (Carica papaya)</a>	38.5	38.5	80%	0.29	50.91%	<a href="#">XP_021908587.1</a>
<a href="#">seed protein mabinin-2-like (Carica papaya)</a>	38.5	38.5	80%	0.30	50.91%	<a href="#">XP_021908580.1</a>
<a href="#">2S sulfur-rich seed storage protein 1-like (Cannabidiol)</a>	37.4	37.4	85%	0.80	37.29%	<a href="#">XP_030478989.1</a>
<a href="#">2S albumin-like (Pistacia vera)</a>	37.0	37.0	90%	1.0	35.19%	<a href="#">XP_031284994.1</a>
<a href="#">2S seed storage protein-like (Tanacetum cinerariifolium)</a>	37.4	37.4	80%	1.1	37.50%	<a href="#">GEX88185.1</a>
<a href="#">seed storage albumin B precursor (Artemisia annua)</a>	37.4	37.4	80%	1.1	37.50%	<a href="#">P8WAS7507.1</a>
<a href="#">2S sulfur-rich seed storage protein 2-like (Carnegiea gigantea)</a>	36.8	36.8	90%	1.3	27.78%	<a href="#">XP_028071508.1</a>
<a href="#">2S sulfur-rich seed storage protein 2-like (Carnegiea gigantea)</a>	36.2	36.2	90%	1.9	29.63%	<a href="#">XP_028063999.1</a>
<a href="#">2S sulfur-rich seed storage protein 2-like (Carnegiea gigantea)</a>	36.2	36.2	90%	2.3	27.78%	<a href="#">XP_028071508.1</a>
<a href="#">2S sulfur-rich seed storage protein 2-like (Carnegiea gigantea)</a>	35.4	35.4	90%	3.6	27.78%	<a href="#">XP_028071507.1</a>

**Partie 2 :**  
**Séquences produisant des alignements significatifs avec les valeurs score et les valeurs E**

**Partie 3 : Résultats détaillés de l'alignement**

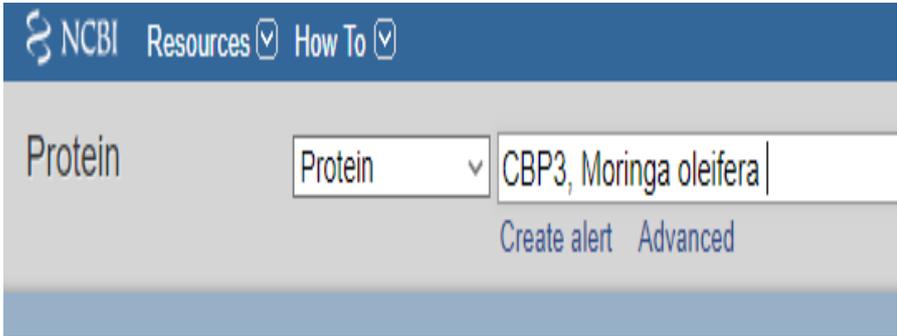
**Discussion de résultats :**

Le résultat du BLAST est divisé en 3 parties :

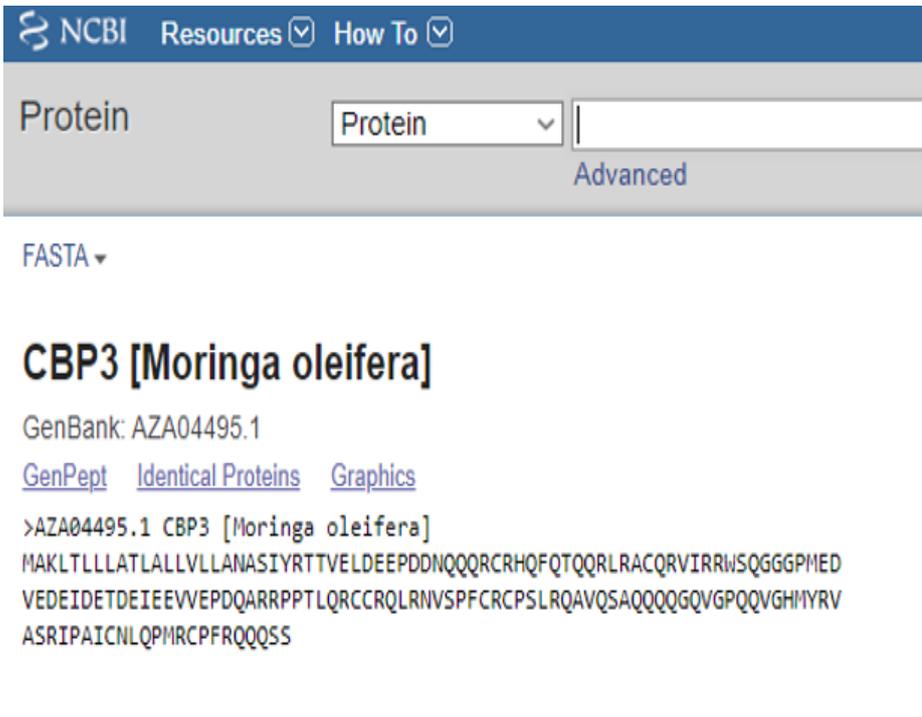
- ✚ Une vue graphique générale des séquences résultats avec différentes couleurs ;
- ✚ La liste des séquences avec leur score et leur E-value ;
- ✚ Une vue plus détaillée, fournissant pour chaque séquence résultat, l'alignement avec notre séquence requête.

La séquence d'intérêt est représentée par la ligne épaisse graduée, de 1 à 60. Les hits de la base de données sont affichés alignés sous la séquence d'intérêt. Parmi les séquences alignées, les plus similaires sont les plus proches de la séquence d'intérêt. Il existe huit correspondances de base de données à score élevé qui s'alignent sur la plupart de la séquence d'intérêt. Les barres suivantes représentent des matches avec un score inférieur alignées sur deux régions de la séquence d'intérêt.

