الجمهوريةالجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Seddik Ben Yahia -Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

جامعة محمد الصديق بن يحيى–جيجل-

كلية علوم الطبيعةو الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de Fin d'Etudes

Pour l'obtention du Diplôme de Master II en Biologie

Option : Sciences Pharmacologiques

Thème

L'implication des halométabolites des actinobactéries dans l'effet cytotoxique et anticancéreux

Membres du Jury :

Présidente : ***Dr LAHOUEL Asma***

Examinateur : ***Dr ROUIBAH Hassiba***

Encadreur : ***Dr* AZZOUZ Ouassila**

Réalisé par :

-Fanit Khadidja

-Lahneche Ahlem

Année Universitaire : 2020- 2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force,le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons nos plus vifs et sincères remerciements à notre

*promotrice**Mm AZZOUZ WASSILA.***

On lui exprime notre immense reconnaissance et nos gratitudes pour son aide précieuse, le partage de ses connaissances, son expérience et son enthousiasme.

*Nous tenons vivement à remercier le **Dr LAHOUEL**, pour l'immense privilège qu'elle nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*Notre plus profonde gratitude au **Dr ROUIBAH** pour l'attention qu'elle portera à notre document, en acceptant d'examiner notre travail.*

Nous remercions enfin toute personne ayant aide de prés ou de loin, peu ou prou à la réalisation de notre projet.

Un grand merci à tous.

Dédicace

Avec l'aide de dieu le tout puisant clément et miséricordieux, j'ai pu accomplir ce travail que je dédie :

***Ames chers parents**, qui m'ont soutenue dans mes études, et pour leur encouragement et leur amour.*

Sans lesquels je ne serais jamais arrivée là où j 'en suis.

*A mes très chers frères ; **Mohamed, Oussama**, **Abdrazzak** et **Imad**.*

*Ames très chères sœurs ; **Hayat** et **Saida.***

Pour leurs affection.que dieu leur accorde le succès, le bonheur et la santé et renforce notre union.

*A ma très chère binôme : **Lahneche Ahlem***

***A« Djamila Makhnach »** d'être une amie si merveilleuse, je suis vraiment chanceuse de t'avoir à mes côtes.*

***A tous mes amis et collègues** son exception*

***A tous les gens** que j'aime et qui m'aime.*

Khadidja

Dédicace

A la lumière de ma vie, mes parents :
*A la personne la plus chère dans ce monde, à «**Mon pèreMostafa**» pour sa tendresse, son encouragement, son dévouement et son soutien tout au long de ces longues années d'études. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude.*

*A la femme qui m'a encouragée, aidée et guidée dans le chemin de la vie« **Ma mèreZebida** » source d'amour, de tendresse bijoux de ma vie, « Maman je t'aime ».*

*A mon seul très cher frère: **Salah.***

*A mes sœurs **: Naaima, Soumia, Saliha, Souaad, Houda ,Yasmine et katkoutaLoujine**.*

*A Mon cher amour, mon mari **Hicham Bougarra** qui ne m'a jamais abandonné. Ma belle-famille et surtout ma belle-mère **Nassira**, et mon beau-père **Omar**.Merci pour votre soutien continu.*

*Aux maris de mes sœurs : **Riad, Bouaaza, Samir.** à leurs enfants : **Islam, Mehdi, Nerimane, Arwa, Meataze, Youssef, Wassim, Jawade.***

*A ma très chère binôme : **Khadîdja Fanit.***

*Je le dédie aussi à mes très chères amies :**R.Nessrine, A. Hayat, B.Warda, B.Nabila, B.Khawla, B. Houda, Imane.T.***

*A Toute ma famille paternelle et maternelle. A mes oncles et tantes. Mes cousins et mes cousines sans exception. Surtout **Imad, Raouf et Soumia.***

Ahlem

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction……..1

I. Chapitre 1 : Généralités sur le cancer 5

I.1 Définition 5

I.2 Classification des cancers 6

I.3 Caractères généraux de la cellule cancéreuse 7

I.3.1 Anomalies structurales et ultrastructurales 7

I.3.2 Anomalies génétiques.....8

I.3.3 Anomalies métaboliques.....9

I.4 Cycle cellulaire.....10

I.4.1 Les phases du cycle cellulaire et leur régulation. 10

I.4.2 Le contrôle du cycle cellulaire 11

I.5 La mort cellulaire 13

I.5.1 L'apoptose.....13

I.6 La cancérogénèse.....18

I.6.1 Les étapes de la cancérogénèse.....18

II. Chapitre 02 Généralités sur les actinobactéries 22

II.1 Historique.....22

II.2 Définition 22

II.3 Biologie des actinobactéries 23

II.4 Critères d'identification des actinobactéries 24

II.4.1 Les critères morphologiques.....24

II.4.2 . Les critères chimiotaxonomiques.....25

II.4.3 Les critères moléculaires 26

II.5 Systématique des actinobactéries.....26

II.6 Le développement des actinobactéries.....28

II.6.1 Cycle de vie des actinobactéries 28

II.6.2 La formation des spores par les actinobactéries 29
II.7 Habitat des actinobactéries 30
II.7.1 Environnement terrestre.....30
II.7.2 Environnement aquatique 31
II.8 Les domaines d'application des actinobactéries 32
II.9 Les métabolites secondaires des actinobactéries.....33
II.9.1 Activités biologiques des métabolites des actinomycètes 34
III. Chapitre 3 : Généralités sur les halométabolites 42
III.1 Définition 42
III.2 Diversité structurelle des bactéries halométabolites 43
III.3 Halométabolites avec des fonctions potentielles.....48
III.4 Biosynthèse des halométabolites 49
III.4.1 Bioéléments et Halogènes.....49
III.5 Enzymes 52
III.5.1 Haloperoxydases.....52
III.5.2 Halogénases flavine-dépendantes 52
III.5.3 Halogénases non hémiques, fer, a-cétoglutarate et O_2 dépendantes 53
III.5.4 Fluoration 54
IV. Chapitre 4 : Effet des halométabolites des actinobactéries sur le cancer 56
IV.1 Les halométabolites 57
IV.1.1 L'effet cytotoxique :.....57
IV.1.2 L'effet anticancéreux : 67
IV.2 Mécanisme d'action des halométabolites sur une cellule cancéreuse 77
IV.2.1 La voie extrinsèque.....77
IV.2.2 La voie Intrinsèque 78
Conclusion 80
Référence 82

Liste des abréviations

ALLN : MG-132, N-acetyl-leucylleucyl-norleucinal.

ARNr 16s : sous unité 16S de l'ARN ribosoma

Bax: *Bcl2-associated proteinX*.

Bcl-2: B-cell lymphoma 2.

BM: bonemorphogeneticproteins.

CC : cholangiocarcinome.

CDC : Cycle de division cellulaire

CDK : Cycline dépendent de kinase

CI50 : Concentration inhibitrice 50%

CKI : Inhibiteur de CDK

DD : Domaine de mort

DED : Domaine de mort effecteur

CSID : Complexe de signalisation inducteur de mort.

DLL4: delta-like ligand 4.

MEC: Matrice extra cellulaire.

FGF-2: fibroblast growth factor 2.

FTI : Inhibiteur de farnesyl transférase.

GC: Guanine Cytosine.

GST : Gène suppresseur de tumeur.

PIA : Protéine inhibitrice de l'apoptose.

IL1 : l'interleukine.

NPI-0052: La salinosporamide A.

PDGF-BB: platelet-derived growth factor.

PH: Le potential d'Hydrogène.

TGF-β1: transforming growth factor.

VEGF: vascular endothelial growth factor.

VEGF-R: VEGF receptor.

MDR : Multidrug résistance.

ODC : d'ornithine décarboxylase.

FADD : domaine de la mort associée au FAS.

TRADD: domaine de la mort associée au TNFR.

Bax : *Bcl2-associated proteinX*.

TNF: tumor nécrosis facteurs.

NF-ЌB:nulear facteur-kappa B.

P53 : tumorprotein 53.

FGF : facture de croissance des fibroblastes.

Liste des figures

N°	Titre de l'image	Page
Figure 1	Les caractéristiques du cancer.	**5**
Figure 2	Le cycle cellulaire.	**11**
Figure3	La voie de l'apoptose intrinsèque (mitochondriale).	**17**
Figure 4	La voie de l'apoptose extrinsèque.	**17**
Figure 5	Les stades de la cancérogenèse et les occurrences impliquées dans chacun.	**18**
Figure 6	Les étapes de l'angiogenèse normale.	**19**
Figure 7	Les différentes étapes du processus métastatique.	**20**
Figure 8	Aspect morphologique d'isolats d'actinobactéries sur gélose amidon caséine.	**23**
Figure9	Cycle de vie des Actinobactéries sporulantes	**28**
Figure 10	Caractéristiques morphologiques des spores dans différents genres d'Actinobactéries.	**30**
Figure 11	Répartition des composés bioactifs découverts selon leur origine.	**34**
Figure12	La structure chimique de Streptochlorine.	**58**
Figure13	L'inhibition de la croissance des cellules CC par le streptochlorine.	**58**
Figure14	La structure chimique de la saccharoquinoléine.	**59**
Figure15	Croissance des cellules cancéreuses du côlon (HCT116) dans les cellules traitées par la saccharoquinoléine.	**60**
Figure 16	Régulation à la baisse des protéines de point de contrôle du cycle cellulaire impliquées dans la transition de phase G1 à la phase S.	**61**
Figure 17	Structure des alcaloïdes bis-indoles chlorés 1–9 de *Streptomyces sp.* SCSIO 11791.	**62**
Figure18	Structure chimique de kendomycine A et leurs dérivés (B, C, D).	**64**
Figure 19	La structure chimique du nocardiotideA, tryptophan, l'acide kynurenic et l'acide amino-3-methoxybenzoic.	**66**
Figure 20	Le nocardiotide A induit la mort cellulaire dans les lignées cellulaires CT26, HeLa et MM.1S.	**66**
Figure21	La structure chimique de les lucentamycines A-D.	**67**
Figure 22	Divers signaux apoptotiques de cellules HuCC -T1 et SNU478 lors d'un traitement avec de la streptochlorine.	**69**

Figure 23	Effet de la streptochlorine sur les cellules HuCC -T1 et les cellules SN U478.	**70**
Figure 24	Effet anti métastatique de la streptochlorine.	**70**
Figure 25	La structure chimique de salinosporamide (A, B, C).	**72**
Figure 26	NPI-0052 inhibe à la fois inductible et constitutif Activation de NF-B en fonction de la dose et du temps.	**73**
Figure 27	NPI-0052 inhibe la translocation nucléaire de p65 induite par le TNF.	**74**
Figure28	Induction de l'apoptose par traitement par la streptochlorine des cellules U937.	**75**
Figure29	Effets de la streptochlorine sur les niveaux du récepteur de la mort et des membres de la famille Bcl-2 dans les cellules U937.	**76**
Figure30	Schéma récapitulatif représente les principales cibles des halométabolites sur la voie extrinsèque de l'apoptose.	**77**
Figure31	Schéma récapitulatif représente les principales cibles des halométabolites sur la voie intrinsèque de l'apoptose.	**78**

Liste des tableaux

N°	Titre de tableau	Page
Tableau 1	Les différents types de cancers selon le tissu dont ils sont originaires.	**7**
Tableau 2	Exemples de gènes impliqués dans différents cancers (oncogènes).	**8**
Tableau 3	Exemple de gènes suppresseurs de tumeurs (GST) pouvant être mutés dans certains cas de cancer.	**9**
Tableau 4	Spécificités de substrats des caspases 1 à 9 humaines.	**15**
Tableau 5	Métabolites secondaires à activité antifongique isolés des actinobactéries sp (milieu marin).	**35**
Tableau 6	Composés bioactifs produits par les actinobactéries marines ont une activité anti inflammatoire.	**36**
Tableau 7	Composés antioxydants dérivés d'actinobactéries (écosystème marin).	**37**
Tableau 8	Composés bioactifs dérivés des actinobactéries ont montré des activités antibactériennes et antitumorales.	**38**
Tableau 9	Composés bioactifs produits par les actinobactéries marines à une activité anticancéreuse.	**39**
Tableau 10	Composés bioactifs produits par les actinobactéries marines possédants une activité cytotoxique.	**40**
Tableau 11	Classification des halométabolites isolés d'actinobactéries marines.	**43-48**
Tableau 12	Test de viabilité dans plusieurs types de cellules cancéreuses et de cellules normales après traitement avec saccharoquinoléine pendant 72 h.	**59**
Tableau 13	Cytotoxicités de cinq composés 1, 2, 5, 7, 9 contre un panel de lignées cellulaires cancéreuses et non cancéreuses humaines (valeur IC50, M).	**62**
Tableau 14	Valeurs IC50 (µM) des composés 1 à 3 contre six lignées cellulaires tumorales humaines et deux lignées cellulaires non malignes.	**65**

Introduction

Introduction

Le cancer est la deuxième cause de mortalité dans le monde. Malheureusement, il s'agit d'une maladie variétale au niveau tissulaire et cette variété constitue un défi majeur pour son diagnostic spécifique, suivi de l'efficacité du traitement. Il se produit par une série de mutations successives dans les gènes de sorte que ces mutations modifient les fonctions cellulaires. Les composés chimiques ont un rôle évident dans la formation de mutations génétiques et de cellules cancéreuses. Il est intéressant de noter que les substances chimiques environnementales aux propriétés cancérigènes influencent directement ou indirectement le cytoplasme et le noyau des cellules et entraînent des troubles génétiques et des mutations génétiques **(Hassanpour et *al.*,2017).**

Les approches thérapeutiques traditionnelles, y compris la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie, ont échoué dans le traitement efficace du cancer. Par conséquent, il existe un besoin urgent de trouver de nouveaux agents anticancéreux efficaces **(Soleimanpour et *al.*, 2020).** De nos jours, les produits d'origine naturelle jouent un rôle important dans le traitement du cancer ; environ 60 % des composés anticancéreux étaient dérivés de sources naturelles, notamment des plantes, des animaux et des micro-organismes **(Al-Dhabi et *al.*, 2019)**.

Récemment, les bactéries et leurs métabolites secondaires méritent une considération sérieuse en tant qu'agents thérapeutiques contre le cancer. Cependant, des utilisations de bactéries et de leurs produits pour le traitement du cancer ont été signalées pour la première fois par William Coley **(Baindara et *al.*, 2020).**

Les actinomycètes, en tant qu'un groupe important parmi les micro-organismes, sont une ressource abondante d'activités biologiques uniques en raison de leurs métabolites secondaires avec une grande diversité structurelle **(Xu et *al.*, 2017).** Ce groupe de micro-organismes, le genre *Streptomyces* en particulier, est réputé pour sa capacité à produire une multitude de substances naturelles produites avec d'immenses diversités structurelles et biologiques, dont beaucoup ont des applications dans la biotechnologie, la médecine et l'agriculture. Face aux problèmes de santé mondiaux tels que l'augmentation des maladies et la résistance généralisée aux antibiotiques **(Shan et *al.*, 2018)**.

En raison de la forte concentration d'ions chlorure et brome dans l'eau de mer, les actinomycètes marins produisent généralement plus de composés halogénés que ceux de leurs

homologues terrestres. La majorité des composés halogénés ont montré certain type de propriétés biologiques **(Wang et *al.*, 2021),** ces produites ont un large spectre d'activités biologiques ; par exemple : antibactérien, antifongique, antiviral, antiparasitaire, immunosuppresseur, antitumoral, inhibiteur enzymatique et diabétique **(Prashith et *al.*, 2010),** antiviral, anticancéreux et anti-inflammatoire **(Wenna et *al.*,2018).**

Le but de ce travail est de faire une recherche bibliographique sur les effets cytotoxiques et anticancereux des halométabolites des actinomycètes.

Dans le premier chapitre nous avons abordé des généralités sur le cancer.

Dans le deuxième chapitre nous avons présenté une description des actinomycètes et leur diversité,ainsi que leurs activitésbiologiques.

Le troisième chapitre présente les halométabolites et leurclassification, leur biosynthèse et aussi leurs domaines d'application.

Une analyse critique des données bibliographiques, des travaux réalisés sur l'effet des halométabolites issus des actinomycètes sur le cancer et les mécanismes d'actions suggérés, a été rapporté dans le dernier chapitre.

Chapitre 1
Le cancer

I. Chapitre 1 : Généralités sur le cancer

I.1 Définition

Le cancer est la deuxième cause de mortalité dans le monde. C'est un problème grave qui affecte la santé de toutes les sociétés humaines **(Hassanpour et *al.*, 2017)**.Il estcaractérise par une multiplication incontrôlée et illimitée de cellules dépassant le taux naturel de mort cellulaire (apoptose), liée à un échappement aux mécanismes de régulation qui assure le développement harmonieux de notre organisme(Figure 1) **(NalânUtku, 2011)**.

La cellule cancéreuse devient totalement indisciplinée, suite à une agression ou un dommage lié à une modification de la structure d'une gêne ; c'est ce qu'on appelle une « mutation ». Parfois, l'agression est violente et courte. Le plus souvent elle est de faible intensité, mais s'étend sur une longue période.

Cette altération intime de la cellule constitue la base même de tous les cancers. La cellule n'arrête plus de se multiplier, et reste en vie dans un organe où habituellement les cellules meurent et se renouvellent rapidement. Cette prolifération va aboutir à la formation de la tumeur, qui, en se développant arrive à détruire les cellules normales avoisinantes **(NalânUtku, 2011)**.