**Tableau 11.** Rechercher sur NCBI de la séquence d'intérêt Mo-CBP3.

<p><b>-1-</b></p> <p><b>A l'aide du moteur de recherche intégré, rechercher la séquence de protéine souhaitée. Sélectionner la catégorie Protéine dans le bandeau de recherche.</b></p>	 <p>The image shows a screenshot of the NCBI search interface. At the top, there is a blue header with the NCBI logo and navigation links for 'Resources' and 'How To'. Below this is a search bar with the word 'Protein' on the left. A dropdown menu is open, showing 'Protein' as the selected category. The search input field contains the text 'CBP3, Moringa oleifera'. Below the search bar, there are two links: 'Create alert' and 'Advanced'.</p>
---	--

<p>-2-</p> <p><b>Identifier sur NCBI la séquence d'intérêt : Trier les résultats par espèce et sélectionner la séquence recherchée. (Ici le gène de CBP3, <i>Moringa oleifera</i>)</b></p>	<p><input type="checkbox"/> <a href="#">CBP3 [Moringa oleifera]</a></p> <p>1. 163 aa protein</p> <p>Accession: AZA04495.1 GI: 1519151466</p> <p><a href="#">Nucleotide</a> <a href="#">Taxonomy</a></p> <p><a href="#">GenPept</a> <a href="#">Identical Proteins</a> <a href="#">FASTA</a> <a href="#">Graphics</a></p>
--	--

<p><b>-3-</b></p> <p><b>Sélectionner la protéine</b></p>	<p><a href="#">Identical Proteins</a> <a href="#">FASTA</a> <a href="#">Graphics</a></p> <hr/> <p><a href="#">Go to:</a> <input type="text"/></p> <p>LOCUS AZA04495 163 aa linear PLN 26-NOV-2018          DEFINITION CBP3 [Moringa oleifera].          ACCESSION AZA04495          VERSION AZA04495.1          DBSOURCE accession <a href="#">MH000620.1</a>          KEYWORDS .          SOURCE Moringa oleifera (horseradish tree)          ORGANISM <a href="#">Moringa oleifera</a>          Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;          Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;          Pentapetalae; rosids; malvids; Brassicales; Moringaceae; Moringa.          REFERENCE 1 (residues 1 to 163)          AUTHORS Freire,J.E.C., Sousa,A.J.S., Monteiro-Junior,J.E. and Grangeiro,T.B.          TITLE Cloning of genomic DNA sequences encoding the 2S albumin Mo-CBP3 from Moringa oleifera          JOURNAL Unpublished          REFERENCE 2 (residues 1 to 163)          AUTHORS Freire,J.E.C., Sousa,A.J.S., Monteiro-Junior,J.E. and Grangeiro,T.B.          TITLE Direct Submission          JOURNAL Submitted (26-FEB-2018) Biologia, Universidade Federal do Ceara (UFC), Ceara, Brazil, Bloco 906, Campus do Pici, Av. Humberto Monte s/n, Fortaleza, Ceara 60440-900, Brazil          COMMENT ##Assembly-Data-START##          Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing          ##Assembly-Data-END##          FEATURES Location/Qualifiers          source 1..163          /organism="Moringa oleifera"          /db_xref="taxon:3735"          /clone="Mo-CBP3-4"  <a href="#">Protein</a> 1..163          /product="CBP3"          /name="2S albumin"</p>
<p><b>-4-</b></p> <p><b>Faire apparaître la séquence d'intérêt: Utiliser le lien FASTA pour faire apparaître la séquence de la protéine.</b></p>	 <p>NCBI Resources <input type="text"/> How To <input type="text"/></p> <p>Protein <input type="text" value="Protein"/> <input type="text"/></p> <p>Advanced</p> <p>FASTA <input type="text"/></p> <p><b>CBP3 [Moringa oleifera]</b></p> <p>GenBank: AZA04495.1</p> <p><a href="#">GenPept</a> <a href="#">Identical Proteins</a> <a href="#">Graphics</a></p> <p>&gt;AZA04495.1 CBP3 [Moringa oleifera]          MAKLTLLLATLALLVLLANASIYRTTVELDEEPPDDNQQQRCHQFQTQQRLRACQRVIRRWSSQGGGPMED          VEDEIDETDEIEEVEVPDQARRPPTLQRCCRQLRNVSPFCRCPSLRQAVQSAQQQQGQVGPQQVGHMYRV          ASRIPAICNLQPMRCPFROQQSS</p>

**Tableau 12.** La recherche d'homologie de la séquence d'intérêt Mo-CBP3 avec les séquences de la base de données GANBANK par l'outil BLAST.

<p style="text-align: center;"><b>-1-</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Chercher dans BLAST l'alignement de la séquence d'intérêt, à l'aide du moteur de recherche, entrer le numéro d'accession ou la forme FASTA.</b></p>	
---	--

-2-

**Résultats du BLAST entre la protéine Mo-CBP3 avec d'autres séquences déjà disponibles**

Job Title	Protein Sequence
RID	<a href="#">EU1X1TK3016</a> Search expires on 06-21 02:44 am <a href="#">Download All</a> ▾
Program	BLASTP <a href="#">?</a> <a href="#">Citation</a> ▾
Database	nr <a href="#">See details</a> ▾
Query ID	lcl Query_1229
Description	None
Molecule type	amino acid
Query Length	163
Other reports	<a href="#">Distance tree of results</a> <a href="#">Multiple alignment</a> <a href="#">MSA viewer</a> <a href="#">?</a>

[?](#) Putative conserved domains have been detected, click on the image below for detailed results.

Query seq. 1 25 50 75 100 125 150 163

Specific hits AAI\_55

Superfamilies AAI\_LTSS superfamily

Alignment Scores  < 40  40 - 50  50 - 80  80 - 200  >= 200

**Distribution of the top 101 Blast Hits on 100 subject sequences**

Banque de données

Domaines conservés

Nombres des hits

Partie 1 : Répartition des hits

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	328	28	00%	2e-113	00.00%	<a href="#">AHG00002.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	318	18	00%	1e-109	0.03%	<a href="#">AHG00001.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Chain A, 2S albumin (Moringa oleifera)</a>	247	47	74%	1e-82	00.00%	<a href="#">5DOM_A</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	172	72	98%	1e-51	1.34%	<a href="#">AZA04404.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	147	47	00%	1e-41	0.83%	<a href="#">AZA04400.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	143	43	00%	1e-40	0.83%	<a href="#">AHG00003.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	142	42	00%	1e-40	0.22%	<a href="#">AZA04401.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S albumin precursor (Moringa oleifera)</a>	138	38	98%	1e-38	0.29%	<a href="#">AHG00004.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Chain A, 2S albumin (Moringa oleifera)</a>	134	34	98%	1e-38	00.00%	<a href="#">0S3F_A</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">CBP3 (Moringa oleifera)</a>	134	34	98%	1e-38	0.29%	<a href="#">AZA04403.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: 2S seed storage protein 5 (Tarenaya hassleriana)</a>	124	24	98%	1e-33	5.02%	<a href="#">XP_010539201.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: 2S seed storage protein 2 (Camelina sativa)</a>	124	24	95%	1e-32	7.53%	<a href="#">XP_010448109.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">hypothetical protein AALP_AA0G331800 (Arabis alpina)</a>	123	23	98%	1e-32	5.03%	<a href="#">KFK27003.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: 2S seed storage protein 2-like (Camelina sativa)</a>	121	21	95%	1e-32	0.17%	<a href="#">XP_010438050.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S seed storage protein (Camelina sativa)</a>	121	21	95%	1e-32	0.17%	<a href="#">AFQ32207.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S seed storage protein 5 (Eutrema salsugineum)</a>	121	21	98%	1e-31	5.51%	<a href="#">XP_008401540.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">RefName: Full=Sweet protein mabinlin-2; AltName: Full=Mabinlin II; Short=MAB II; Contains: RefName: Full=Sweet protein mabinlin-2; c</a>	120	20	98%	1e-31	0.06%	<a href="#">P3023.3</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">mabinlin (Capparis masakali)</a>	120	20	98%	1e-31	0.06%	<a href="#">BAA12204.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">unnamed protein product (Arabis nemorensis)</a>	117	17	95%	1e-30	5.45%	<a href="#">VVB11304.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">SES44 (Arabidopsis thaliana)</a>	117	17	95%	1e-30	3.83%	<a href="#">OAO00044.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S seed storage protein 2 (Capsella rubella)</a>	117	17	98%	1e-30	5.45%	<a href="#">XP_008285043.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: 2S seed storage protein 2 (Camelina sativa)</a>	116	16	98%	1e-30	5.73%	<a href="#">XP_010448170.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">seed storage albumin 4 (Arabidopsis thaliana)</a>	116	16	95%	1e-30	3.83%	<a href="#">NP_194447.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S seed storage protein 5 (Arabidopsis lyrata subsp. lyrata)</a>	115	15	98%	1e-29	0.74%	<a href="#">XP_002800057.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: 2S seed storage protein 5-like (Tarenaya hassleriana)</a>	113	13	98%	1e-29	0.09%	<a href="#">XP_010551054.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">2S seed storage protein 2 (Arabidopsis lyrata subsp. lyrata)</a>	113	13	95%	1e-28	3.40%	<a href="#">XP_002800057.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">unnamed protein product (Arabis nemorensis)</a>	113	13	98%	1e-28	1.07%	<a href="#">VVB15005.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">seed storage albumin 5 (Arabidopsis thaliana)</a>	113	13	98%	1e-28	0.51%	<a href="#">NP_200285.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: 2S seed storage protein 2 (Camelina sativa)</a>	112	12	95%	1e-28	5.34%	<a href="#">XP_010438052.1</a>

**Partie 2 :**  
**Séquences produisant des alignements significatifs avec des valeurs scores et les valeurs E**

The screenshot displays three sections of BLAST search results for the query '2S albumin precursor [Moringa oleifera]'. Each section includes a table with columns for Score, Expect, Method, Identities, Positives, and Gaps. The first two sections show alignments with a score of 328 and 318 bits, respectively. The third section shows alignments for 'Chain A, 2S albumin' with a score of 247 bits. An orange bracket on the right side of the image groups these three sections under the label 'Partie 3 : Résultats détaillés de l'alignement'.

**Partie 3 :**  
**Résultats**  
**détaillés de**  
**l'alignement**

**Discussion de résultats :**

Le résultat du BLAST est divisé en 3 parties :

- ✚ Une vue graphique générale des séquences résultats avec différentes couleurs ;
- ✚ La liste des séquences avec leur score et leur E-value ;
- ✚ Une vue plus détaillée, fournissant pour chaque séquence résultat, l'alignement avec notre séquence requête.

Notre séquence est représentée par la ligne épaisse, graduée de 1 à 163. Le score de chacun des alignements est indiqué par 3 couleurs : rouge, rose et vert. Plus le score est grand, plus la qualité est bonne et plus le pourcentage d'identité est élevé. Parmi les séquences alignées, les plus similaires sont les plus proches de la séquence d'intérêt. Il existe trois correspondances de base de données à score élevé qui s'alignent sur la plupart de la séquence d'intérêt. Les barres suivantes représentent des matchs avec un score inférieur.

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

La production d'eau potable suffisamment clarifiée nécessite l'utilisation des produits chimiques parfois dangereux pour la santé humaine. En effet, l'addition de sels d'aluminium pour la coagulation entraîne souvent la présence dans l'eau de très fortes concentrations d'aluminium dissous, suspecté d'être l'une des causes de la maladie d'Alzheimer et plusieurs troubles médicaux.

De ce fait des alternatives naturelles aux coagulants et aux désinfectants ont été envisagées, y compris les plantes cultivées dont *Moringa oleifera*. Cet arbre tropical a usage multiple est passé d'un arbre marginal, voir inconnue à celui de nouvelle ressource alimentaire ; dans des projets de lutte contre la malnutrition, médicinale ; comme la diminution du taux de glycémie et de cholestérol, et économique ; comme un accélérateur de croissance végétale et dans la dépollution des eaux usées.

Les graines du Moringa une fois transformées en poudre, deviennent un flocculant naturel très efficace pour le traitement de l'eau. Cette efficacité revient à la présence de protéines cationiques actives qui agissent en tant qu'agent adsorbant, coagulant et désinfectant. En effet, ces dernières neutralisent les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques par le mécanisme du patch électrostatique.