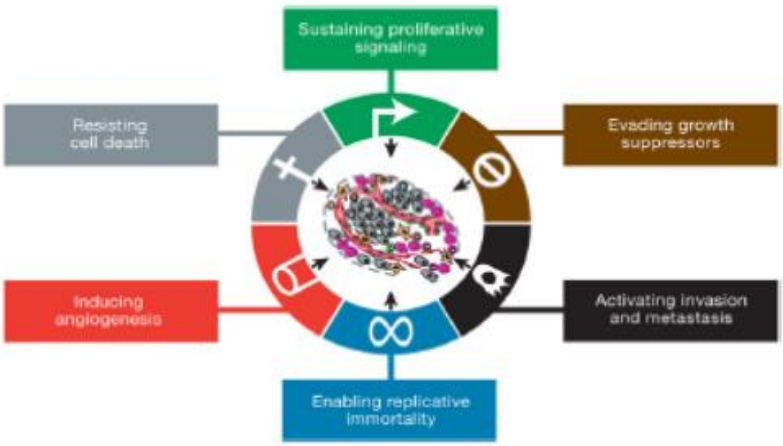


Figure1 : Les caractéristiques du cancer **(Hanahan et *al.*, 2011)**.

I.2 Classification des cancers

Différents types de cancers ont été répertoriés et classés selon l'organe principal ou le tissu à partir duquel ils se développent. Les cancers sont généralement classés en 3 catégories, à savoir les carcinomes, les sarcomes et les tumeurs hématopoïétiques(**Tableau1) :**

- Le carcinome : les cellules cancéreuses se développent dans les tissus qui recouvrent les organes. Les tissus externes (l'épiderme) peuvent aussi être touchés. Le tissu dans lequel les cellules cancéreuses se développent est appelé épithélium. Dans ce cas, les cellules cancéreuses se développent directement dans l'épithélium d'une glande comme cela peut-être le cas avec le sein ou encore la prostate.

- Le sarcome : ici, les cellules cancéreuses se développent dans les tissus de support que sont les os (ostéosarcome), la graisse (liposarcome) ou encore les muscles (rhabdomyosarcome).

- Le cancer hématopoïétique : cette dernière typologie concerne les cancers du sang (leucémie) ainsi que ceux qui touchent les organes lymphoïdes (lymphome) **(Vincent et *al.*, 1996).**

Tableau1 : les différents types de cancers selon le tissu dont ils sont originaires **(Morère et *al.*, 2011).**

Principaux types de cancers	Tissu d'origine de la tumeur	Fréquence (estimation)	Localisations
Adénocarcinome	Épithélium (tissu de recouvrement des glandes)	85 % de tous les cancers	Sein, foie, rein, prostate, ovaire, thyroïde, colon, estomac, glandes salivaires, poumon...
Carcinome épidermoïde	Épithélium malpighien (peau, muqueuses, épiderme)	85 % de tous les cancers	Peau, voies digestives, poumon, sphère ORL (larynx, pharynx, cavité buccale), col utérin...
Sarcome	Tissu de soutien ou musculo-squelettique (os, muscles, tissu conjonctif ou graisseux...)	2 % de tous les cancers	Os, cartilage, tissu graisseux, vaisseaux...
Lymphome de Hodgkin	Lymphocytes B ou T, cancer caractérisé par la présence de grosses	5 à 7 % de tous les cancers	Ganglions, rate

	cellules atypiques		
Lymphome non-Hodgkinien	Lymphocytes B ou T	5 à 7 % de tous les cancers	Ganglions, voies digestives, peau, cerveau, os, organes génitaux, poumon...
Leucémie	Cellules de la moelle osseuse (blastes)	4 % de tous les cancers	Sang
Myélome	Cellules de la moelle osseuse (plasmocytes)	4 % de tous les cancers	Moelle osseuse

I.3 Caractères généraux de la cellule cancéreuse

I.3.1 Anomalies structurales et ultrastructurales

La cellule cancéreuse possède en règle générale un phénotype différent de sa cellule d'origine. On parle ainsi de cellule "transformée". Une cellule néoplasique tumorale acquière plusieurs propriétés morphologiques typiques spécifiques de la cellule tumorale. Parmi les changements morphologiques observés, on trouve:

-Les anomalies des noyaux: noyaux volumineux, multiples, nucléolesvisibles, hyperploïdie (anisocaryose);

-Les anomalies de la taille des cellules (hétérogénéité connue sous le nom d'anisocaryose ou anisocytose);

-Les anomalies cytoplasmiques comme l'augmentation du rapport cytonucléaire par augmentation du contenu en acides nucléiques du cytoplasme résultant ainsi en un cytoplasme basophile;

-Les anomalies de la membrane cytoplasmique: perte de l'inhibition de contact, modification de l'adhésivité, modifications des antigènes de surface, la multiplication et l'empilement des couches cellulaires.

-Le nombre de mitochondries est souvent diminué et l'ultrastructure de ces dernières modifiée (quantité de crêtes réduite).

-Certaines enzymes mitochondriales sont altérées ou quantitativement réduites. C'est le cas de la F1-ATPase, des MAO, de la glutamatedeshydrogénase.

-Le génome mitochondrial est parfois anormal. Ainsi, dans certains types de leucémies la quantité d'ADN mitochondrial est amplifiée **(Macdonald et *al.*, 2003 ; Moreau, 2006).**

I.3.2 Anomalies génétiques

I.3.2.1 Les oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs

Les protéines impliquées à différents niveaux dans la prolifération cellulaire sont codées par des gènes normaux, a posteriori dénommés **proto-oncogènes**. Certaines formes mutées de ces gènes, les **oncogènes**, codent pour des protéines de stimulation qualitativement et/ou quantitativement plus puissantes (Tableau 2). Ces protéines sont capables d'induire et/ou maintenir une prolifération cellulaire excessive.

A contrario, des **gènes suppresseurs de tumeur (GST)** codent pour des protéines normales, inhibitrices de la prolifération cellulaire (Tableau 3). Ces dernières peuvent être rendu inactives par des mutations, privant ainsi les cellules des "freins" homéostatiques capables de limiter leur prolifération **(Moreau, 2006).**

Tableau 2 : Exemples de gènes impliqués dans différents cancers (oncogènes)**(Moreau, 2006).**

Gènes codant pour des facteurs de croissance (FC) ou pour leurs récepteurs (R).	
PDGF	"Platelet Derived Growth Factor", FC, gliomesmalins (tumeurscérébrales).
erb-B	R de l'EGF ("Epidermal Growth Factor"), glioblastome (tumeurcérébrale).
erb-B2 ou HER-2	R de FC, cancer du sein, de l'ovaire.
RET	R de FC, cancer de la thyroide.
Gènes impliqués dans l'amplification de la transduction de messages de stimulation.	
Ki-ras	Cancer du poumon.
N-ras	Leucémies
Gènes codant pour des facteurs de transcription activateurs de gènes de prolifération.	
C-myc	Leucémies, cancer du sein, de l'estomac, du poumon.
N-myc	Neuroblastome, glioblastome.
L-myc	Cancer du poumon.
Gènes codant pour d'autres facteurs.	
Bc1-2	Code pour une protéine qui, normalement, bloque le suicide cellulaire(apoptose). Lymphome B.
Bcl-1	(ou PRAD1). Code pour la cycline D1 (Cf. Cycle Cellulaire). Cancer du sein,de la tête et du cou.
MDM2	Code pour un antagoniste de la protéine codée par le gène p53 suppresseur detumeur. Sarcomes, et nombreuses autres tumeurs.

Tableau 3 : Exemple de gènes suppresseurs de tumeurs (GST) pouvant être mutés dans certains cas de cancer **(Moreau, 2006).**

Gènes codant pour des protéines cytoplasmiques.	
APC	Cancer du colon, de l'estomac.
DPC4	Code pour une molécule impliquée dans une voie de signalisation inhibant la prolifération cellulaire. Cancer du pancréas.
NF-I	Code pour une protéine inhibant la protéine Ras stimulant la prolifération cellulaire. Neurofibrome, pheochromocytome, leucemiemyeloide chronique.
NF-2	Meningiome, ependymome, schwanome
Gènes codant pour des protéines nucléaires.	
MTS-I	Code pour la protéine pl6 qui constitue un frein essentiel de l'horlogedu cycle cellulaire. Divers cancers.
RB	Code pour la protéine RB qui constitue un frein essentiel du cycle cellulaire. Rétinoblastome, ostéosarcome, cancer de la vessie, cancer du poumon (petites cellules), cancer du sein.
p53	Code pour la protéine p53, qui peut interrompre la division cellulaire et déclencher l'apoptose (suicide) des cellules anormales. Divers cancers.
WTI	Cancer du rein (Tumeur de Wilms).
Gènes codant pour d'autres protéines.	
BRCA-1	Cancer du sein et de l'ovaire.
BRCA-2	Cancer du sein.
VHL	Cancer du rein

I.3.3 Anomalies métaboliques

Une capacité accrue des cellules cancéreuses à utiliser la voie glycolytique pour la production d'ATP représente l'anomalie la plus fréquente. La capacité glycolytique des cellules cancéreuses est en règle générale supérieure à celle des cellules normales.

Les cellules cancéreuses ont une propension à sécréter des facteurs de croissance et des protéases. Elles produisent également davantage de polyamines que les cellules normales. Ces molécules dérivent de la décarboxylation de l'ornithine en présence d'ornithine décarboxylase (ODC), dont l'activité ODC est accrue dans les cellules cancéreuses. Elles sont indispensables à la prolifération cellulaire. L'ODC est codée par un proto-oncogène situé dans

l'espèce humaine sur les chromosomes 2 et 7 à proximité immédiate d'un autre proto-oncogène, le N-myc.

Les cellules malignes peuvent également acquérir une résistance à certaines drogues antitumorales, par l'intermédiaire de protéines transmembranaires du plasmolemme comme par exemple la P-gp (Permeability glycoprotein'). Cette protéine est responsable de ce que l'on appelle la « Multi Drug Resistance » (MDR). Dans l'espèce humaine les 2 gènes MDR1 et MDR2 sont également situés sur le chromosome 7 **(Moreau, 2006).**

I.4 Cycle cellulaire

Le cycle de division cellulaire est le processus fondamental par lequel une cellule duplique son cytoplasme et contenu nucléaire et se divise en deux cellules filles génétiquement identiques **(Creff, & Besson, 2020).**

La progression du cycle cellulaire est entraînée par des combinaisons spécifiques de complexes hétérodimères cycline/CDK (kinase dépendante de la cycline), cette licence progresse d'une phase du cycle cellulaire à l'autre. Dans ces complexes, le CDK est la sous unité catalytique qui a une activité sérine/thréonine kinase et la sous-unité cycline permet l'activation du CDK et détermine la spécificité du substrat. Ces acteurs sont finement régulés au niveau de la transcription, de la localisation, les post-traductionnel modifications (principalement phosphorylation) et dégradation des protéines. Un autre niveau de régulation est leur association avec des partenaires inhibiteurs appelés CKI (Cyclin-dependent Kinase spécificité Inhibitor). CKI sont divisés en deux familles selon leur structure, de liaison CDK et évolution origine : la famille INK4 et la famille Cip/Kip **(Creff, & Besson, 2020).**

I.4.1 Les phases du cycle cellulaire et leur régulation.

Une caractéristique essentielle des cellules cancéreuses est la dérégulation des contrôles du cycle cellulaire. Le cycle de division cellulaire fonctionne de manière oscillatoire pour coupler la réplication de l'ADN cellulaire avec la ségrégation chromosomique, garantissant ainsi que le matériel génétique dupliqué est distribué de manière égale à deux cellules filles **(Sherr&Bartek, 2017).**

Les cellules eucaryotes divisent leur cycle cellulaire en deux périodes : la période la plus longue, l'interphase, est composée de quatre phases différentes : phase G1 (où les cellules décident de croître ou d'entrer dans un état de repos, G0, phase S (où se produit la synthèse de l'ADN), G2 (où les cellules se préparent à la mitose).La deuxième période et la plus courte est

en effet la mitose, ou phase M, où les cellules divisent le matériel génétique et la cytokines se produit(Figure 2) **(Marie-Paule et *al.*,2017).**

Les cyclines exprimées au cours des différentes phases du cycle régulent de manière allostérique une famille de kinases dépendantes des cyclines (CDK), dont la phosphorylation de substrats clés renforce la progression du cycle cellulaire (Figure 2). Des contrôles de point de contrôle supplémentaires agissent pour garantir qu'un processus est terminé avant qu'un autre ne commence. Ces mécanismes garantissent, par exemple, que les cellules G1 qui acquièrent des dommages à l'ADN n'entrent pas en phase S, que les dommages à l'ADN réplicatif pendant la phase S sont réparés avant que les cellules n'entrent en mitose et que les chromosomes dupliqués soient correctement alignés sur le fuseau mitotique avant de se séparer **(Sherr&Bartek, 2017).**

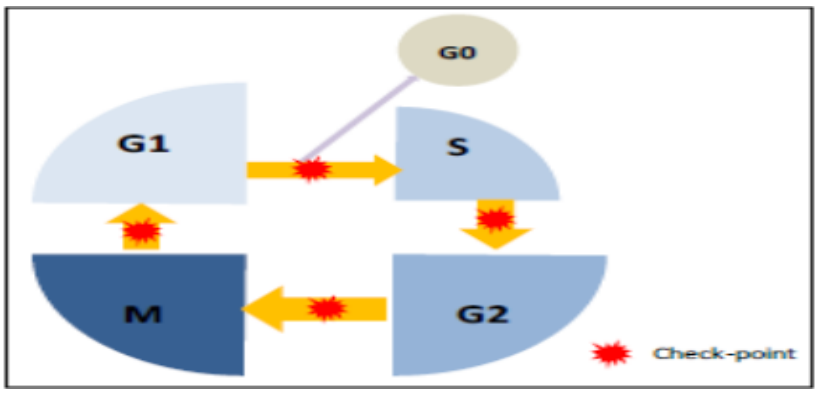


Figure 2: Le cycle cellulaire. Le cycle cellulaire se compose de 4 phases : une phase G1 (gap 1) de présynthèse de l'ADN, suivie soit d'une sortie du cycle cellulaire avec la phase G0, soit d'une phase S de synthèse de l'ADN, puis d'une phase G2 de prédivision et se termine par la phase M de mitose. La progression du cycle à travers ces 4 étapes se fait sous le contrôle de points de transition ou check-points **(Marie-Paule et *al.*,2017).**

I.4.2 Le contrôle du cycle cellulaire

Dans le cycle cellulaire des mammifères, la transition à travers les différentes phases est étroitement contrôlée par les cyclines (cyc), leurs partenaires Sérine/Thréonine cyclin-dépendent kinases (CDK), les inhibiteurs de CDK (CKI) et la famille de protéines du rétinoblastome (pRb).La progression du cycle cellulaire est assurée par l'état synchronisé ON ou OFF des CDK lorsqu'ils sont associés à des cyclines ou des CKI. Contrairement aux CDK et aux CKI, les niveaux de cycline fluctuent en raison de la synthèse et de la dégradation, donc de manière cyclique l'activation des CDK. Plus de 20 CDK ont été identifiées mais, parmi elles, les CDK1, 2, 4 et 6 jouent un rôle majeur en tant que régulateurs de la

progression du cycle cellulaire. Les facteurs de croissance, tels que les œstrogènes et le facteur de croissance épidermique humain, favorisent l'expression des cyclines de type D (D1, D2 et D3) reliant ainsi directement les signaux environnementaux à la machinerie du cycle cellulaire **(Sherr&Bartek, 2017).**

La kinase 4 dépendante de la cycline (CDK4) et son homologue fonctionnel CDK6 agissent comme maîtres intégrateurs dans la phase G1, se couplant avec les signaux mitogènes et antimitogènes du cycle cellulaire ainsi qu'avec leurs perversions oncogènes dans les cellules cancéreuses. Ils phosphorylent et inactivent les protéines suppresseurs du cycle cellulaire/tumeur de la famille pRb (p105Rb, p107 et p130Rb2) et Smad3. Cela conduit à la fois à la transcription dépendante d'E2F des enzymes et régulateurs essentiels du cycle cellulaire et à l'assemblage du complexe de pré-réplication. L'activité CDK4/CDK6 est dérégulée par divers mécanismes dans de nombreuses tumeurs humaines, et elle s'est récemment révélée cruciale pour divers processus de transformation oncogène. Concernant l'interface entre les cascades de signalisation mitogène/oncogène et l'orchestration autonome du cycle cellulaire, la compréhension des mécanismes moléculaires de la régulation de CDK4/CDK6 reste donc d'une importance fondamentale **(Bockstaele et *al*., 2009).**