Bien que plus d'une famille de protéines ayant une activité de floculation sont présente dans la graine du Moringa. Ce mémoire a pu contribuer à l'étude de quelques protéines coagulantes et en ressortir l'essentiel de leurs caractéristiques structurels et moléculaires. En effet, la littérature scientifique déclare que ces dernières sont :

- ✚ Des protéines hydrosolubles, et où leurs extractions présente une meilleure performance avec une solution saline de 1M.
- ✚ Hautement cationiques avec des points isoélectriques supérieur à 9,5.
- ✚ Thermorésistante et reste active après une durée de 5 heures à 95 °C.
- ✚ Protéines de stockage localisées dans les vacuoles.

Durant cette étude deux composants protéiques majeurs ont été signalé : la protéine flocculante et antibactérienne (MO2.1) et la protéine antifongique (Mo-CBP3) où seul

deux de ces isoformes (Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4) possèdent une structure cristalline disponible.

La protéine MO2.1 est un homodimère de 13kDa dont l'activité floculante a été testée sur l'argile et sur des bactéries à Gram positives et négatives, montrant ainsi une capacité de floculation très intéressante comparable à celle de l'alun. Cette protéine est constituée d'un total de 60 résidus d'acides aminés dont 8 régions sont de charge positive. Cette protéine est constituée principalement d'hélice alpha.

Outre leur utilisation comme agent floculant, la MO2.1 contient des propriétés antimicrobiennes très intéressantes dues à la présence d'une boucle hydrophobe au niveau de la protéine, provoquant ainsi un endommagement des membranes des cellules bactériennes par la fusion des membranes internes et externes, ainsi qu'une fusion des vésicules.

D'autre part, une autre protéine antifongique nommée Mo-CBP3 a été signalée. Cette dernière est un homologue à la 2S Albumine avec une masse moléculaire native de 14,3 kDa. La Mo-CBP3 comporte quatre isoformes (Mo-CBP3-1, Mo-CBP3-2, Mo-CBP3-3, et Mo-CBP3-4).

Les protéines Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4 comptent 163 résidus, où la principale différence réside dans deux résidus d'acides aminés. Ces protéines sont composées de cinq hélices, formant deux chaînes, chacune ayant une liaison disulfure intra et inter-chaîne. Cette disposition est la clé de la stabilité marquée de la protéine et de sa résistance à la chaleur et à la protéolyse.

De tels résultats pourraient encourager les chercheurs à introduire ces nouveaux coagulants dans les programmes d'épuration et de clarification des eaux usées et de s'orienter vers une nouvelle alternative plus respectueuse de l'environnement et sans danger pour la santé humaine. Néanmoins ; des travaux supplémentaires sur le génome et le protéome de *M. oleifera* sont clairement nécessaires.

## Conclusion et perspectives

Nous proposons comme perspectives de :

- ✚ Se baser sur la technologie de protéines recombinantes pour étudier les propriétés de floculation et améliorer les processus de purification de l'eau.
- ✚ Ouvrir un axe concernant l'aspersion foliaire d'une phytohormone naturelle (cytokinine) extraite du Moringa sur les feuilles pour accélérer la croissance végétale, la robustesse et la résistance aux maladies et au différents stress rencontrés.
- ✚ S'intéresser à la capacité antibactérienne de MO et étendre la recherche sur le plan parasitologiques, mycologique et virologique afin d'établir un mécanisme d'action correspondant.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- **Abd-Rabou AA, Zoheir KM, Kishta MS, Shalby AB, & Ezzo MI** (2016) Nano-micelle of *Moringa oleifera* seed oil triggers mitochondrial cancer cell apoptosis. Asian Pacific journal of cancer prevention 17 :4929-4933.
- **Aberra M** (2012) Assessing the feeding values of leaves, seeds and seeds-removed pods of *Moringa stenopetala* using in vitro gas production technique. African Journal Of Biotechnology 11.
- **Abiodun OA, Adegbite JA, & Omolola AO** (2012) Chemical and Physicochemical Properties of *Moringa* Flours and Oil. Global Journal of Science Frontier Research Biological Sciences 12: 975-5896.
- **Agroconsult** (2016) Analyse des Potentialités de l'Exploitation du *Moringa* en Haïti, ministère de l'agriculture, des ressources naturelles et du développement rural (marndr). 211 p.
- **Alexandre O, Boutin C, Duchène P, Lagrange C, Lakel A, Liénard A & Orditz D** (1998) Filières d'épuration adaptées aux petites collectivités. Technique et documentation Lavoisier (FNDAE N22). Paris. France.
- **Alhakmani F, Kumar S, & Khan SA** (2013) Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 3:623-627.
- **Ali EN, Muyibi SA, Salleh HM, Alam MZ, & Salleh MRM** (2010) Production of Natural Coagulant from *Moringa Oleifera* Seed for Application in Treatment of Low Turbidity Water. Journal of Water Resource and Protection 2: 259–266.
- **Aliyu AO, Nwaedozie JM & Adams A** (2013) Quality Parameters of Biodiesel Produced from Locally Sourced *Moringa oleifera* and *Citrullus colocynthis L.* International Research Journal of Pure & Applied Chemistry 3: 377-390. 14 p.
- **Allouche FN** (2006) La phytoremédiation pour la dépollution des eaux usées. Bulletin des énergies renouvelables. Recherche et développement. 16-17p
- **Amagloh FK, & Benang A** (2009) Effectiveness of *Moringa oleifera* seed as a coagulant for water purification. African Journal of Agricultural Research 4 :119-123.
- **Aruna M & Srilatha N** (2012) Water clarification using *Moringa oleifera* Lam. seed as a natural coagulant. Current Biotica 5 :472-486.
- **Atakpama W, Goussivi E, Kponor E, Kanda M, Dourma M, Nare M, Batawila K, Akpagana K** (2014) *Moringa oleifera* lamarck (moringaceae) : une ressource phytogénétique à usage multiple, Semestriel du Conseil Africain et Malgache pour

## Références bibliographiques

---

- l'Enseignement Supérieur Science de la vie, de la terre et agronomie (SVT-A), Revue CAMES 2 :15.
- **Bakiri Z** (2007) Traitement des eaux usées par des procédés biologiques classiques : expérimentation et modélisation. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas. Sétif. 120p
  - **Bardi O, Fanni S** (2015) Les caractéristiques physico-chimiques et biochimiques de poudre de feuilles du *Moringa oleifera*. Mémoire de master. Université d'Adrar. 96p
  - **Batista AB, Oliveira JTA, Gifoni JM, Pereira ML, Almeida MGG, Gomes VM, Cunha MD, Ribeiro CS, Dias GB, Beltramini LM, Lopes JLS, Grangeiro TB, & Vasconcelos IM** (2014) New Insights into the Structure and Mode of Action of Mo-CBP3, an Antifungal Chitin-Binding Protein of *Moringa oleifera* Seeds. PLOS ONE. 9: e111427.
  - **Bello H** (2010) Essai d'incorporation de la farine de feuilles de *Moringa oleifera* dans l'alimentation chez les poulets indigènes du Sénégal : Effets sur les performances de croissance, les caractéristiques de la carcasse et le résultat économique. Thèse pour obtenir le grade de docteur. Université de Dakar. 14 p.
  - **Benkaddour N** (2015) Contribution à l'étude de l'efficacité de la graine de *Moringa oleifera* dans la dépollution des eaux d'oued Safsaf. Mémoire d'ingénieur d'état. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 26p.
  - **Benslimane M, Mostephaoui T, Hamimed A, & Cherif Z** (2014) Performances épuratoires et intérêt du procédé de phytotraitement des eaux usées par des végétaux macrophytes. Courrier du savoir 17.
  - **Berland JM, Boutin C, Molle P & Cooper P** (2001) Procédés extensifs d'épuration des eaux usées. Office des publications des communautés européennes, Luxembourg.
  - **Berne F, & Jean C** (1991) Traitement des eaux. Édition TECHNIP. 306 p
  - **Brix H** (1994) Functions of Macrophytes in Constructed Wetlands. Water Science and Technology, 29: 71-78.
  - **Bitton G** (2005) Wastewater microbiology. 3rd ed. John Wiley & Sons.
  - **Broin M** (2005). Nutritional composition of *Moriga oleifera* leaves. Centre Technique de Coopération Agricole et rurale (CTA) – ACP-UE. 5 p.
  - **Broin M, Santaella C, Cuine S, Kokou K, Peltier G, Joët T** (2002) Flocculent activity of a recombinant protein from *Moringa oleifera* Lam. Seeds. Appl Microbiol Biotechnol 60:114–119.

## Références bibliographiques

- **Bürger R & Wendland W (2001)** Sedimentation and suspension flows: Historical perspective and some recent developments. *Journal of Engineering Mathematics* 41: 101-116.
- **Chantrel P (2002)** Office International de l'eau. pers. Comm.
- **Choudhary M, & Neogi S (2017)** A natural coagulant protein from *Moringa oleifera*: isolation, characterization, and potential use for water treatment. *Materials Research Express* 4: 105502.
- **Coutouly G, Klein E, Barbarie, Kriat M (2012)** BIOSCINCE ET TECHNIQUE : Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bio-informatique. 4 :233-234.
- **Crittenden JC, Trussell RR, Hand DW, Howe KJ, Tchobanoglous G (2012)** Coagulation and Flocculation. In *MWH's Water Treatment: Principles and Design*. John Wiley & Sons. 541–639p.
- **David WM (2004)** Bioinformatics: Sequence and genome analysis. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- **De Saint Sauveur A, Broin M (2010)** Produire et transformer les feuilles de *Moringa*. Imprimerie Horizon à Gémenos, 69p.
- **Delarras C (2014)** Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Edition Lavoisier Tec & Doc. 800p
- **Derdour R (2019)** Essai de production de *Moringa oleifera* pour une éventuelle contribution à l'étude des potentialités de la graine dans l'épuration des eaux usées de la région de Constantine. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri. Constantine. 108p
- **Emmanuel SA, Emmanuel BS, Zaku SG, & Thomas SA (2011)** Biodiversity and agricultural productivity enhancement in Nigeria: application of processed *Moringa oleifera* seeds for improved organic farming. *Biol. J. N. Am* 2 : 867-871.
- **Ezziane S (2007)** Traitement des eaux de rejets. Mémoire de Magister. Université Hassiba Ben Bouali. Chlef. 186 p.
- **Fatombi JK, Jossé RG, Wotto V, Aminou T, & Coulomb B (2007)** Paramètres physico-chimiques de l'eau d'Opkara traitée par les graines de *Moringa oleifera*. *Journal-Société Ouest Africaine de Chimie* 23 : 75.
- **Foidl N, Makkar H, & Becker K (2001)** Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits de Moringa. Dar es-Salaam, Tanzanie, du 29 octobre au 2 Novembre 2001.1-20 p.

## Références bibliographiques

- **Frah H, & Bouzad, H** (2018) Evaluation de l'effet antibactérien et antiparasitaire des graines de *Moringa oleifera* dans le domaine de traitement des eaux usées. Mémoire de Magister. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana. 115p.
- **Freire JE, Vasconcelos IM, Moreno FB, Batista AB, Lobo MD, Pereira ML, Lima JPM, Almeida RV, Sousa AJ, Monteiro-Moreira AC, Oliveira, JTA, & Grangeiro TB** (2015) Mo-CBP 3, an Antifungal chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, is a member of the 2S albumin family. PLoS One 10: e0119871.
- **Gassenschmidt U, Jany KD, Tauscher B, Niebergall H** (1995). Isolation and Characterization of a Flocculating Protein from *Moringa Oleifera* Lam. Biochim. Biophys. Acta 1243: 477–481.
- **Ghebremichael KA, Gunaratna KR, Henriksson H, Brumer H, & Dalhammar G** (2005) A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. Water research, 39: 2338-2344.
- **Gifoni JM, Oliveira JTA, Oliveira HD, Batista AB, Pereira ML, Gomes AS, Batista OAB, Grangeiro TB, & Vasconcelos IM** (2012) A novel chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seed with potential for plant disease control. Biopolymers 98: 406–415.
- **Gommella M, & Gurree H** (1983) Les eaux usées dans les agglomérations urbains ou rurales. ED EYROLLES 61 boulevard saint – Germain. 249 p
- **Gopalakrishnan L, Doriya K, & Kumar DS** (2016) *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food Science and Human Wellness 5:49-56.
- **Hadj-Sadok ZM** (1999) Modélisation et estimation dans les bioréacteurs ; prise en compte des incertitudes : application au traitement de l'eau. Thèse de doctort. Université de Nice Sophia Antipolis, France. 293p
- **Hêdji CC, Gangbazo DK, Houinato MR, & Fiogbé ED** (2014) Valorisation de *Azolla* spp, *Moringa oleifera*, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. Journal of Applied Biosciences 81 : 7277-7289.
- **Harimalala-Andriambelo N, Lafarge C, Saurel R, et Razanamparany L. J** (2015) Analyse du profil de texture (tpa) et caractérisation physicochimique des pâtes de tamarin enrichies en feuilles de *moringa oleifera*. Afrique science 12 : 66-75.