L'activation de CDK4/CDK6 est un processus en plusieurs étapes qui nécessite absolument d'abord la liaison d'une cycline de type D (D1, D2 ou D3) puis une phosphorylation activatrice dans la boucle T à T172 pour CDK4 et T177 pour CDK6. Il est généralement considéré que les mitogènes activent CDK4/CDK6 en induisant des cyclines de type D à des concentrations qui permettent de dépasser un seuil inhibiteur imposé par les protéines inhibitrices INK4 CDK4/CDK6. Néanmoins, diverses caractéristiques moléculaires de l'activation de CDK4/CDK6, y compris la régulation de leur association avec les cyclines et de leur phosphorylation en boucle T, ainsi que les rôles complexes de Cip/Kip CDK les « inhibiteurs » (p21, p27 et p57) de ces processus, restent mal connus ou débattus. Contrairement à la coexistence de plusieurs kinases activatrices de CDK (CAK) chez les champignons et les plantes, dans les cellules animales, une seule CAK constituée de la complexe cycline H-CDK7-Mat1 est considérée comme responsable de l'activation de la phosphorylation. Des différentes CDK du cycle cellulaire, y compris CDK4. Outre son rôle dans l'activation de CDK, CDK7 en tant que composant du facteur de transcription général TFIIH phosphoryle le domaine C-terminal de l'ARN polymérase II et est donc nécessaire à son activité. Étant donné que la présence, l'activité et la localisation nucléaire de CAK

(CDK7) sont généralement constitutives et non régulées pendant le cycle cellulaire ou les stimulations mitogènes, l'activation de la phosphorylation de CDK4/CDK6 est supposée résulter passivement à partir de la liaison de CDK4/CDK6 à une cycline D et d'une importation nucléaire subséquente. La liaison de p27 à la cycline D-CDK4/CDK6 altère également leur phosphorylation par CDK7. Dans divers types cellulaires, la régulation de la phosphorylation de T172 est clairement dissociée des modulations de la liaison de CDK4 aux cyclines et à p27 ou p21 et contraste avec l'absence de régulation de l'activité de CDK7.
Également en contradiction avec une implication de CAK (CDK7) dans la phosphorylation régulée de CDK4 est que, dans les cellules de gliome T98G, la présence de sérum a induit la phosphorylation de CDK4 liée à la cycline D3 mais pas celle de CDK6 liée à la cycline D3, qui est restée faiblement phosphorylée **(Bockstaele et *al.*, 2009).**

I.5 La mort cellulaire

La mort cellulaire est un processus fondamental qui maintient l'homéostasie tissulaire, élimine les cellules indésirables ou endommagées et assure le recyclage des constituants cellulaires favorisant la croissance et la différenciation. Sur la base de la morphologie des cellules mourantes, deux modes distincts de mort cellulaire couramment étudiés incluent l'apoptose et la nécrose, cependant, d'autres types de types de mort cellulaire ont été récemment décrits **(Shalini et *al.*, 2014).**

I.5.1 L'apoptose

L'apoptose est une mort cellulaire programmée, active, mise en œuvre en réponse à des signaux d'origine intracellulaire (lésions de l'ADN, anomalies de la mitose, stress oxydatif) ou extracellulaires (messages de mort provenant d'autres cellules) et aboutissant à l'activation de protéases capables d'hydrolyser les constituants cellulaires, les caspases. L'apoptose joue une multitude de rôles physiologiques fondamentaux lors de l'embryogenèse et dans l'homéostasie tissulaire **(Robert, 2010).**Elle joue un rôle majeur dans la prévention naturelle du développement d'un cancer au sein d'un organisme, par l'élimination de cellules endommagées ou mal placées. L'inhibition de l'apoptose permet aux cellules cancéreuses de survivre, malgré leur localisation aberrante et leur prolifération anormale. Au contraire, l'excès d'apoptose peut entraîner le développement de maladies neurodégénératives. Ainsi, l'apoptose apparaît comme un processus cellulaire qui doit être finement régulé **(Monier et *al.*,2015).**

I.5.1.1 Protéines impliquées dans la mise en œuvre d'apoptose

I.5.1.1.1 La famille Bcl2

La majorité des stimuli pro-apoptotiques est associée à une perméabilisation de la membrane mitochondriale externe (PEMME). Ce processus est régulé par les membres pro- et anti apoptotiques de la famille Bcl-2 (*B-celllymphoma 2*) et conduit à la libération dans le cytosol du cytochrome c qui permet l'activation des caspases, les protéases responsables du phénotype apoptotique. Néanmoins, les mécanismes par lesquels les membres pro-apoptotiques de la famille Bcl-2 que sont Bax (*Bcl2-associated proteinX*) et Bak induisent la libération du cytochrome c demeurent controversés.Un modèle suggère que la libération du cytochrome c fait suite à la rupture de la membrane mitochondriale externe en conséquence du gonflement de la matrice mitochondriale après l'ouverture du pore de perméabilité de transition1. Un autre modèle, qui semble se confirmer, propose que Bax et Bak induisent un processus sélectif de PEMME à la suite de la formation de canaux ou pores permettant la libération des protéines solubles, comme le cytochrome c, dans l'espace intermembranaire **(Castanier& Arnoult, 2010).**

Enfin, comme il se produit une fragmentation/fission du réseau mitochondrial au cours de l'apoptose, ce phénomène a été proposé comme un mécanisme additionnel, alternatif ou complémentaire, dans la voie mitochondriale de l'apoptose. Cette fragmentation du réseau mitochondrial nécessite les effecteurs de la machinerie de fission et fusion mitochondriale et fait suite soit à une augmentation de la fission, soit à une diminution de la fusion, soit aux deux **(Castanier& Arnoult, 2010).**

I.5.1.1.2 Les caspases

Les caspases sont les enzymes effectrices de l'apoptose; ce sont des protéases caractérisées par la présence d'une cystéine au niveau de leur site actif et leur capacité d'hydrolyser des chaînes polypeptidiques au niveau d'un acide aspartique, ce qui est à l'origine de leur nom **(Robert, 2010).** Elles sont bien connues pour leurs rôles centraux au cours de l'apoptose et de l'inflammation. Elles interviennent aussi dans des voies de mort cellulaire régulées non-apoptotiques, et contribuent à de très nombreux mécanismes physiologiques. Le développement d'approches thérapeutiques ciblant les caspases a engendré un fort intérêt industriel dès les années 1990, suscitant d'intenses recherches sur les mécanismes biologiques, et conduisant à la mise au point de nombreux inhibiteurs synthétiques **(Jacotot, 2020).**

Les caspases sont des protéases ayant un rôle bien défini dans l'apoptose. Cependant, de plus en plus de preuves indiquent de multiples fonctions de caspases hors apoptose. La caspase-1 et la caspase-11 jouent un rôle dans l'inflammation et la médiation de la mort cellulaire inflammatoire en pyroptose. De même, la caspase-8 a un double rôle dans la mort cellulaire, médiant à la fois l'apoptose médiée par les récepteurs et en son absence, nécrose. La caspase-8 fonctionne également dans le maintien et l'homéostasie de la population de lymphocytes T adultes. La caspase-3 a d'importants rôles dans la différenciation tissulaire, la régénération et le développement neural de manières distinctes et n'impliquant aucune apoptose activité. Plusieurs autres caspases ont démontré des rôles anti-tumoraux. Les caspase-2, -8 et -14 sont notables. Cependant, l'augmentation de l'expression des caspases-2 et -8 dans certains types de tumeurs a également été liée à la promotion de la tumorigenèse. Des niveaux augmentés de la caspase-3 dans les cellules tumorales provoque l'apoptose et la sécrétion de facteurs paracrines qui favorisent la prolifération compensatoire entourant les tissus normaux, le repeuplement des cellules tumorales et présente une barrière pour des stratégies thérapeutiques efficaces. Mis-a-part la caspase-2 est devenue une caspase unique avec des rôles potentiels dans le maintien de la stabilité génomique, du métabolisme, de l'autophagie et vieillissement **(Shalini et *al.*, 2014).**

Certaines caspases, dites de classe I, sont capables d'activer par protéolyse des cytokines comme l'interleukine (IL1); d'autres, de classe II, sont les caspases effectrices de l'apoptose, qui hydrolysent les protéines cellulaires, et dont la mieux connue est la caspase 3 ; les caspases de classe III (caspases 8 et 9) sont des caspases initiatrices, activatrices des caspases de classe II (Tableau 4) **(Robert, 2010).**

Tableau 4 : Spécificités de substrats des caspases 1 à 9 humaines. Il y a une reconnaissance stricte d'un aspartate (D) en position P1. Les trois groupes (I, II, III) se distinguent par la reconnaissance du résidu en position P4 **(Jacotot, 2020).**

Groupes	Caspases	P5-P4-P3-P2-P1
Groupe1	Caspase -1,-4,-5	WEHD
Groupe 2	Caspase -3,-7	DEVD
	Caspase-2, -3, -7	VDVAD
	Caspase -2, -3, -7	LDEHD
Groupe3	Caspase -6	VEHD
	Caspase -8	LETD
	Caspase -9	LEHD

I.5.1.1.3 L'activation des caspases

L'activation de la caspase initiatrice au cours de l'apoptose est médiée par deux voies principales ; la voie mitochondriale ou régulée par Bcl-2 (intrinsèque) (Figure 3) et la voie du récepteur de la mort (extrinsèque) (Figure 4). La voie intrinsèque est activée en réponse au stress cellulaire (par exemple, médicaments cytotoxiques, dommages à l'ADN) et est régulée par la famille de protéines Bcl-2. Cette voie implique l'activation des effecteurs pro-apoptotiques BAX et BAK, qui induisent la perméabilisation de la membrane externe mitochondriale (MOMP) et la libération du cytochrome *c*. Apaf-1 (facteur d'activation de la protéase apoptotique 1) s'associe au cytochrome *c* en un grand complexe multimérique appelé apoptosome pour activer la caspase-9 **(Shalini et *al.*, 2014).**

L'apoptose médiée par les récepteurs de la mort est initiée après la liaison au ligand et l'activation de la superfamille des récepteurs de la nécrose tumorale contenant le domaine de la mort (par exemple, TNFR, Fas, TRAIL). Cela médié le recrutement et l'activation de la caspase-8 ou -10, par le biais du complexe de signalisation induisant la mort (DISC) comprenant la protéine du domaine de la mort associée au FAS (FADD) et/ou la protéine du domaine de la mort associée au TNFR (TRADD) et d'autres composants. La caspase-8 clive également BID en une forme tronquée (tBID), qui engage la voie mitochondriale pour amplifier la réponse apoptotique **(Shalini et *al.*, 2014).**

Une fois que les caspases initiatrices sont activées par les voies d'apoptose extrinsèques ou intrinsèques, elles interviennent dans l'activation des caspases effectrices-3, -6 et -7. La caspase-2 est unique, en ce sens qu'elle peut être activée à la fois en amont de MOMP et/ou en aval de MOMP suite à divers stimuli apoptotiques. L'activation de la caspase-2 se fait principalement *via* l'homo-dimérisation et l'auto-protéolyse médiées par CARD. La caspase-2 est également recrutée dans un grand complexe multiprotéique appelé PIDDosome, comprenant les protéines RAIDD et PIDD, et peut également interagir avec RAIDD indépendamment de PIDD. Cependant, RAIDD et PIDD ne sont pas requis pour l'activation de la caspase-2 *in vivo*, qui peut se produire normalement chez les souris déficientes en RAIDD et PIDD. La caspase-2 a été impliquée dans la mort cellulaire induite par un déséquilibre métabolique dans les ovocytes, dans la catastrophe mitotique et dans les fonctions en dehors de l'apoptose (**Shalini et *al.*,2014).**

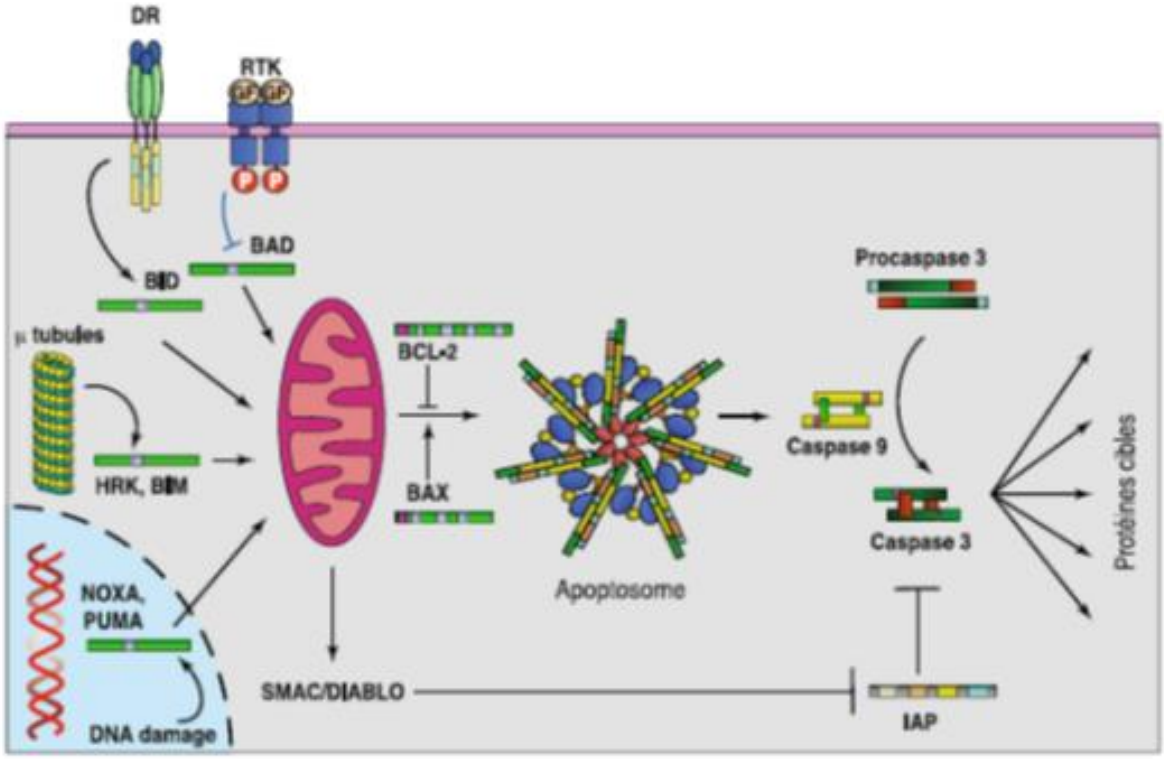


Figure3: La voie de l'apoptose intrinsèque (mitochondriale) **(Robert, 2010).**

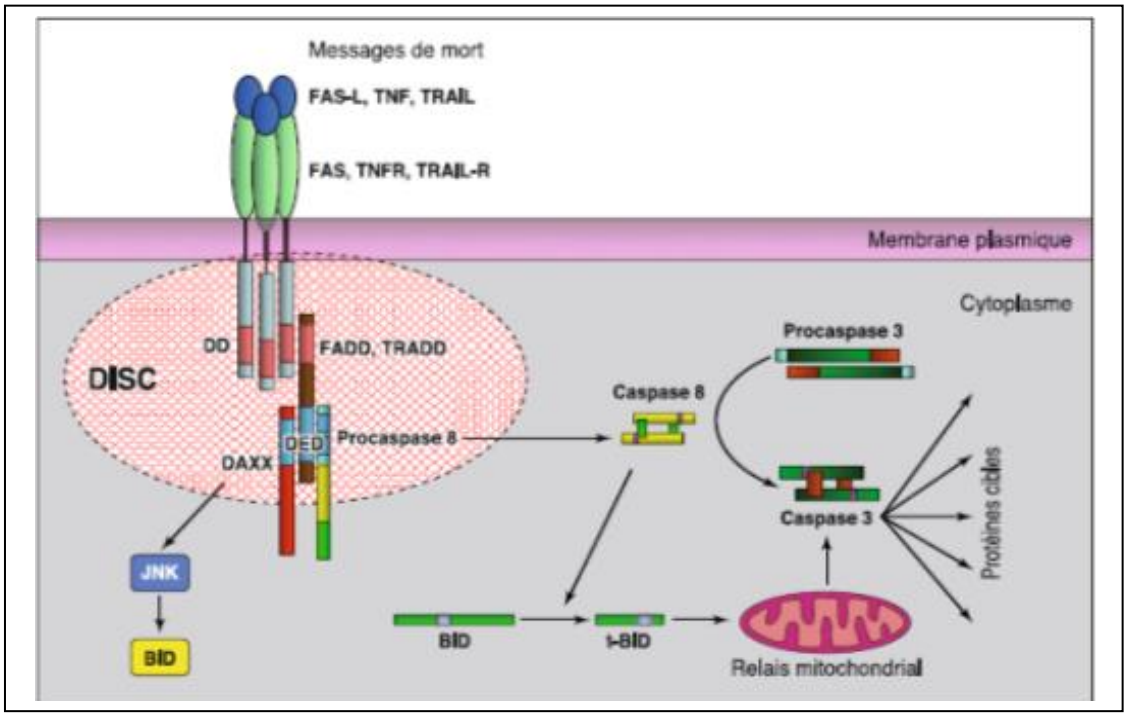


Figure 4: La voie de l'apoptose extrinsèque **(Robert, 2010).**

I.6 La cancérogénèse

La cancérogenèse est un processus multi-étapes qui est initié au niveau d'une cellule normale. Lors de l'étape d'initiation, la cellule normale va accumuler des altérations génétiques qui vont aboutir à l'acquisition par la cellule de caractéristiques anormales. Suite à une sélection clonale et une multiplication, les cellules vont progresser vers un stade tumoral cancéreux puis vers un stade métastatique **(Mongar&Sautou,2016).**