## Références bibliographiques

- **Hêdji CC, Gangbazo DK, Houinato MR, & Fiogbé ED** (2014) Valorisation de *Azolla* spp, *Moringa oleifera*, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences* 81: 7277-7289.
- **Hénault-éthier L** (2016) La phytoremédiation. Société québécoise de phytotechnologie, Fiches techniques de la SQP.
- **Himour A, & Guendouz A** (2017) Etude de l'utilisation des végétaux pour l'épuration des eaux usées. Mémoire de Master. Université Dr. Moulay Tahar. Saida. 104p
- **Idris MA, Jami MS, Hammed AM, & Jamal P** (2016) *Moringa oleifera* Seed Extract: A Review on Its Environmental Applications 11: 1469-1486.
- **Iwema A, Raby D, Lesavre J & Boutin C** (2005) Epuration des eaux usées domestiques par filtres plantes de macrophytes : recommandations techniques pour la conception et la réalisation. Groupe macrophytes et traitement des eaux. Agence de l'eau. France.
- **Jaja-Chimedza A, Graf BL, Simmler C, Kim Y, Kuhn P, Pauli GF, & Raskin I** (2017) Biochemical characterization and anti-inflammatory properties of an isothiocyanate-enriched *Moringa (Moringa oleifera)* seed extract. *PloS one*, 12 :1-21.
- **James A, & Zikankuba V** (2017) *Moringa oleifera* a potential tree for nutrition security in sub-Saharan Africa. *American Journal of Research Communication* 5: 1-14.
- **Jideani VA, & Diedericks CF** (2014) Nutritional, therapeutic, and prophylactic properties of *Vigna subterranea* and *Moringa oleifera*. In *Antioxidant-antidiabetic agents and human health*. IntechOpen 188-206.
- **Kabore A, Savadago B, Rosillon F, Straore A, & Dianou D** (2013) Optimisation de l'efficacité des graines de *Moringa oleifera* dans le traitement des eaux de consommation en Afrique sub-saharienne : cas des eaux du Burkina Faso. *Journal of Water Science* 26 : 209-220.
- **Kakengi AMV, Kaijage JT, Sarwatt SV, Mutayoba SK, Shem MN, Fujihara T** (2007) Effect of *Moringa oleifera* leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania. *Livestock Research for Rural Development* 19: 120.
- **Kumar KP, & Mandapaka RT** (2013) Effect of *moringa oleifera* on blood glucose, ldl levels in types ii diabetic obese people. *Innovative Journal of Medical and Health Science* 3.

## Références bibliographiques

- **Kwaambwa HM, Helling MS, Rennie AR, & Barker R** (2015) Interaction of *Moringa oleifera* seed protein with a mineral surface and the influence of surfactants. *Journal of Colloid and Interface Science* 448:339–346.
- **Kwaambwa HM, Maikokera R** (2008) Infrared and Circular Dichroism Spectroscopic Characterisation of Secondary Structure Components of a Water Treatment Coagulant Protein Extracted from *Moringa Oleifera* Seeds. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 64: 118–125.
- **Laleye OAF, Ahissou H, Olounlade AP, Azando EVB, & Laleye A** (2015) Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise : *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 :2682-2700.
- **Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, & Bertoli S** (2016) *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health. *International Journal of Molecular Sciences* 17: 214-228.
- **Leyral G, Ronnefoy C, & Guillet F** (2002) *Microbiologie et qualité des industries agroalimentaire*. ED SCEREN. Paris. 245p.
- **Lezzar H & Meziani A** (2015) Recherche in silico et conception d’amorce des gènes de tolérance au stress abiotique chez le blé. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri. Constantine. 77p
- **Madrona GS, Branco IG, Seolin VJ, Alves Filho BDA, Fagundes-Klen MR, & Bergamasco R** (2012) Evaluation of extracts of *Moringa oleifera* Lam seeds obtained with NaCl and their effects on water treatment. *Acta Scientiarum. Technology* 34:289-293.
- **Makkar HPS, & Becker K** (1996). Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal feed science and technology* 63: 211-228.
- **Mancer H** (2010) Analyse du pouvoir Epurateur de quelques plantes Macrophytes dans les régions arides. Mémoire de Magister. Université Khider Mohamed. Bisekra. 105p
- **Manceur Y, et Djaballah S** (2016) Analyse microbiologique de l'eau distribuée dans la ville de Tébessa. Mémoire de Master. Université Labri Tébessi. Tébessa. 75p

## Références bibliographiques

- **Mangale SM, Chonde SG, Jadhav AS, & Raut PD** (2012) Study of *Moringa oleifera* (Drumstick) seed as natural Absorbent and Antimicrobial agent for River water treatment. *J Nat Prod Plant Resour*, 2:89-100.
- **Mashela PW** (2017) Growth of *Moringa* (*Moringa oleifera*) seedlings in calcareous, clayey and sandy soils relative to loamy soil. *African Journal of Agricultural Research* 12 : 3508-3512.
- **Mbora A, Mundia G, & Muasya S** (2004) Combating nutrition with *Moringa oleifera*. World Agroforestry Centre, Nairobi, Kenya.
- **Meenakshi M, Manjunatha BM, Manjunath NT** (2015) Performance Assessment of *Moringa oleifera* in Clarification of Surface Water. *International Journal of Science, Engineering and Technology Research* 4:2342-2345.
- **Milind RG, Anand RB, & Chetan NM** (2012) Comparative Study of Different Forms of *Moringa oleifera* Extracts for Turbidity Removal. *International Journal of Engineering Research and Development* 2: 14-21.
- **Morton JF** (1991) The horseradish tree, *Moringa pterygosperma* (Moringaceae)—A boon to Arid Lands?. *Economic Botany* 45:318–333.
- **Moufouk F** (2007) Rôle du laboratoire dans la surveillance des M.T.H. séminaire régional déformation des laborantins en microbiologie alimentaire, eaux de boisson et eaux de baignade. Tipaza.
- **Moulin M, Mossou E, Signor L, Kieffer-Jaquinod S, Kwaambwa HM, Nermark F, Gutfreund P, Mitchell EP, Haertlein M, Forsyth VT, & Rennie AR** (2019) Towards a molecular understanding of the water purification properties of *Moringa* seed proteins. *Journal of colloid and interface science* 554: 296-304.
- **Muhl QE** (2010) Seed germination, tree growth and flowering responses of *Moringa Oleifera* lam. (horseradish tree) to temperature.
- **Nadeem M, Azeem MW, & Rahman R** (2014) Assessment of trans esterified palm olein and *Moringa oleifera* oil blends as vanaspati substitutes. *Journal of Food Science and Technology* 52: 2408–2414.
- **Nand V, Maata M, Koshy K, & Sotheeswaran S** (2012) Water purification using *Moringa oleifera* and other locally available seeds in Fiji for heavy metal removal. *International Journal of Applied* 2 :125-129.
- **Ndabigengesere A, Narasiah KS, & Talbot BG** (1995) Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. *Water research* 29:703-710.

## Références bibliographiques

- **Ndong M, Uehara M, Katsumata S, Suzuki K** (2007) Effects of oral administration of *Moringa oleifera* Lam on glucose tolerance in Goto-Kakizaki and Wistar rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 40:229–233.
- **Neto JX, Pereira ML, Oliveira JT, Rocha-Bezerra LC, Lopes TD, Costa HP, & Monteiro-Moreira ACO** (2017) A Chitin-binding protein purified from *Moringa oleifera* seeds presents anticandidal activity by increasing cell membrane permeability and reactive oxygen species production. *Frontiers in Microbiology* 8: 980-985.
- **Ngandjui Tchangoue YA, Djumyom Wafo GV, Wanda C, Soh Kengne E, Kengne IM, & Kouam Fogue S** (2019) Use of *Moringa oleifera* seed extracts to polish effluents from natural systems treating faecal sludge. *Environmental technology* 40:2018-2026.
- **Nordmark BA** (2018) Efficacy of *Moringa oleifera* proteins as coagulants in a sustainable sand filter for drinking water treatment. Doctoral dissertation. Carnegie Mellon University. 135p
- **Norström A** (2005) Treatment of domestic wastewater using microbiological processes and hydroponics in Sweden. Doctoral thesis. Royal Institute of Technology. Stockholm. Sweden. 62p
- **Okuda T, Baes AU, Nishijima W, & Okada M** (1999) Improvement of extraction method of coagulation active components from *Moringa oleifera* seed. *Water research*, 33: 3373-3378.
- **Olson M** (2001) Stem and root anatomy of *Moringa* (Moringaceae). *Haseltonia* 8: 56-96.
- **Olugbemi TS, Mutayoba SK, & Lekule FP** (2010) Effect of *Moringa* (*Moringa oleifera*) Inclusion in Cassava Based Diets Fed to Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*. 9: 363-367.
- **Otunyo AW, & Wokocha AN** (2015) *Moringa oleifera* seed powder a water coagulant for purification of fresh rain and borehole water in Nigeria, *European International Journal of Science and Technology* 4:22-27.
- **Ouali MS** (2001) Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux. Office des publications universitaires. Algérie. 168p
- **Paikra BK** (2017) Phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of pharmacopuncture* 200: 194-200.
- **Parrotta JA** (2009) *Moringa oleifera* LAM., 1785. ENZYKLOPÄDIE DER HOLZGEWÄCHSE– 40. Erg. Lfg. 6 p.

## Références bibliographiques

- **Pavankumar AR, Kayathri R, Murugan NA, Zhang Q, Srivastava V, Okoli C, Bulone V, Rajarao GK, & Ågren H** (2014) Dimerization of a flocculent protein from *Moringa oleifera*: experimental evidence and in silico interpretation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 32 :406-415.
- **Poumayea N, Mabinguia J, Lutgenb P, & Biganc M** (2012) Contribution to the clarification of surface water from the *Moringa oleifera*: Case M'Poko River to Bangui, Central African Republic. *Chemical engineering research and design* 90: 2346–2352.
- **Pritchard M, Craven T, Mkandawire T, Edmondson AS, & O'neill JG** (2010) A comparison between *Moringa oleifera* and chemical coagulants in the purification of drinking water an alternative sustainable solution for developing countries. *Physics and Chemistry of the Earth* 35:798-805.
- **Ravikumar K & Sheeja AK** (2013) Heavy Metal Removal from Water using *Moringa Oleifera* Seed Coagulant and Double Filtration. *International Journal of Scientific and Engineering Research* 4:10-13.
- **Richter N, Siddhuraju P, & Becker K** (2003) Evaluation of nutritional quality of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia. *Aquaculture* 217: 599-611.
- **Sahnoun MEA** (2015) Epuration des eaux usées du centre culturel islamique Sidi Okba par un filtre de macrophyte. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider. Biskra.
- **Saini RK, Sivanesan I, & Keum YS** (2016) Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *3 Biotech* 6 :203.
- **Sánchez-Muñoz MA, Valdez-Solana MA, Avitia-Domínguez C, Ramírez-Baca P, Candelas-Cadillo MG, Aguilera-Ortíz M, Meza-Velázquez JA, Téllez-Valencia A, & Sierra-Campos E** (2017) Utility of milk coagulant enzyme of *Moringa oleifera* seed in cheese production from soy and skim milks. *Foods* 6: 62.
- **Sarwatt SV, Milang'ha MS, Lekule FP, Madalla N** (2004) *Moringa oleifera* and cotton seed cake as supplements for smallholder dairy cows fed Napier grass. *Livestock Research for Rural Development* 16:38.
- **Sharma RK, Agrawal M, & Marshall F** (2006) Heavy metal contamination in vegetables grown in wastewater irrigated areas of Varanasi, India. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 77: 312-318.