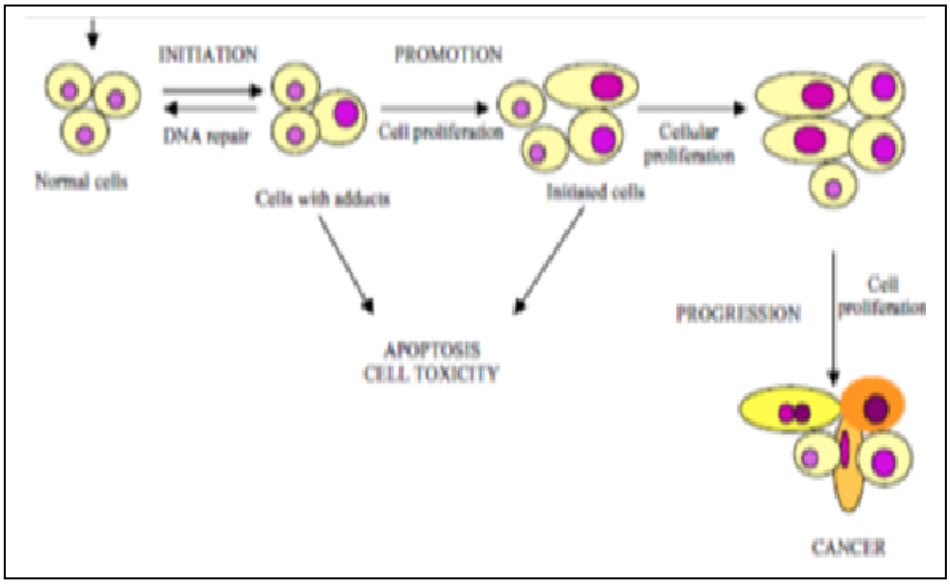


Figure 5: Les stades de la cancérogenèse et les occurrences impliquées dans chacun **(Paula et *al.*, 2007).**

I.6.1 Les étapes de la cancérogénèse

- L'initiation

-La promotion

-La progression

- **L'angiogenèse**

L'angiogenèse semble un phénomène essentiel intervenant dans le processusde croissance tumorale à la phase invasive et de diffusion métastatique, alors que presque inexistante dans les carcinomes *in situ* comme l'a évoqué Folkman dans ses premiers travaux en 1971**(Coulon et *al.*,1999)**.Elle correspond à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins au cours du développement et chez l'adulte **(Treps&Gavard,2015),** intervient

physiologiquement dans de nombreuses situations comme l'embryogenèse,le cycle utérin, la réparation tissulaire. Plusieurs pathologies non tumorales comme les maladies systémiques inflammatoires ou le psoriasis font également intervenir des phénomènes d'angiogenèse au cours de leur processus anatomopathologique **(Coulon et *al.*, 1999)**, c'est-à-dire lors de la mise en place d'une vascularisation dédiée à l'irrigation du tissu cancéreux **(Treps&Gavard,2015).**

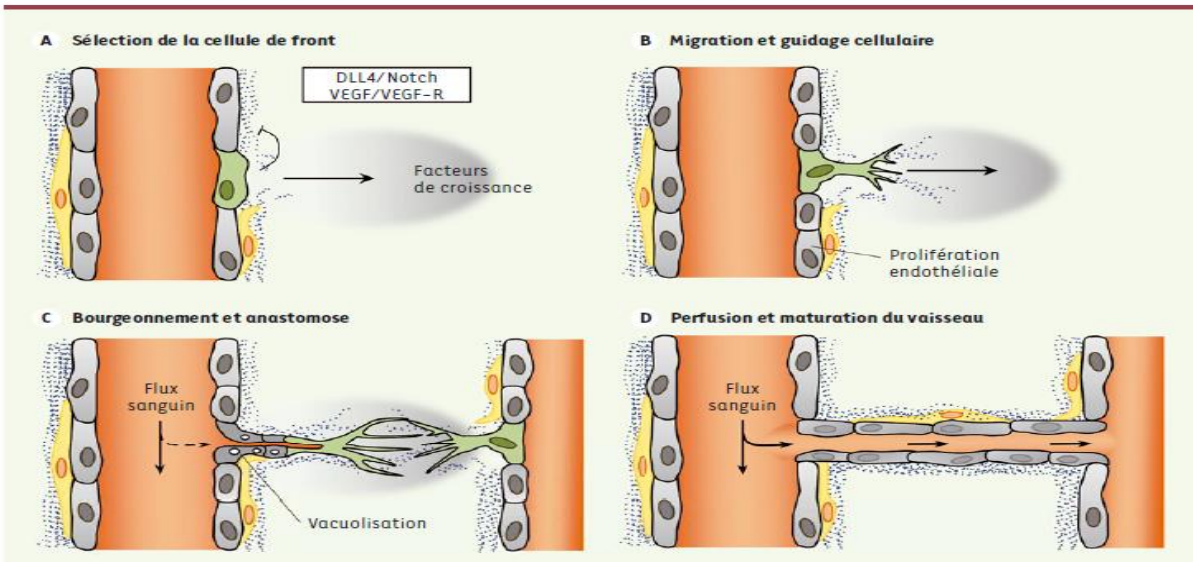


Figure 6: les étapes de l'angiogenèse normale **(Treps&Gavard, 2015).**

- **Différents modes de formation des vaisseaux tumoraux (Treps&Gavard, 2015)**

a) L'angiogenèse par bourgeonnement qui dépend des gradients en VEGF conduisant à la sélection d'une ou plusieurs cellules de front.

b) Le recrutement *de novo* de précurseurs endothéliaux issus de la moelle osseuse.

c) Le mimétisme vasculaire des cellules tumorales et l'incorporation directe de vaisseaux sanguins.

d) La transdifférenciation endothéliale de cellules tumorales à caractère souche.

e) La séparation d'un vaisseau sanguin par intussusception qui conduit à l'accroissement de la ramification des vaisseaux tumoraux VEGF : vascular endothelial growth factor.

- ## La métastase

Historiquement, le terme métastase, du grec *métastasais*« je change de place », est apparu au XVIe siècle pour désigner les tumeurs secondaires a une tumeur primitive. Ce phénomène est individualisé en tant qu'objet de recherche à partir de 1889, date de la

publication dans le *Lancet* par J. Paget de l'hypothèse « *seed and soil* ». Le processus métastatique est actuellement défini comme« une dissémination de cellules néoplasiques dans un site secondaire (ou de plus grand ordre) non contigu et distant, au sein duquel ces cellules prolifèrent pour former une masse extravasculaire de cellules incomplètement différenciées » **(Bidard & Poupon,2012).**

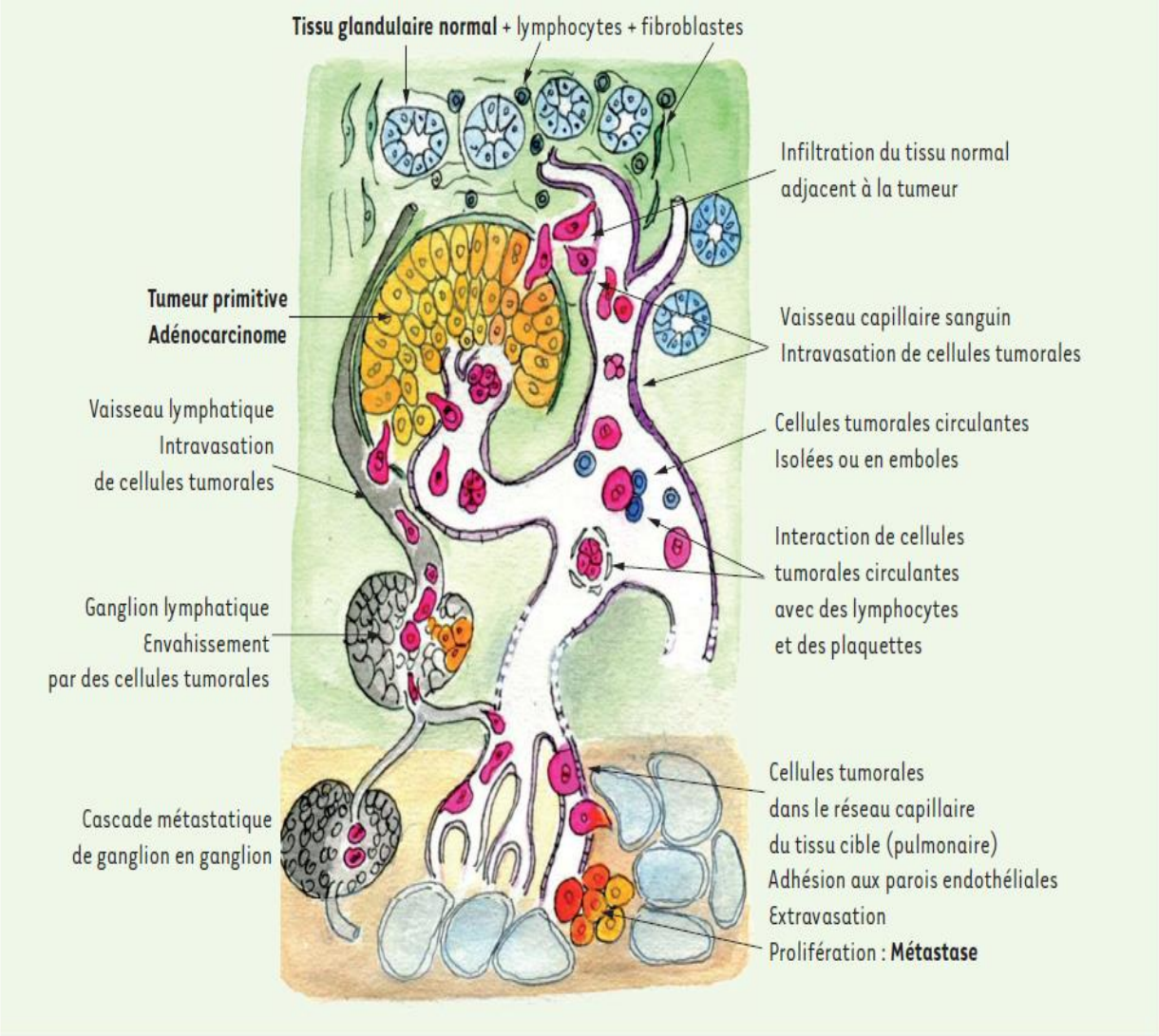


Figure 7: Les différentes étapes du processus métastatique **(Bidard & Poupon**

Chapitre 2

Les actinobactérie

II. Chapitre 02 Généralités sur les actinobactéries

II.1 Historique

L'histoire des actinobactéries peut être divisée en 5 grandes périodes. La première période qui va de 1877 à 1890, a été nommée « période médicale » du fait que l'intérêt porté à ces microorganismes était dû presque exclusivement aux propriétés pathogènes qu'on leur attribuait**.** La seconde période (1900-1940) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinobactéries du sol, avec les travaux de **Rossi-Doria** (1890-1891), **Gasparini**(1891_1894), **Krainsky**(1914), **Waksman** (1919), **Lieske**(1921), **Orskov**(1925)**, Jensen** (1931-1933) **et Krassinikov**(1938). Elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinobactéries et les premières tentatives pour distinguer deux groupes : les pathogènes et les saprophytes. L'époque suivante est celle de la découverte des antibiotiques produits par les actinobactéries. Elle commence en **1940** et le nom de **Waksman** lui est indiscutablement lié avec la découverte, en 1944, de la streptomycine produite par *Streptomyces griseus*. Cette période a résulté en un accroissement brusque du nombre d'espèces décrites**.**

Ainsi, la période suivante (1940-1970) peut être définie comme une période de développement de critères morphologiques et biochimiques pour la classification des actinobactéries, en parallèle avec la meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries de leur intérêt pour la production de métabolites secondaires et leur potentialité de biodégradation de composés organiques**.**

Enfin, depuis les années 1960, l'essor des méthodes de génétique, initiées par **Hopwood (Chater, 1999 ; Hopwood, 1973)** puis de génomique **(Hopwood, 2003)** a révolutionné la classification des espèces **(Ventura, 2007)** puis les méthodes de découverte de métabolites secondaires **(Donadio, 2002)** et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes **(Belyagoubi, 2014).**

II.2 Définition

Actinomycètes ce nom est dérivé du grec « atkis » (une raie) et « mykes » (champignon), ayant des caractéristiques à la fois des bactéries et des champignons **(Hotam et *al.*, 2013).**Ce groupe des bactéries à Gram positif avec une forte teneur en guanine et en cytosine dans leur ADN**(Ventura et*al.*,2007 ; Barka et *al.*,2015)**, l'un des plus grands

phylums bactériens et sont omniprésentes dans les habitats aquatiques et terrestres(**Shan et *al* .,2018**) .

Bien qu'elles soient unicellulaires comme des bactéries, elles n'ont pas de paroi cellulaire distincte, mais elles produisent un mycélium non septique et plus mince. Les actinobactéries comprennent certains des types les plus courants de sol, d'eau douce et de mer, jouant un rôle important dans la décomposition des matières organiques, telles que la cellulose et la chitine, dans le renouvellement de la matière organique et le cycle du carbone, reconstituant l'approvisionnement en nutriments dans le sol et la formation de l'humus. Les colonies d'actinobactéries présentent une consistance poudreuse et adhèrent fermement à la surface de la gélose, produisant des hyphes **(Ranjani et *al.*, 2016).**

Ils ont également un métabolisme secondaire important et produisent environ les deux tiers de tous les antibiotiques d'origine naturelle utilisés actuellement en clinique, ainsi que de nombreux composés anticancéreux, anthelminthiques et antifongiques. Par conséquent, ces bactéries sont d'une importance majeure pour la biotechnologie, la médecine et l'agriculture. Les actinobactéries jouent des rôles divers dans leurs associations avec divers organismes supérieurs, car leurs membres ont adopté des modes de vie différents **(Barka et *al.*, 2015).**

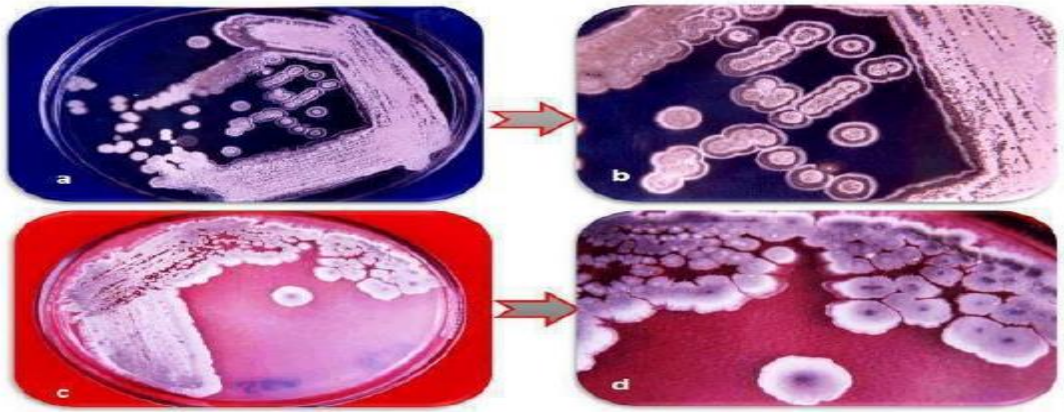


Figure 8 : Aspect morphologique d'isolats d'actinobactéries sur gélose amidon caséine. (a) et (c) Tapis mycélien des isolats actinobactériens. (b) et (d) Morphologie des colonies individuelles **(Ranjani et *al.*, 2016).**

II.3 Biologie des actinobactéries

La plupart des actinobactéries (les *Streptomyces* en particulier) sont des organismes saprophytes vivant dans le sol qui passent la majorité de leur cycle de vie sous forme de

spores semi-dormantes, en particulier dans des conditions limitées en nutriments. Cependant, le phylum s'est adapté à un large éventail d'environnements écologiques: les actinomycètes sont également présents dans les sols, l'eau douce et salée (par exemple, les espèces *Streptomyces, Micromonospora, Rhodococcus et Salinispora*), l'air, des symbiotes végétaux (par exemple, *Frankia sp*.), Des agents pathogènes végétaux ou animaux (par exemple, *Corynebacterium, Mycobacterium* ou *Nocardia*), ou commensaux gastro-intestinaux (par exemple, *Bifidobacterium sp*.). Ils sont plus abondants dans les sols (alcalins et riches en matière organique) que dans les autres milieux. La plupart des actinobactéries sont mésophiles, se développent à une température comprise entre 25 et 30 ° C, alors que les thermophiles peuvent se développer à une température allant de 50 à 60 ° C. La plupart des actinobactéries poussent dans des sols à pH neutre. Ils poussent mieux à un pH compris entre 6 et 9, avec une croissance maximale autour de la neutralité. Cependant, quelques souches de *Streptomyces* ont été isolées dans des sols acides (pH 3,5) **(Barka et *al.*, 2015).**

II.4 Critères d'identification des actinobactéries

II.4.1 Les critères morphologiques

L'identification des Actinobactéries est basée sur la morphologie, qui a été utilisée dans les premières descriptions des espèces de *Streptomyces*. Cette identification ce fait à l'aide des divers méthodes et matérielles y compris, milieux de culture standard, La microscopie optique et électronique. Ce qui permet d'identifier les bactéries par leur morphologie à partir de la germination des spores, l'élongation et la ramification du mycélium végétatif, la formation du mycélium aérien, la couleur du mycélium aérien et du substrat et la production de pigment, aussi étudier la formation de mycélium aérien et de mycélium de substrat et les spores, la surface et la structure des spores **(Ranjanie*tal.*,2016).**

II.4.1.1 Mycélium de substrat

Connu sous le nom de mycélium végétatif ou mycélium primaire. La fonction principale du mycélium de substrat est l'absorption des nutriments pour la croissance des actinobactéries. Ils sont minces, transparents, de phase sombre et plus ramifiés que les hyphes aériens, capable de développer des branches. Groupes minoritaires, rudimentaires à largement ramifiés comme les racines, les hyphes du substrat se fragmentent souvent *in situ* ou par rupture mécanique en éléments non mobiles en forme de coccoïdes à bâtonnets lorsqu'ils sont cultivés jusqu'à un certain stade **(Qinyuan et *al.*, 2016).** Le mycélium du substrat des Actinobactéries varie en taille, forme et épaisseur. Sa couleur va du blanc ou pratiquement

incolore au jaune, brun, rouge, rose, orange, vert ou noir **(Ranjani et *al.*,2016).**Le pigment soluble dans l'eau peut s'infiltrer dans le milieu de culture, ce qui donne au milieu la couleur correspondante. Les pigments non hydrosolubles (ou liposolubles) forment la colonie avec la couleur correspondante. La couleur des mycéliums du substrat et la présence ou non de pigments solubles fournissent des références importantes dans la détermination de nouvelles espèces **(Qinyuan et *al.*, 2016).**

II.4.1.2Mycélium aérien

Le mycélium aérien est l'hyphe que le mycélium du substrat développe jusqu'à un certain stade et se développe dans l'air. Les hyphes aériens sont grossiers, réfringents et lumineux en phase. Les hyphes du mycélium aérien sont caractérisés par une gaine fibreuse, à l'exception des genres *Pseudonocardia* et *Amycolata*. Il est composé d'éléments fibrillaires et de bâtonnets courts. La gaine fibreuse est également présente sur les hyphes aériens de sporulation, provoquant les différentes ornementations de surface de la spore. La formation de toutes sortes d'hyphes aériens d'actinobactéries dépend des caractéristiques de l'espèce, des conditions nutritionnelles ou d'un facteur environnemental. Le mycélium aérien de certains genres se développe jusqu'à un certain stade donne la chaîne de spores de forme supérieure, qui est un hyphe reproducteur produisant des spores **(Qinyuan et *al.*, 2016)**.

II.4.2 . Les critères chimiotaxonomiques

La chimiotaxonomie est l'étude de la variation chimique dans les organismes ainsi que l'utilisation de caractères chimiques dans la classification et l'identification (**Mukesh et*al.*, 2014).** Les constituants chimiques des cellules actinobactériennes ont joué un rôle important dans la classification de ces bactéries Gram-positives. Les composants cellulaires bactériens les plus importants dans les études de chimiotaxonomie sont les acides gras de la paroi cellulaire, les acides aminés, les ménaquinones, les sucres et le rapport des bases d'ADN saturées **(Fatemeh& Mona, 2017).**

II.4.2.1 Quinones isoprénoïdes

Les ménaquinones sont classées parmi les composés respiratoires présents dans les membranes cytoplasmiques de nombreuses bactéries et jouent un rôle important dans la chaîne de transport des électrons. Les ménaquinones sont le seul type de quinones isoprénoïdes présent dans les actinobactéries. Cependant, le type de structure de ces composés peut être appliqué pour la taxonomie actinobacteriale. La plupart des actinobactéries présentent des quinones avec une chaîne latérale isoprénoïde saturée en position 3 du cycle

naphtoquinone. Les membres de *Streptomyces* ont des chaînes isoprénoïdes hautement hydrogénées, et trois à quatre unités isoprène sont généralement saturées **(Fatemeh& Mona, 2017).**

II.4.2.2Phospholipides

Les phospholipides sont les lipides polaires les plus importants dans les membranes cellulaires bactériennes, notamment la phosphatidyl choline, la phosphatidyl éthanolamine, le phosphatidyl glycérol, le diphosphatidyl glycérol, la phosphatidyl sérine, le phosphatidyl inositol et d'autres phosphatidyl glycolipides. La composition en phospholipides de la membrane cellulaire a été étudiée pour la classification taxonomique des actinobactéries, Le diphosphatidyl glycérol, La phosphatidyl éthanolamine, le phosphatidyl inositol et les mannosides de phosphatidyl inositol peuvent être trouvé chez la plupart des membres des actinobactéries, tandis que la phosphatidylcholine et phosphatidylglycérol sont rarement trouvées chez les actinobactéries **(Fatemeh& Mona, 2017).**

II.4.3 Les critères moléculaires

Les approches les plus influentes de la taxonomie sont à travers l'étude des acides nucléiques à la suite de cette mesure carrée soit la marchandise cistron directe ou les gènes eux-mêmes et les comparaisons des acides nucléiques fournissent de bonnes données vraie connexion. La science moléculaire, qui a chaque classification et identification, a son origine dans les premières études de croisement de super molécules, a cependant atteint une nouvelle position suite à l'introduction de techniques de séquençage de super molécules. L'importance des études phylétiques supportant les séquences d'ADNr 16S augmente dans la science des bactéries et des actinomycètes. Les séquences de l'ADN 16S r ont fourni aux actinomycètes un arbre phylétique qui permet d'étudier l'évolution des actinomycètes et fournit conjointement les prémisses de l'identification. L'analyse de l'ADNr 16S commence par l'ADN analytique et l'amplification du gène codant pour l'ARNr 16S en exploitant la réaction en chaîne enzymatique. Les fragments d'ADN raffinés sont directement séquencés **(Xu et *al.*, 2016)**. Cependant, l'analyse de l'ADNr 16S nous permet généralement d'identifier l'organisme jusqu'au niveau du genre uniquement **(Mukesh et *al.*, 2014).**

II.5 Systématique des actinobactéries

Les actinobactéries l'une des plus grandes unités taxonomiques parmi les 18 lignées majeures dans le domaine des bactéries **(Hotam et *al.*, 2013),** comprenant, 5 sous-classes, 6 ordres et 14 sous-ordres. Les genres de ce phylum présentent une énorme diversité en termes

de morphologie, de physiologie et de capacités métaboliques. La taxonomie des actinobactéries a considérablement évolué au fil du temps avec l'accumulation de connaissances **(Barka et *al.*,2015).** Selon le Manuel de Bergey de bactériologie déterminative, les actinobactéries sont incluses dans l'ordre **Actinomycetales**. L'ordre *Actinomycetales* est divisé en quatre familles :*Streptomycetaceae, Actinomycetaceae, Actinoplanaceae et Mycobacteriaceae* **(Ranjani et *al.*,2016)** :

Actuellement, l'identification moléculaire est basée sur des séquences d'ADNr 16S, qui est le plus significatif pour l'identification des actinobactéries **(Ranjani et *al.*, 2016).** Le phylum *Actinobacteria* est délimité sur la base de son position de ramification dans les arbres génétiques de l'ARNr 16S. Cependant, les séquences d'ARNr ne font pas la distinction entre les espèces étroitement apparentées ou même les genres, ce qui peut créer une ambiguïté. Il y a d'autres marqueurs génétiques supplémentaires ont été utilisés pour faire la distinction entre des genres étroitement apparentés, y compris rpoB et, plus récemment, ssgB, ce qui est particulièrement utile pour faire la distinction **(Barka et *al.*, 2015).**

Une taxonomie mise à jour du phylum *Actinobacteria* qui est basée sur des arbres ARNr 16S a été récemment signalée. Qui éliminé les rangs taxonomiques des sous-classes et des sous-ordres, élevant les anciennes sous-classes et sous-ordres respectivement au rang des classes et des ordres. Le phylum est ainsi divisé en six classes :*Actinobacteria, Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitriliruptoria, Rubrobacteria et Thermoleophilia* **(Barka et *al.*,2015)**. La classe *Actinobacteria* est divisé en 16 ordres qui sont *Actinomycetales, Actinopolysporales, Bifidobacteriales, Catenulisporales, Corynebacteriales, Frankiales, Glycomycetales, Jiangellales, Kineosporiales, Micrococcales, Micromonosporales, Propionibacteriales, Pseudonocardiales, Streptomycetales, Streptosporangiales et Incertaesedis , les genres les plus communs d'Actinobactérie sont Streptomyces* (près de 70%), *Nocardia* et *Micromonospora*, bien que les Actinoplanes, *Micromonospora* et *Streptosporangium* soient également généralement rencontrés **(Ranjanieta*l.*,2016).** L'ordre *Actinomycetales* est désormais limité aux membres de la famille *Actinomycetaceae*, et les autres sous-ordres qui faisaient auparavant partie de cet ordre sont désormais désignés ordres distincts. Par conséquent, 43 des 53 familles du phylum *Actinobacteria* sont affectées à une seule classe, *Actinobacteria,* alors que les cinq autres classes ne contiennent ensemble que 10 familles **(Barkaet*al.*, 2015).**

II.6 Le développement des actinobactéries

II.6.1 Cycle de vie des actinobactéries

Une gamme de cycles de vie est observée au sein des actinobactéries qui sont raisonnablement uniques parmi les procaryotes. La caractéristique la plus distinctive dans le cycle de développement des actinobactéries est observée chez les actinomycètes. Ce taxon différencié effectue leur croissance avec la formation d'hyphes ramifiés qui forment ensuite un mycélium végétatif, tandis qu'ils se dispersent à travers des spores qui se forment sur des structures de reproduction appelées hyphes aériennes. Ainsi, leur cycle de vie ressemble à bien des égards au cycle de vie des champignons filamenteux. En raison de leur importance économique dans la production de métabolites secondaires tels que comme antibiotiques, le cycle de vie le mieux étudié est celui du genre *Streptomyces*. Lorsque la spore d'un *Streptomyces*se trouve dans des conditions et des nutriments favorables, elle germe et a tendance à former des hyphes qui se développent par extension de la pointe et forment finalement un mycélium de substrat. Lorsque suffisamment de nutriments ne sont pas disponibles pour les cellules ou que d'autres signaux sont rencontrés, de nombreuses différenciations morphologiques se produisent. Les hyphes aériens sont ensuite divisés en chaînes de préspores grâce à un processus contrôlé de division cellulaire. Des spores matures avec des couches épaisses sont alors formées pour continuer le cycle de vie **(Winket*al.*, 2017).**

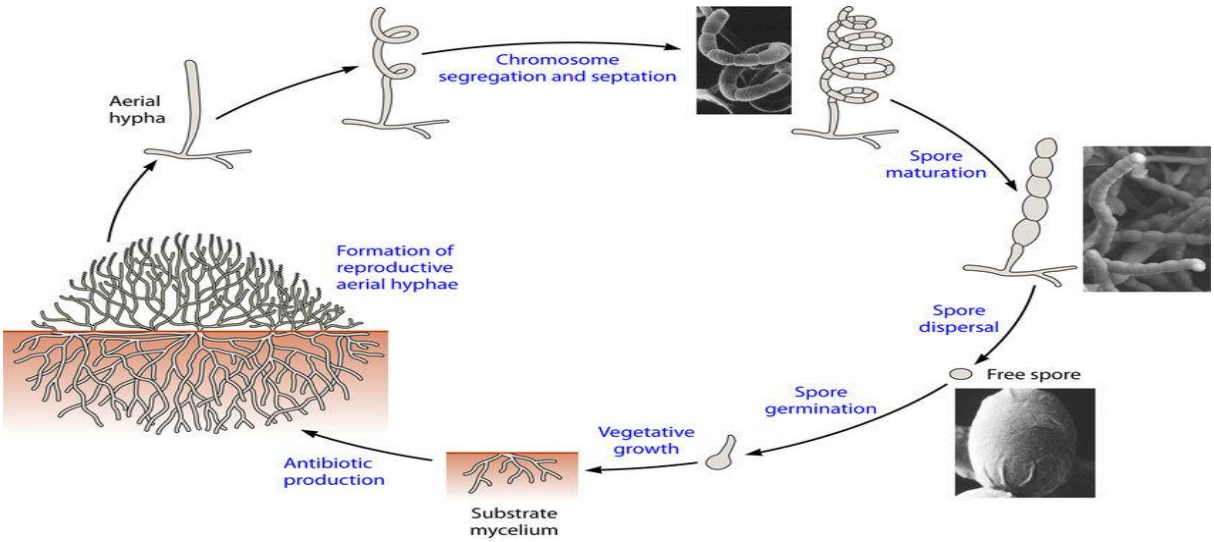


Figure 9 : cycle de vie des Actinobactéries sporulantes **(Fatemeh &Mona, 2017).**

II.6.2 La formation des spores par les actinobactéries

Les diverses types de spores des actinobactéries peuvent être classés en deux groupes principaux selon leur mode de formation : exospores et endospores (Figure 8).Ces spores permettent la propagation de l'espèce et la survie dans des conditions défavorables. Les exospores sont le type le plus fréquent et les moins résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, alors que les endospores sont hautement résistantes à la chaleur et autres adversités **(Kitouni, 2007).**

II.6.2.1Les exo spores

Les actinobactéries forment généralement des exospores qui peuvent avoir des formes très variables. Elles naissent de la formation de parois transversale à partir des hyphes existantes. Une subdivision supplémentaire est également réalisée selon la présence ou l'absence d'une enveloppe qui recouvre la paroi d'hyphesporogène **(Kitouni,2007)**. Ainsi, la formation d'exospores par fragmentation d'hyphes avec enveloppe est la plus fréquente et se retrouve notamment chez *actinoplanes* et *streptomyces*.la formation d'exospores par fragmentation d'hyphes du substrat sans enveloppe se rencontre chez *Micromonospora*. Ces spores sont dépourvues de structures spécialisées. Ces exospores contiennent la plupart des éléments du mycélium primaire **(Mohamed, 2018)** :

-Un seul nucléotide correspondant à un seul génome haploïde pour les spores de *Streptomyces.*

-Le contenu du génome des exo spores est plus riche en ADN mais moins en ARN que celui de mycélium de substrat.

-Des ribosomes dissociables en sous unités 30S et 50S.

-Un système membranaire intra cytoplasmique.

-Des vacuoles.

-Une membrane cytoplasmique.

II.6.2.2 Les Endospores

Les endospores naissent d'une réorganisation du cytoplasme avec formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe. Elles sont caractéristique des genres *Thermoactinomyces.* Dans ce groupe,une subdivision supplémentaire est réalisée en fonction du mode de formation de la nouvelle paroi. On parle ainsi de «sporulationhétérothallique », caractéristique des genres *Planomonospora* et *Dactilosporangiu.* Les endospores sont produites par des actinobactéries thermophiles et sont semblables, morphologiquement et chimiquement, à celles des *Bacillaceae*. Elles contiennent une paroi externe épisse, multicouches et résistante, qui enveloppe le cortex, la membrane cytoplasmique, le cytoplasme, les ribosomes et le nucléoide. Elles contiennent aussi de l'acide dipicolinique, cet acide, probablement situé dans la paroi centrale de la spore, est un composé unique qui est retrouvé exclusivement chez les cellules non végétative et il pourrait jouer un rôle dans la résistance de spores à la chaleur, de grandes quantité d'ions calcium et magnésium sont également associées à la présence de cet acide dans la spore. Des endospores des thermo actinobactéries peuvent rester viable dans le sol pendant de nombreuses décennies **(Mohamed, 2018).**

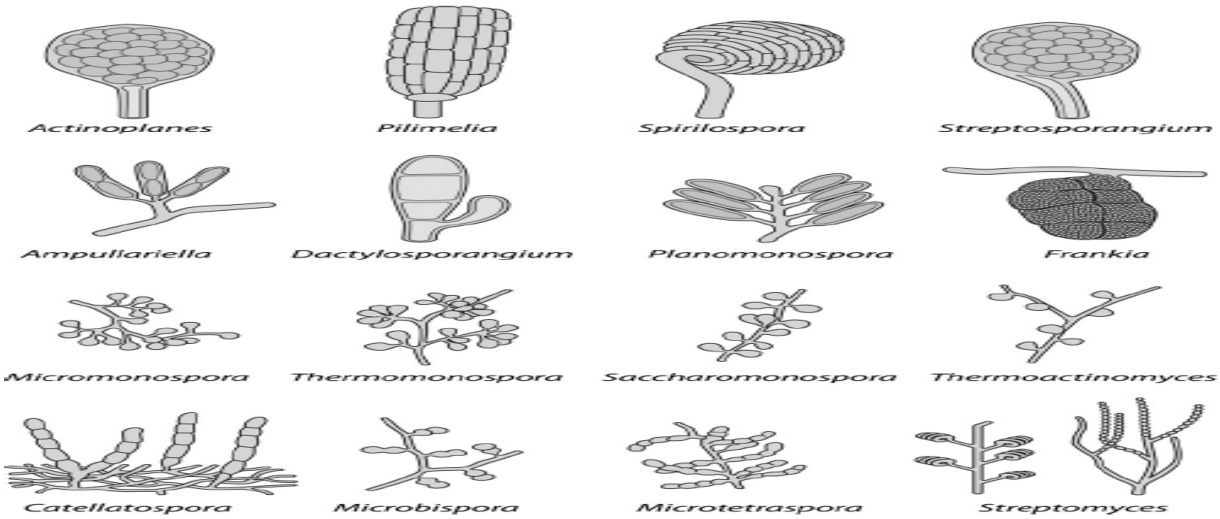


Figure 10 : Caractéristiques morphologiques des spores dans différents genres d'Actinobactéries (**Fatemeh& Mona, 2017).**