## Références bibliographiques

- **Shebek K, Schantz AB, Sines I, Lauser K, Velegol S, & Kumar M** (2015) The flocculating cationic polypeptide from *Moringa oleifera* seeds damages bacterial cell membranes by causing membrane fusion. *Langmuir* 31:4496-4502.
- **Sid K** (2014) Classification et prédiction en bio-informatique : la découverte des biomarqueurs pour le diagnostic du cancer. Mémoire de Magister. Université Larbi Ben M'hidi. Oum El Bouaghi. 151p
- **Suarez M, Haenni M, Canarelli S, Fisch F, Chodanowski P, Servis C, Michielin O, Freitag R, Moreillon P, Mermoud P** (2005) Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49:3847-3857.
- **Suryawanshi VS, & Umate SR** (2018) Phytochemical Screening of Flowers from *Moringa oleifera* Lam. *Plantae Scientia* 1: 31–35.
- **Tambone F, Pradella M, Bedussi F, & Adani F** (2019) *Moringa oleifera* Lam. as an energy crop for biogas production in developing countries. *Biomass Conversion and Biorefinery*.
- **Tejavath KK** (2011) Studies on some biologically important proteins from *Moringa oleifera* seeds. Doctoral thesis. University of Hyderabad. 182p
- **Theophile M** (2014) Effet de la fertilisation sur la croissance et la production de *Moringa oleifera* local et *Moringa oleifera* PKM-1 dans la Région des Cascades (Burkina Faso). Mémoire pour l'obtention d'un diplôme de master en production végétale. Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina faso.
- **Ullah A, Mariutti RB, Masood R, Caruso IP, Costa GHG, Freita CM, Arni RK, Santos CR, Zaphorlin LM, Mutton MJR & Murakami MT** (2015) Crystal structure of mature 2S albumin from *Moringa oleifera* seeds. *Biochemical and biophysical research communications* 468: 365-371.
- **Valdés-Rodríguez OA, Pérez-Vázquez A** (2019) Seedling Characteristics of Three Oily Species before and after Root Pruning and Transplant. *Plants* 8:258.
- **Vilaseca M, López-Grimau V, & Gutiérrez-Bouzán C** (2014) Valorization of waste obtained from oil extraction in *Moringa oleifera* seeds: coagulation of reactive dyes in textile effluents. *Materials* 7: 6569-6584.
- **Villarruel-López A, López-de la Mora DA, Vázquez-Paulino OD, Puebla-Mora AG, Torres-Vitela MA, & Guerrero-Quiroz LA** (2018) Effect of *Moringa oleifera* consumption on diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 18 :127.

## Références bibliographiques

- **Yang RY, Chang LC, Hsu JC, Weng BB, Palada MC, Chadha ML, & Levasseur V** (2006) Nutritional and functional properties of Moringa leaves—From germplasm, to plant, to food, to health. Moringa leaves: Strategies, standards and markets for a better impact on nutrition in Africa. Moringanews, CDE, CTA, GFU. Paris. 1-9 p.
- **Yusoff M** (2016) Aqueous enzymatic extraction of Moringa oleifera oil with high pressure processing pre-treatment. Food Chemistry 211:400–408.
- **Zoubiedi A** (2016) Etude du pouvoir épuratoire des eaux usées par filtre planté de macrophyte. Mémoire de Master. Université d'El-Oued. 91p

**Contribution à l'étude de quelques protéines du *Moringa oleifera* impliquées dans l'épuration des eaux usées**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **Biotechnologie et Génomique Végétale**

**Résumé :**

Les eaux usées peuvent contenir de nombreuses substances toxiques, ainsi que de nombreux micro-organismes pathogènes qui menacent l'environnement et la santé humaine, leur traitement s'avère donc indispensable.

Les graines de *M. oleifera* présentent un flocculant naturel très efficace pour le traitement de l'eau. Cette efficacité revient à la présence de protéines cationiques actives qui agissent en tant qu'agent adsorbant, coagulant et désinfectant.

Au cours de ce travail, deux composants protéiques majeurs ont été étudiés, la protéine flocculante et antibactérienne MO2.1 et la protéine antifongique Mo-CBP3. Ces protéines hydrosolubles et thermorésistantes sont localisées dans les vacuoles.

La protéine MO2.1 est un homodimère de faible poids moléculaire qui présente une activité flocculante naturelle très efficace. Cette protéine est constituée d'un total de 60 résidus d'acides aminés dont huit régions sont de charge positive. Sa structure secondaire est constituée principalement d'hélice alpha.

Outre son utilisation comme agent flocculant, la MO2.1 est dotée d'une activité antibactérienne, cette activité a été démontrée par une Cryo-TEM sur des cellules d'*E. coli*, montrant un endommagement des membranes des cellules bactériennes par la fusion des membrane internes et externes, ainsi qu'une fusion des vésicules.

Une autre protéine antifongique nommée Mo-CBP3 a été signalée. Cette protéine a la capacité d'inhiber la germination des spores et la croissance mycélienne des champignons. Elle comporte 4 isoformes, mais seules les protéines Mo-CBP3-1 et Mo-CBP3-4 possèdent une structure cristalline disponible. Ces dernières sont disposées d'une manière clé qui leurs confèrent stabilité et résistance à la chaleur ainsi qu'à la protéolyse.

A travers notre recherche bibliographique nous avons pu confirmer que le *Moringa Oleifera* est un arbre miracle qui connaît une place importante en tant que ressource alimentaire, médicinale et économique, c'est aussi un coagulant naturel et biologique qui s'avère une option non négligeable pour la purification de l'eau.

**Mots clés :** *Moringa oleifera*, eaux usées, protéines coagulantes, MO2.1, Mo-CBP3, activité flocculante, activité antibactérienne, activité antifongique.

**Laboratoire de recherche :** Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV)

Jury d'évaluation :

<b>Présidente :</b>	<i>Mme. HAMMOUDA Dounia</i>	<i>MCA - UFM Constantine</i>
<b>Encadrant :</b>	<i>Mme. KACEM Sandra Nadia</i>	<i>MCB - UFM Constantine</i>
<b>Examinatrice :</b>	<i>Mlle. BOUCHEMAL Karima</i>	<i>MAB - UFM Constantine</i>

**Date de soutenance :** 07 /07/2020