II.7 Habitat des actinobactéries

II.7.1 Environnement terrestre

L'habitat le plus important pour les actinobactéries est le sol. Les streptomycètes étant une composante majeure de sa population. Selon de nombreux rapports, Streptomyces s'est

avéré être le genre le plus abondant isolé dans chacune des études. Les actinobactéries terrestres ont divers potentiels antimicrobiens intéressants. Dans la rhizosphère de mangrove anoxique, les espèces actinobactériennes telles que *Streptomyces, Micromonospora et Nocardio* form se sont révélées abondantes, plus petites que les terres arables en raison de l'influence des marées. Les sols désertiques sont également considérés comme un environnement terrestre extrême où seules certaines espèces, en particulier celles des actinobactéries **(Ranjani *et al.*, 2016).**

Il existe plusieurs rapports montrant la répartition des Actinobactéries dans divers endroits, tels que les sols sableux (Cario, Egypte; Falmouth, MA), les sols alcalins noirs (Karnataka, Inde), les sols limoneux sableux (Keffi Metropolis, Nigeria; Presque Isle, PA), sol désertique alcalin (Wadi El Natrun, Egypte; Wadi Araba, Egypte), et sol désertique subtropical (Thar, Rajasthan), où Streptomycessp. Étaient dominants suivis par les autres organismes, tels que Nocardia, Nocardiopsis et Actinomycètes **(Ranjani *et al.*, 2016).**

II.7.2 Environnement aquatique

Les actinobactéries sont largement réparties dans les habitats aquatiques, qui peuvent parfois être emportés par les habitats terrestres environnants **(Ranjani *et al.*, 2016).**

II.7.2.1 Eau fraiche

Les *Actinoplanes*, les *Micromonospora*, les *Rhodococcus*, les *Streptomyces* et les *Thermoactinomyces* formant des endospores, sont les principaux types d'actinobactéries vivant en eau douce. Les *Actinoplanes* se trouvent couramment dans les sols, les rivières et les lacs, et la spore les vésicules ont la capacité de résister à une dessiccation prolongée, mais elles libèrent leurs spores mobiles pour se disperser une fois réhydratées. Les *Micromonospora* sont aussi un des types des actinobactéries d'eau douce, elles remodèlent la cellulose, la chitine et la lignine. Se trouvent couramment dans les ruisseaux, les rivières et les sédiments fluviaux et leurs Les spores de ont été emportées dans des habitats d'eau douce où elles peuvent rester dormantes pendant plusieurs années. Alors que *Streptomyces* ne se développaient pas dans divers lacs, notamment dans les couches de boue plus profondes où les *Micromonospora* étaient prédominantes. Les Actinobactéries peuvent devenir actives dans l'écosystème d'eau douce en présence de substrats et de conditions de croissance appropriés plutôt que de s'adapter spécifiquement pour vivre dans un tel environnement **(Ranjani *et al.*, 2016).**

II.7.2.2 Milieu marin

Le milieu marin est une source inexploitée de nouvelle diversité d'actinobactéries et donc de nouveaux métabolites. Elles vivent dans des environnements extrêmement différents produisent différents types de composés bioactifs par rapport aux composés terrestres. Les actinobactéries marines pouvant être s'adapter à des conditions de pression, anaérobie, température et des conditions acides. Des membres des *genres Dietzia, Rhodococcus, Streptomyces, Salinispora, Marinophilus, Solwaraspora, Salinibacterium, Aeromicrobiummarinum, Williamsia maris et Verrucosispora*ont été désignés comme actinobactéries marines indigènes et *Rhodococcusmarinonascene*, c'est la première espèce d'actinomycètes marins à être caractérisée. Toutes les actinobactéries susmentionnées isolées des environnements marins, tels que les fonds marins, les invertébrés marins et la neige marine, les sols des bords de mer et les sédiments des grands fonds marins, représentent des écosystèmes uniques qui ne peuvent être trouvés nulle part ailleurs dans le monde. De même, ces isolats produisent divers métabolites nouveaux., le taux de découverte de nouveaux métabolites secondaires des actinobactéries marines a été récemment dépassé par rapport à leurs homologues terrestres **(Ranjani *et al.,* 2016).**

II.8 Les domaines d'application des actinobactéries

Les actinomycètes prospèrent dans divers systèmes écologiques en raison de leur polyvalence physiologique. Ce groupe de micro-organismes, *Streptomyces* en particulier, est réputés pour leurs capacités à produire une multitude des produits aux immenses diversités structurelles et biologiques, dont beaucoup ont des applications en biotechnologie, en médecine, et agricole. Face aux problèmes de santé mondiaux tels qu'augmentation des maladies et de la résistance généralisée aux antibiotiques **(Wenna et*al*., 2018).**

Pour obtenir de nouveaux agents bioactifs, en particulier avec des structures chimiques uniques et une signification biologique, on repose sur des micro-organismes distincts isolés de différents environnements. Les souches actinobactériennes proviennent généralement du sol, les mers et les océans. De plus, les habitats extrêmes tels que les grottes, les déserts ou les écosystèmes antarctiques sont reconnus comme des sources précieuses d'actinomycètes produisant de nouveaux métabolites d'importance pharmacologique. La biosynthèse des métabolites secondaires dépend des conditions de croissance de chaque souche. Différents processus de fermentation et la modélisation sont appliqués pour optimiser la production de

composés bioactifs. Le séquençage du génome est réalisé pour détecter les gènes responsables de la production de métabolites secondaires **(Katarzyna et *al.*, 2018).**

Les actinobactéries marines sont la ressource de la production de composés actifs biologiques. Environ 70 % des produits naturels marins sont isolé à partir de bactéries marines seules, ainsi que actinobactéries associées aux organismes marins. Ils pourraient fournir différentes activités biologiques telles qu'activité antimicrobienne, cytotoxicité, antioxydant activité, activité anti-VIH et activité anticancéreuse **(Kamala et *al.*, 2020).**

II.9 Les métabolites secondaires des actinobactéries

Les métabolites sont les intermédiaires et les produits du métabolisme et sont généralement limités à des petites molécules. Le terme « secondaire » introduit par A. Kossel en 1891 implique que si les métabolites primaires sont présents dans chaque cellule vivante capable de se diviser, les métabolites secondaires ne sont présents qu'accessoirement et n'ont pas une importance primordiale pour la vie de l'organisme (**Thirumurugan et *al.*, 2018).**

Les métabolites bioactifs sont des produits de métabolisme secondaire de différents organismes (plantes, animaux, champignons, bactéries). Ils manifestent souvent activité biologique. Les métabolites secondaires ont des structures chimiques diverses et inhabituelles, et souvent une faible masse moléculaire. Métabolites secondaires, contrairement métabolites primaires, n'ont aucune fonction dans le cycle de vie de cellules et caractérisent des groupes spécifiques d'organismes (**Solecka et *al.*, 2012).**

Plus de 140 genres d'actinomycètes ont été décrit à ce jour. Quelques-uns d'entre eux sont responsables de la majorité des composés essentiels connus. D'autres actinomycètes, comme *Saccharopolyspora, Amycolatopsis, Micromonospora et Actinoplanes*, également produisent des métabolites bioactifs. Ces métabolites présentent une grande variété structurelle et présentent un large éventail d'activités : antimicrobienne, antiprotozoaire, antiparasitaire, antitumoral **(Solecka et *al.*, 2012),** antiviral, anticancéreux et anti-inflammatoire **(Wenna et *al.*,2018).**

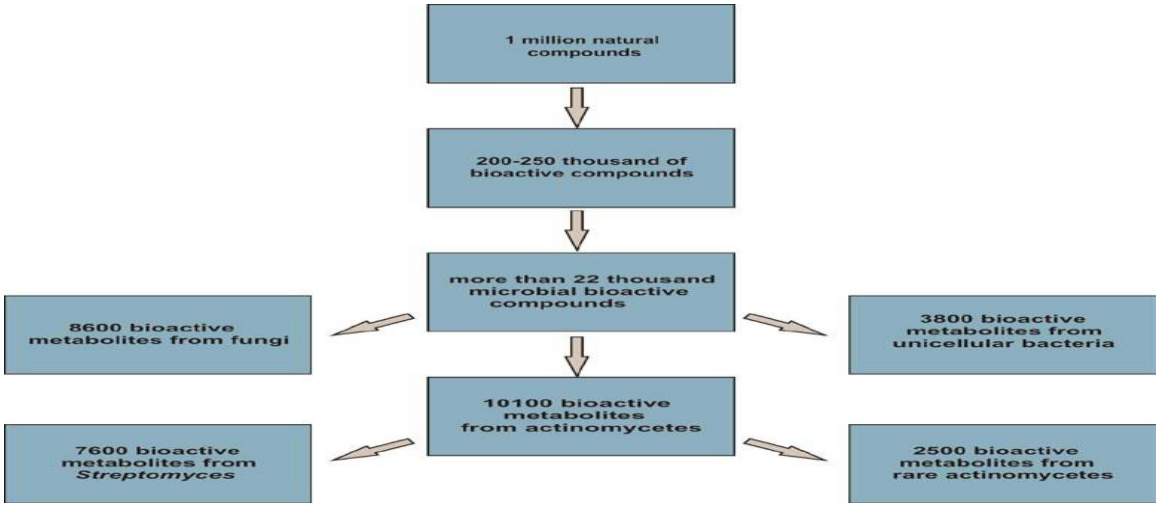


Figure 11 : Répartition des composés bioactifs découverts selon leur origine **(Soleckaet*al.*, 2012).**

II.9.1 Activités biologiques des métabolites des actinomycètes

Les actinomycètes sont l'un des groupes les plus importants de producteurs de métabolites secondaires. Parmi divers genres d'actinomycètes, *Streptomyces, Saccharopolyspora, Amycolatopsis, Micromonospora et Actinoplanes*sont les principaux producteurs de biomolécules commercialement importantes. Les métabolites secondaires produits par les actinomycètes ont un large spectre d'activités biologiques ; par exemple antibactérien (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antiviral (tunicamycine), antiparasitaire (avermectine), immunosuppresseur (rapamycine), antitumoral (actinomycine, mitomycine-C, anthracyclines), inhibiteur enzymatique (acide clavulanique) et diabétogène (bafilomycine, streptozotocine). Les antibiotiques sont peut-être le type de métabolites secondaires le plus largement étudié avec 12 000 antibiotiques connus jusqu'en 1995. En effet, à partir des antibiotiques connus, 55 % sont produits par des bactéries filamenteuses du genre *Streptomyces*, 11 % d'autres actinomycètes, 12 % de bactéries non filamenteuses et 22 % de champignons **(Prashith et *al.*, 2010).**

II.9.1.1Activité antifongique

Une grande partie des travaux de recherche approfondis est en cours pour identifier de nouveaux composés antifongiques provenant d'actinobactéries inhabituelles qui sont efficaces contre les champignons pathogènes (tableau5). Par exemple, des composés bioactifs tels que la scopafungine, la candiplanécine, la rapamycine, les phtalates, etc., pour n'en citer que quelques-uns, ont des propriétés antifongiques. Des actinobactéries marines inhabituelles ont été trouvés associés aux invertébrés marins et vertébrés. *Streptomycessp*. DA11 s'est avéré

être associé à l'éponge *Craniellasp.* Cette espèce a produit l'exoenzymechitinase qui a montréactivité antifongique significative contre *Aspergillus sp.* Et *Candida sp*. Ces métabolites secondaires ont été exploités pour leur application dans le domaine de la biomédecine, par exemple, l'ingénierie tissulaire du cartilage, le transport de médicaments et la régénération nerveuse **(Soumya &Jayanthi, 2020)**.

Tableau 5 : Métabolites secondaires à activité antifongique isolés des actinobactériessp (milieu marin) **(Soumya&Jayanthi, 2020)**.

composé	Espèce
Amphotericin B	*Streptomycesnodosus*
Axenomycins	*Streptomyceslisandri*nov. sp.
Ascomycin FK520	*Streptomyceshygroscopicus*
Ayamycin	*Nocardia*sp.
Blasticidin S	*Streptomycesgriseochromogenes*
Chandrananimycin	*Actinomadura*sp.
Candiplanecin	*Ampullariellareguralis*subsp. *mannitophila*subsp. nov.
Dentigerumycin	*Pseudonocardia*sp.
Forazoline A	*Actinomadura*sp. WMMB-499
Jinggangmycin	*Streptomyces hygroscopicus*
Kitastatin	*Kitasatospora*sp.
Kalafungin	*Streptomycestanashiensis*strainKala UC5063
Kanchanamycins	*Streptomycesolivaceus*
Lomofungin	*Streptomyceslomodensis*
Leptomycin	*Streptomyceslividans*
Marinisporolides A and B	*Marinispora*sp.
Nikkomycins	*Streptomycesansochromogenus*
Neomaclafungin	*Actinoalloteichus*sp. NPS702
Pimaricin	*Streptomycesnatalensis*
Phthalates	*Nocardia levis*
Rapamycin	*Streptomyceshygroscopicus*
Resormycin	*Streptomycesplatensis*
Rimocidin	*Streptomycesdiastaticus*var. 108
Shurimycins A and B	*Streptomyceshygroscopicus*
Scopafungin	*Streptomyceshygroscopicus*var. *enhygrus*var. nova UC-2397
Saccharothrixmicines	*Saccharothrixespanaensis*An 113

II.9.1.2 Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est considérée comme une réponse immunitaire primaire non spécifique. Dans cet état, un corps a tendance à réagir à tout type d'infection, d'irritation ou de blessure. La cause principale de l'inflammation est un stress mécanique pur, y compris un traumatisme fermé, un corps étranger corps, vibrations et pressions chroniques. Les réponses inflammatoires se produisent en différentes phases, chacune étant médiée par des mécanismes différents. Des métabolites bioactifs de *Streptomycessp.* Ont été prouvés pour posséder une activité anti-inflammatoire. Certains des métabolites secondaires bioactifs montrant une activité anti-inflammatoire, ont été enrôlés ci-dessous **(Soumya&Jayanthi, 2020).**

Tableau 6:Composés bioactifs produits par les actinobactéries marines ont une activité anti inflammatoire. **(Baskaran et *al.*, 2017).**

composé	Espèce
Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)	*Streptomyces,sp*. DOSMB-A107
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4- dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-ergotaman- 30,60,18-trione, 120-hydroxy-2-0-methyl-50-(phenylmethyl)-, (50_a)	
Phenol, 2,4-bis- (1,1-dimethylethyl)	*Streptomycesparvulus*DOSMB
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4- dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)	
7,8-Epoxylanostan-11-ol,3-acetoxy	
Dihydroergotaminemesylate	
Ethyl iso-allocholate	

II.9.1.3Activité antioxydante

Un antioxydant est une substance ou un composé qui évite la détérioration, les dommages ou la destruction par le processus d'oxydation. Ces composés bioactifs confèrent une protection contre le stress oxydatif dans un organisme en bloquant ou en retardant les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les antioxydants utilisent de multiples mécanismes pour éliminer les ROS tels que l'inhibition de la formation de radicaux libres, piégeant la molécule d'oxygène et chélatant les prooxydants métalliques **(Soumya &Jayanthi, 2020)**.

Dans le tableau 7, quelques composés bioactifs produits par les actinobactéries quipossèdent une activité antioxydante.

Tableau7 : Composés antioxydants dérivés d'actinobactéries (écosystème marin) **(Soumya &Jayanthi, 2020).**

Composé	Espèce
Dermacozines, phenazine derivatives	*Dermacoccusabyssi*
Dermacozines A–G	*Dermacoccus*
JBIR-65	*Actinomadura*sp.
Lipocarbazoles	*Tsukamurellapseudospumae*
Tsukamurellapseudospumae	*Mumia*sp. YSP-2-79
Mangromicin A–I	*Lechevalieria aerocolonigenes*
Resistoflavinmethylether	*Streptomyces*sp.

II.9.1.4Activité Antibiotique

Les antibiotiques sont les substances chimiques qui inhibent la croissance d'autres organismes. Ces antibiotiques sont produits par les bactéries ainsi que les champignons filamenteux, mais les actinomycètes en particulier les le genre *Streptomyces* est considéré comme une source prometteuse (tableau 8) **(Salwan& Sharma, 2019).**

La classification des antibiotiques est basée en fonction du mode d'action, de la structure, de la voie d'administration et du spectre d'activité biologique. En général, les structures moléculaires des antibiotiques comprennent les lactames, les aminosides, les tétracyclines, les macrolides, les glycopeptides, les quinolones, les oxazolidinones et les sulfamides.Ces antibiotiques sont produits sous forme de métabolites secondaires par différents microbes. Les antibiotiques sont synthétisés à partir des précurseurs du métabolisme primaire tels que comme la glycolyse, le catabolisme des acides gras et des protéines. En outre, les acides aminés non protéinogènes et d'autres précurseurs. Le type de précurseurs utilisés dans la biosynthèse dépend du type d'antibiotiques. Les cibles de différents antibiotiques impliquent des changements moléculaires, biochimiques et structurels sur plusieurs sites cellulaires, y compris la réplication, la transcription et la traduction de l'ADN et inhibition de la synthèse dela paroi cellulaire.Les antibiotiques d'origine microbienne sont également une source de drogues synthétiques et semi-synthétiques**(Salwan& Sharma, 2019).**

Tableau8: Composés bioactifs dérivés des actinobactéries ont montré des activités antibactériennes et antitumorales (**Manal et *al.*, 2021).**

Composé bioactif	Espèce	Activité
Abyssomicin	*Verrucosispora* sp.	Antibacterial and antitumor
Actinofuranones A-B	*Streptomyces* sp	Antibacterial and antitumor
Analogs-metacycloprodigiosin	*Saccharopolyspora* sp	Anticancer
Benzanthraaquinone	*Chainiapurpurogena*	Antibacterial and antitumor
Butenolides	*Streptomyces* sp	Antitumor
Mechercharmycin	Mechercharmycin	Antitumor
Diphosphatidylglycerol	Diphosphatidylglycerol	Antitumor

II.9.1.5 Activité anticancéreuse

Le cancer reste l'un des problèmes de santé humaine les plus graves.De nombreux composés anti tumoraux sont dérivés d'actinobactéries marines et ces métabolites jouent un rôle important dans l'identification des composés pharmaceutiques **(Manivasagan et *al.*, 2014).**

Les composés actifs purs extraits de l'actinobactérie marine *Salinisporatropica* ont montré des effets inhibiteurs dans de nombreux types de cellules malignes (tableau 9). En particulier, le Salinosporamide A est une nouvelle bêta-lactone gamma-lactame bicyclique rare isolée d'une actinobactérie marine obligatoire, *S.tropica*. Le salinosporamide A est un inhibiteur du protéasome actif par voie orale qui induit l'apoptose dans les cellules de myélome multiple avec des mécanismes distincts du médicament anticancéreu. Le Salinosporamide Aa été testé pour son utilité en tant que médicament anticancéreux et antipaludéen. Il a été démontré qu'il avait une activité inhibitrice contre le développement du parasite *in vitro*et*in vivo*.Les caprolactones sont des nouveaux antibiotiques isolés de *Streptomycessp.* Montrant une phytotoxicité modérée et une activité prometteuse contre les cellules cancéreuses avec une faible cytotoxicité générale concomitante **(Manivasagan et *al.*, 2014).**

Tableau9:Composés bioactifs produits par les actinobactéries marines à une activité anticancéreuse.

composé	Espèce	référence
Chinikomycins	*Streptomyces*sp.	**(Ranjaniet*al.*, 2016)**
ZHD-0501	*Actinomadura*sp.	
Mechercharmycins	*Thermoactinomyces*sp.	
Mechercharmycins	*Thermoactinomycessp.*	**(Baskaran et *al.*, 2017)**
N-(2 hydroxyphenyl)-2-phenazinamine (NHP)	*Nocardiadassonvillei*	
Salinosporamide A	*Salinisporatropica*	
Daryamides	*Streptomycessp.*	
Carbomycin	*Streptomycessp.*	
Arenimycin	*Streptomycesarenicola*	

II.9.1.6Activité cytotoxique

Certains composés à savoir Rétymicine, Galtamycine B et La saquayamycine Z, isolée de la souche *Micromonospora* TU6368, ont montré des effets cytostatiques sur diverses lignées cellulaires tumorales humaines. Deux nouveaux antibiotiques,lesalgacidines A et B, isolées de *Streptomycessp.* RK-1339, présentait une cytotoxicité vis-à-vis des cellules du sarcome de Yoshida dans la culture. L'okicénone, un antibiotique isolé de *Streptomycessp*. K03599 des sols du Japon, a montré une activité cytocide. Sept nouveaux macrolides, appelés Pladienolides extraits de *Streptomycesplutensis* MER-110 ont démontré une activité inhibitrice de croissance contre les cellules de gliome humain *in vitro* et sont des inhibiteurs très puissants de la prolifération des cellules cancéreuses. La chimomycine, un nouvel antibiotique angucyclinone, extrait de *Nocardiamediterraneisubsp. kanglensis* 174764, présentait une cytotoxicité contre les cellules de cancer colorectal humain et les cellules de carcinome de l'œsophage. Deux nouveaux composés Elloxazinones A et B ayant une activité antitumorale sur les cellules de carcinome hépatocellulaire et les cellules de carcinome du sein humain ont été criblés à partir de *Streptomycesgriseus* ACT2871 71. Un groupe lactone d'antibiotiques, l'Okilactomycine, extrait de *Streptomycesgriseoflavus* présentait une activité cytotoxique contre l'ascite carcinome chez la souris. Un antibiotique polypeptidique, la Chandramycine, isolé à partir de *Streptomyceslydicus* pathogène s'est avéré avoir des effets cytotoxiques chez la souris. La Victomycine, appartenant au groupe d'antibiotiques Phléomycine-Bléomycine avec une activité antibactérienne et antitumorale, a été isolée de

l'actinomycète formant des sporanges, *Streptosporangium violace ochromogenes sp. Streptomyces sp.*DO-116 s'est avéré produire un nouvel antibiotique antitumoral sapurimycine ayant une activité antibactérienne et une activité antitumorale contre la leucémie P388 et le sarcome 180 chez la souris. Les actinomycètes isolés des échantillons environnementaux à Toyama ont révélé la production de l'hibarimicine, l'arisostatine, la nocardione et la kosinostatine comme agents antitumoraux. Un nouvel antibiotique antitumoral tétracycline SF2575 extrait de *Streptomyces sp.* Le SF2575 a présenté une activité antitumorale contre la leucémie P388 chez la souris. Un nouveau macrolide à 12 chaînons FD-895 de *Streptomyceshygroscopicus*A-9561 isolé à partir d'un échantillon de sol collecté à Iriomote, Island, Japon, a montré des activités cytocides plus fortes contre des lignées cellulaires tumorales *in vitro* que l'adriamycine. L'activité antitumorale contre la leucémie lymphoïde murine P388 *in vivo* et le sarcome murin 180 *in vivo* a été démontrée par de nouveaux antibiotiques anthraquinoniques, DC92-B et DC92-D apparenté isolés d'*Actinomadura sp*. **(Prashith et *al.*, 2010)**(Tableau 10).

Tableau10 : Composés bioactifs produits par les actinobactéries marines possédants une activité cytotoxique **(Manivasagan et *al.*, 2014).**

Composé	Type de structure	Espèce
Actinofuranones	Polyketide	*Streptomyces* CNQ766
Salinipyrones	Polyketide	*Salinosporapacifica* CNS-237
Pacificanones	Polyketide	*Salinosporapacifica* CNS-237
piperazimycins	Peptides	*Streptomycessp*
Arenamides	Peptides	*Saliniporaarenicola*
Lucentamycins	Peptides	*Nocardiopsislucentensis*
Tetracenomycin D	Quinones	*Streptomycescorchorusii* AUBN1/7
15-hydroxy-Tmuurolol	Terpenes	*Streptomycessp.* M491
Neomarinone	Terpenes	Strain CNH099
3,6-disubstituted indoles	Indole	*Streptomycessp.* BL-49-58- 005
Ammosamides	Pyrroloiminoquino ne	Streptomycessp. CNR-698
Butenolides	Butenolide	*Streptoverticillium*

Chapitre 3

Les halométabolites

III. Chapitre 3 : Généralités sur les halométabolites

Les actinomycètes sont une source riche de composés biologiquement actifs, qui ont été largement étudiée dans le monde. Ils peuvent produire efficacement différents métabolites secondaires. Ces métabolites secondaires présentent un large éventail d'activités biologiques, notamment antibactériennes, antifongique, anticancéreuses et inhibition enzymatique. La plupart des actinomycètes marins appartenant au genre *Streptomyces*, mais des genres d'actinomycètes plus rares ont été signalés au cours des vingt dernières années. Par conséquent, plus de nouveaux produits naturels, y compris de nouveaux composés halogénés ont été isolés ces dernières années. Les métabolites secondaires des actinomycètes possèdent diverses structures, y compris les terpènes, les peptides, les polycétides, les alcaloïdes et halogénés molécules. En raison de la forte concentration d'ions chlorure et brome dans l'eau de mer, les actinomycètes marins produisent généralement plus de composés halogénés que ceux de leurs homologues terrestres. La majorité des composés halogénés marins ont montré certain type de propriétés biologiques, y compris les activités antibactériennes et anticancéreuses **(Wang et *al.*, 2021).**

III.1 Définition

Le premier signalement d'un produit naturel contenant des halogènes (halométabolite) était celui de l'acide aminé iodé diiodotyrosine du corail *Gorgoniacavolii* à la fin du XIXe siècle **(Murphy, 2003)**.

Les halométabolites, un groupe des composés contenant des substituant halogènes (F, Cl, Br, I), à ce jour, il y a plus de 5000 composés halogénés avec un degré élevé de variabilité structurelle contenant un ou plusieurs atomes d'halogène. Les éléments halogènes se trouvent sous plusieurs formes dans la nature. Chlorure, l'iode et les sels de bromure sont présents dans les océans, tandis que la croûte terrestre est riche en fluor **(Kasanah, & Triyanto, 2019).**

Les halométabolites ou les organohalogénés naturelssont produits à partir de deux sources : abiogène et biogène. Les organohalogénés naturelsabiogéniques sont formés au cours de processus géothermiques tels que les volcans, les sources chaudes ou tremblement de terre. La combustion de la biomasse et la chimie du sol ont également contribué au nombre énorme de halométabolites abiogènes **(Carlos et *al.*, 2004)**.

Les halométabolites biogènes sont produits par des bactéries, des champignons, des plantes, des invertébrés et macroalgues. Les halométabolites ont plusieurs fonctions dans la

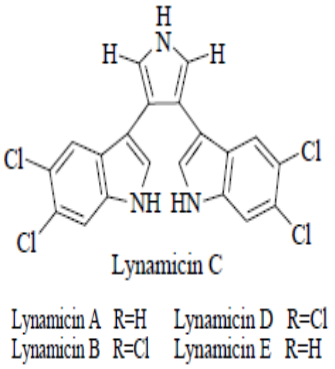
nature dont un rôle physiologique, biochimique ou défensif pour leur hôte, y compris la communication (quorum sensing) et la production d'hormones de croissance, des phéromones sexuelles, toxines ou antibiotiques. Le rôle de l'halogène substituant dans les composés organiques est lié à la bioactivité, la biodisponibilité et la stabilité des composés **(Kasanah & Triyanto, 2019).**

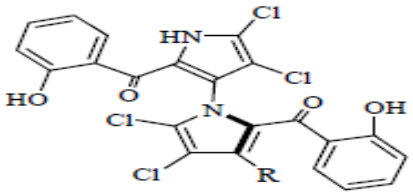
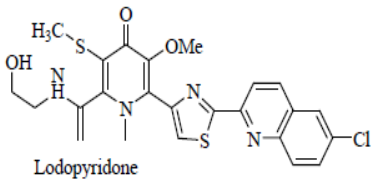
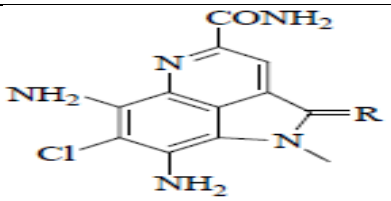
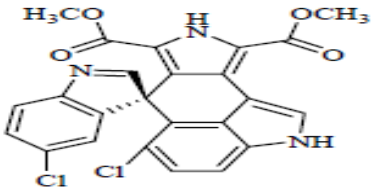
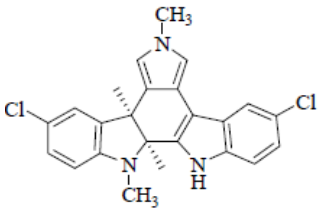
III.2 Diversité structurelle des bactéries halométabolites

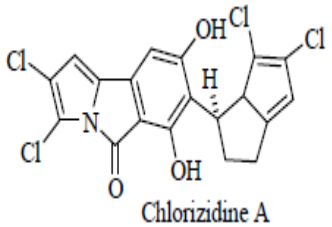
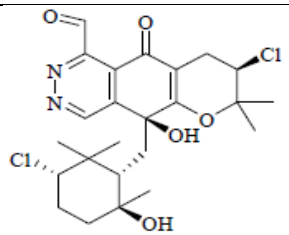
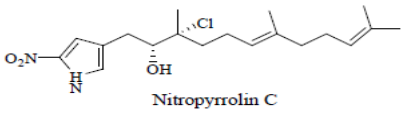
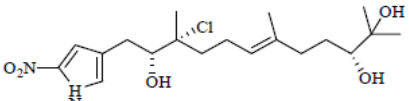
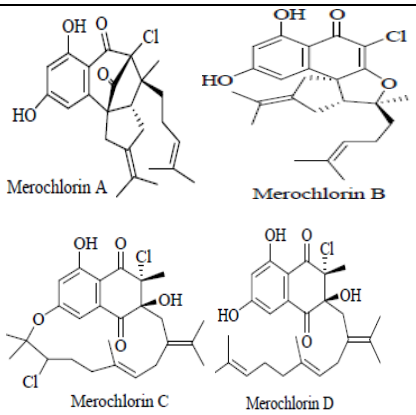
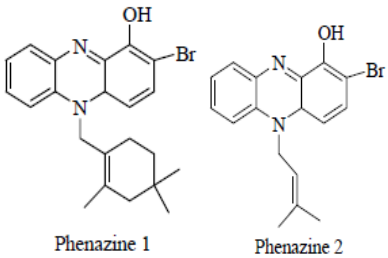
Le premier halométabolite isolé à partir de bactéries était l'antibiotique chloramphénicol produit par *Streptomyces venezuelae*.Au cours des années suivantes, d'autres métabolites chlorés ayant une activité antibiotique ont été isolés de cultures bactériennes. Au cours de ces années, des composés bactériens halogénés ont été toujours liés à l'activité antibiotique, et l'impression a été formée que les métabolites halogénés sont très rares dans la nature. Jusqu'en 1960, seulement 29 halométabolites microbiens étaient connus avec huit d'origine bactérienne **(Van, 1996).**

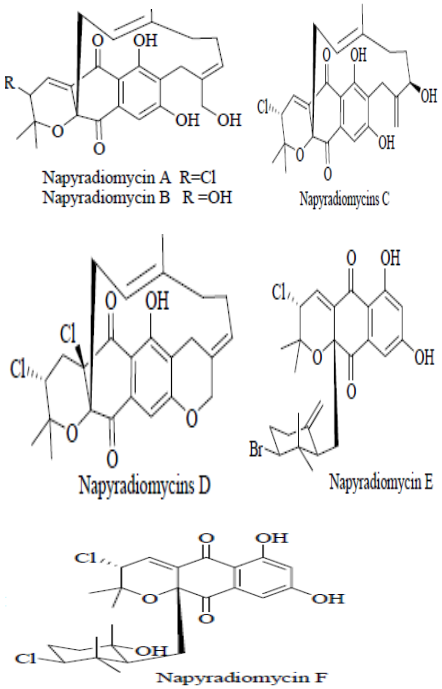
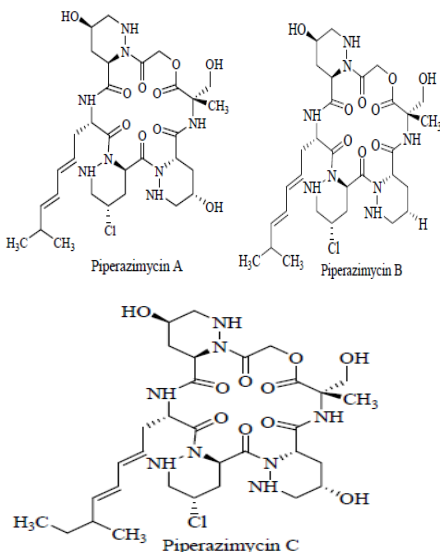
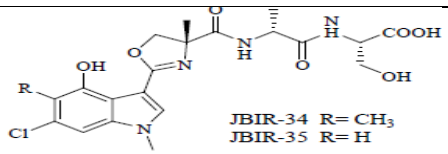
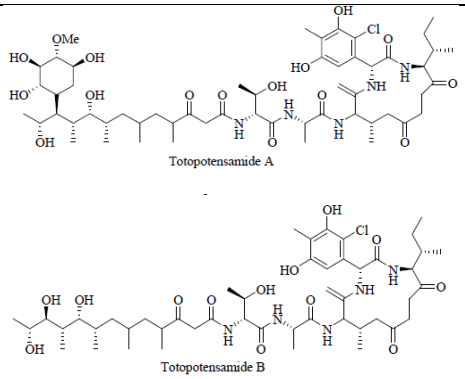
La variété structurale des halométabolites bactériens est très large, bien qu'il n'y ait pas de rapports sur l'isolement de composés halogénés à un carbone à partir de bactéries. La grande majorité des halométabolites bactériens sont des composés aromatiques (Tableau 11). Il y a très peu d'halométabolites constitués d'un seul cycle pyrrole chloré, comme la pyrrolomycine A, ou d'un seul cycle phényle avec des petits substituants comme l'acide 3-chloroanthranilique. Dans la plupart des halométabolites aromatiques, le cycle phényle est soit condensé en un cycle hétérocyclique, comme dans le 3-chloroindole, la pyrroindomycine B ou de la rébeccamycine, ou est condensée en d'autres systèmes cycliques **(Van Pée, 1996).**

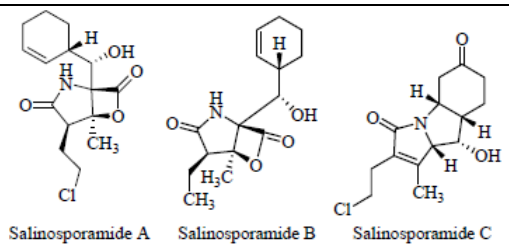
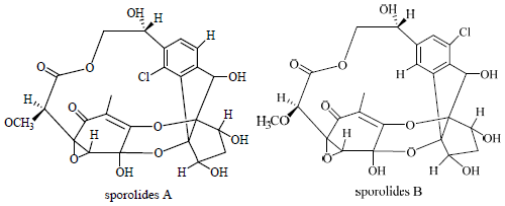
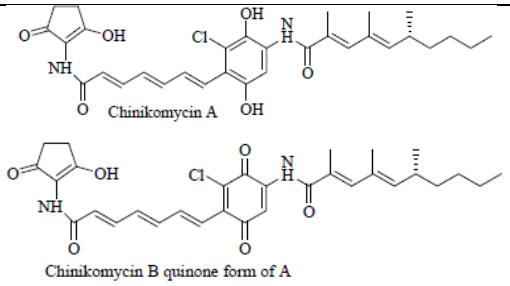
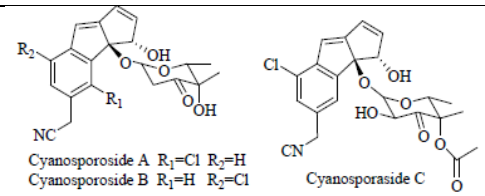
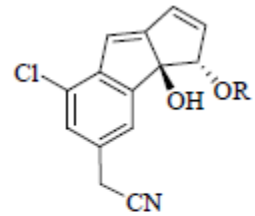
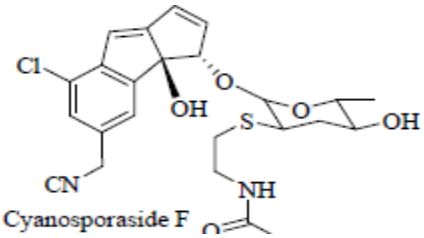
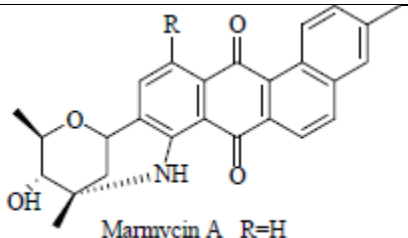
Tableau 11 : Classification des halométabolites isolés d'actinobactéries marines **(Kasanah& Triyanto, 2019).**

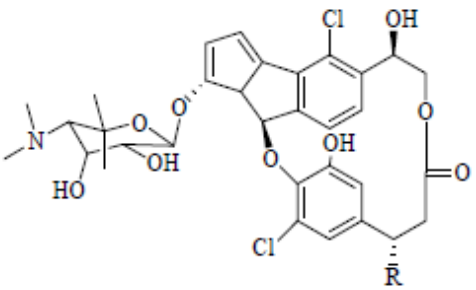
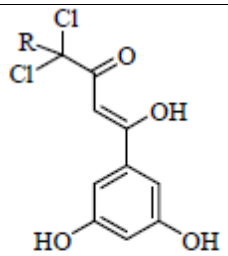
Classe	Composé	Structure	Espèce
Alcaloïde	Lynamicines		*Marinispora sp*

Marinopyrroles	 Marinopyrrole A R= H Marinopyrrole B R= Br Marinopyrrole C R_1= Cl R_2= H Marinopyrrole D R_1= H R_2= Cl Marinopyrrole E R_1= H R_2= Br	*Streptomyces*
Lodopyridone	 Lodopyridone	*Saccharomonospora*
Ammosamide	 Ammosamide A R= S Ammosamide B R= O Ammosamide D	*Streptomyces*
Spiroindimicines	 Spiroindimicin A Spiroindimicin B R_1= CH_3, R_2=H Spiroindimicin C R_1=R_2=H Spiroindimicin D R_1=CH_3, R_2=$COOCH_3$	*Streptomyces*
Indimicine	 Indimicin E	*Streptomyces.sp*

		Indimicin A $R_1 = CH_3$ $R_2 = H$ Indimicin B $R_1 = R_2 = CH_3$ Indimicin C $R_1 = H$ $R_2 = CH_3$ Indimicin D $R_1 = R_2 = H$	
	Chlorizidine		*Streptomyces*CNH-287
Terpène et Méroterpène	Azamérone		*Streptomyces*MAR-4 Et CNQ-766
	Nitropyrrolines	 	D'actinomycètes CNQ-509
	Mérochlorines		*Streptomyces* CNH-189
	Phénazines terpénoïdes		*Streptomyces sp.* CNS-284 and CNY-90

	Napyradiomycines et composés apparentés		*Streptomyces* SCSIO 10428
Peptides	Pipérazimycines		*Streptomyces sp.*
	JBIR		*Streptomyces* Sp080513GE-23
	Totopotensamides		*Streptomycessp.*1053U .L.la.lb

Polykétides	Salinosporamides		*Salinispora tropica* CNB.
	Sporolides		*Salinispora tropica* CNB-392
	Chinikomycines		*Streptomyces griseoauranticus* M045
	Cyanosporasides	  Cyanosporaside D R=CH3COO Cyanosporaside E R=H 	*Salinispora pacifica* CNS 103
	Marmycines	 Marmycin A R=H Marmycin B R= Cl	*Streptomyces* CNH-990

Fidjiolides	 Fijiolide A R= $NHCOCH_3$ Fijiolide B R= NH_2	*Nocardiopsis*
Streptochlorure	 Strepchloritide A R = H Strepchloritide B R = Cl	*Streptomyces sp.*

III.3 Halométabolites avec des fonctions potentielles

Les métabolites secondaires avec une fraction halogène dans leur structure chimique, appelés « halométabolites », présentent une grande diversité structurelle avec des fonctions biologiques uniques, 29 halométabolites ont été signalés avec diverses fonctions mais maintenant plus de 5000 organohalogénés naturels, principalement des composés chlorés et bromés, ont été identifiés. Ces halométabolites sont produits par plusieurs organismes, notamment des microbes, des éponges, des plantes supérieures et des insectes **(Pawar et *al.*, 2019).**

Dans les halométabolites, l'atome d'halogène des ions halogénures (Cl-, Br-, I- et F-) est incorporé dans un composé organique avec halogénation catalysée par l'halogénase. Les métabolites contenant du brome et de l'iode sont principalement sécrétés par les invertébrés et les algues des habitats marins. Les métabolites issus des organismes de l'eau de mueront comparativement plus de brome, tandis que les métabolites chlorés étaient dominants chez les espèces terrestres. En outre, des métabolites fluorés ont également été synthétisés par quelques plantes supérieures. L'augmentation de 200 fois du nombre de métabolites secondaires avec des halo-molécules a été observée en raison de la recherche approfondie d'antibiotiques dans les habitats marins. Cela est peut-être dû au fait que l'incorporation d'un fragment halogène potentialise d'avantage la bioactivité et facilite la biodisponibilité des molécules. De plus, la prévalence des halogènes (Cl- ou Br-) peut offrir une réaction

chimiquement réactive et orthogonale poignée pour une modification sélective par chimie de couplage croisé. L'halogène le plus couranttrouvé dans les halométabolites secondaires est le chlore suivi du brome, tandis que l'iode et le fluor sont considérablement faibles. Parmi ceux-ci, les halométabolites chlorés ont plus d'avantages d'êtreà la modification chimique pour une bioactivité sur mesure et une efficacité accrue des médicaments. La récente pousséel'intérêt des halométabolites semble être due à leurs potentialités en tant qu'alternative efficace auxagents antifongiques et, par conséquent, le métabolite pyrrolnitrine de l'habitat microbien du sol est prometteur **(Pawar et *al.*, 2019).**

III.4 Biosynthèse des halométabolites

Les halométabolites sont des composés couramment trouvés dans la nature et ils sont produits par de nombreux organismes. Ainsi que, les bromométabolites peuvent principalement se trouvent dans le milieu marin, les chlorométabolites sont principalement produits par des organismes terrestres ; iode et les composés fluorés ne sont produits que rarement. Les atomes d'halogène sont incorporés dans les composés organiques par des réactions catalysées par des enzymes avec des ions halogénures comme sourcehalogène. Pendant plus de 40 ans, les haloperoxydases ont étéconsidéré comme responsable de l'incorporation d'halogène atomes en molécules organiques. Cependant, les haloperoxydases manquent de spécificité de substrat et de régiosélectivité, et la connexion d'haloperoxydases avec la formation *in vivo* dehalométabolites n'a jamais été mise en évidence.

Récemment, les investigations de génétique moléculaire ont montré que, au moins dans les bactéries, une classe différente d'halogénases est impliquée dans formation d'halométabolites. Il a été trouvé queces halogénases exigent de $FADH_2$, qui peut être produit à partir de FAD et NADH par des flavines réductases non spécifiques. En plus de $FADH_2$, oxygène et ions halogénures (chlorure et bromure) sont nécessaires à la réaction d'halogénation. Les halogénases-$FADH_2$dépendantes présentent une spécificité de substrat et une régiosélectivité, et leurs gènes ont été détectés dans de nombreuses bactéries productrices d'halométabolites, ce qui suggère que ce type d'enzymes halogénantes constitue la principale source de formation d'halométabolites chez les bactéries et peut-être aussi dans d'autres organismes **(Van, 2001).**

III.4.1 Bioéléments et Halogènes

Un élément est considéré comme essentiel à un organisme lorsque sa disponibilité en dessous d'une certaine limite entraîne systématiquement une altération physiologique, une

maladie ou une mort possible, ou lorsque l'élément fait partie intégrante d'une structure organique remplissant une fonction vitale dans l'organisme.Ils sont connus sous le nom de bioéléments. Les quatre éléments essentiels les plus abondants dans les organismes vivants sont l'hydrogène, le carbone, l'azote et l'oxygène.Les éléments du groupe VIIA du tableau périodique appartiennent à la famille chimique des halogènes. Le mot halogène vient du grec (hals, sel et gennan, produire). Parce que les halogènes ont sept électrons dans leur niveau d'énergie le plus externe, leur forme élémentaire est diatomique (F2, Cl2, Br2 et I2).Dans la nature, ils existent soit sous forme de molécules diatomiques, soit, plus communément, sous forme d'anions univalents. Tous les membres naturels de ce groupe sont des éléments essentiels à la vie, et trois d'entre eux, le fluor, le brome et l'iode, sont des éléments ultratraces **(Valverde et*al.*, 2004).**

III.4.1.1 Le fluor

Le fluor est le premier membre du groupe VIIA et se classe au treizième rang en abondance dans la croûte terrestre. La récalcitrance, qui fait référence à la stabilité de la liaison carbone-halogène, est généralement d'autant plus grande que l'électronégativité de l'halogène augmente. La participation limitée du fluor aux processus biochimiques s'explique non seulement par la relative insolubilité des minéraux fluorés, mais surtout par la forte chaleur d'hydratation de l'ion fluorure, qui augmente le potentiel redox nécessaire à son incorporation en produits naturels **(Valverde et*al.*, 2004).**

À ce jour, pas plus d'une douzaine d'halométabolites contenant du fluor tels que l'acide fluoroacétique et divers acides gras o-fluorés ont été isolés de plusieurs membres des genres Dichapethalum et Acacia, ainsi que de certaines bactéries. Un certain nombre de ces composés naturels fluorés, tels que l'acide coriolique, sont connus pour agir comme antiappétants pour les insectes et comme agents chimiques d'autodéfense. Chez les vertébrés, l'halogène est absorbé sous forme de fluorure dans l'estomac et de l'intestin grêle et pénètre facilement dans les cellules par diffusion passive. Le fluorure est le seul halogène incorporé dans le réseau cristallin des tissus minéralisés, tels que l'ivoire, les os et les dents. De ce fait, chez l'homme, le fluor est considéré comme un élément bénéfique qui confère une protection contre les caries dentaires **(Valverde et*al.*, 2004).**

III.4.1.2 Le chlore

En plus d'être l'halogène le plus abondant dans les océans et le vingtième élément le plus abondant dans la croûte terrestre, le chlore a l'utilisation industrielle la plus large et est

classé parmi les 10 produits chimiques fabriqués en grand volume dans le monde. Le chlorure est également l'anion le plus abondant dans les fluides extracellulaires et est impliqué dans une multitude de processus biologiques, y compris le contrôle des cellules et le volume de fluide corporel, le pH, l'équilibre électrolytique, la sécrétion gastrique et une multitude de processus de sécrétion. La capacité de réguler le volume cellulaire est l'une des plus anciennes réponses homéostatiques essentielles à tous les systèmes vivants, et les mouvements vers l'intérieur et l'extérieur du chlorure jouent un rôle important dans le maintien de ces réponses adaptatives. L'afflux de chlorure ou efflux se produit par l'activation de différents mécanismes qui incluent les canaux chlorure sensibles au volume de la membrane plasmique, le cation sensible au volume, les cotransporteurs chlorure et les canaux voltage-dépendants, qui ont tous été caractérisés dans différentes cellules d'organismes des trois domaines biologiques **(Valverde et*al.*, 2004).**

III.4.1.3 Le brome

Le brome est le 62e élément le plus abondant dans la croûte terrestre et le 7e dans l'eau de mer. Du grec bromos, « puant », son nom fait référence à son odeur nauséabonde. La production mondiale de PBDE a été estimée à 70 000 tonnes/an. La prescription de sels de brome comme sédatifs et anticonvulsivants était populaire au XIXe siècle. Il a été suggéré que l'halogène est un élément essentiel chez l'homme, mais cela n'a pas encore été prouvé. De nombreux organobromés naturels sont produits par des organismes des trois domaines biologiques. Dans l'océan, les macrophytes marins et une grande variété de polychètes et d'hémichordés de la faune sont les principales sources identifiées d'halocarbures volatils, notamment les composés contenant du brome et de l'iode, qui seraient responsables de la teneur plus élevée en halogène de l'air dans les zones marines côtières. En effet, les émissions océaniques de bromométhane et de bromoforme, deux des alcanes bromés les plus simples, ont été estimées à 56 000 et 1 à 2 millions de tonnes/an, respectivement **(Valverde et*al.*, 2004).**

III.4.1.4 L’iode

Malgré sa relative rareté dans le milieu aquatique, environ 400 000 tonnes/an d'iode s'échappent des océans sous forme d'iode dans les embruns ou sous forme d'iode, d'acide iodhydrique et d'iodure de méthyle produits par des organismes marins . L'halogène est généralement ingéré sous forme d'iodure ou d'iodate et est rapidement absorbé dans l'intestin. L'importance nutritionnelle de l'iode découle de son rôle essentiel pour la synthèse

des THs chez les vertébrés. La tétraiodothyronine ou thyroxine, et latriodothyronineou T3, jouent un rôle crucial dans le développement et la différentiation de nombreux organes, dont le système nerveux central **(Valverdeet *al.*, 2004).** Chez l'homme, la carence nutritionnelle en iode représente un problème majeur de santé publique dans le monde et est la cause la plus fréquente de retard mental évitable dans le monde. Selon la sévérité et le stade ontogénétique où le déficit se produit, la carence en iode conduit à un large éventail d'effets néfastes connus collectivement sous le nom de troubles dus à une carence en iode ou IDD. En effet, la captation thyroïdienne est spécifique de la forme réduite, c'est-à-dire l'iodure, alors que l'iode se distribue dans le compartiment sanguin et associe principalement avec les protéines et les lipides sériques, en particulier avec l'albumine et l'iodure de cholestéryle **(Valverde et*al.*, 2004).**

III.5 Enzymes

Les produits naturels halogénés sont répandus dans l'environnement, et les atomes d'halogène sont généralement essentiels à leurs bioactivités. Jusqu'à présent, six familles d'enzymes halogénantes ontété identifiés **(Xu & Wang, 2016).**

III.5.1 Haloperoxydases

Pendant environ 35 ans, les haloperoxydases ont été les seules enzymes halogénantes connues. En plus des haloperoxydases contenant de l'hème tel que la CPO, des haloperoxydases contenant du vanadium ont également été détectées. Cependant, l'implication de métabolites halogénés dans la biosynthèse n'a pu être démontrée sans équivoque pour aucune de ces haloperoxydases. L'élucidation des structures tridimensionnelles de la CPO et des haloperoxydases contenant du vanadium ainsi que les mécanismes réactionnels de ces enzymes ont montré qu'elles produisent de l'acide hypohalo comme agent halogénant, qui diffuse hors du site actif et réagit ensuite avec les composés riches en électrons dans une réaction d'halogénation purement chimique **(Weichold et *al.*,2016).**

Aucun site de liaison spécifique aux halogénures ni aucun site de liaison au substrat n'ont pu être détectés dans les haloperoxydases au cours de ces études **(Weichold et *al.*, 2016).**

III.5.2 Halogénases flavine-dépendantes

La détection de deux gènes d'halogénase dans le groupe de gènes biosynthétiques de l'antibiotique antifongique pyrrolnitrine de *Pseudomonas fluorescens* a révélé quel'halogénase

catalysant la chloration du cycle pyrrole de la monodéchloroaminopyrrolnitrine, PrnC, présentait une forte similitude avec Chl, alors que la tryptophane 7-halogénase, PrnA, n'a guère montré de similitude. Cependant, les deux halogénases, PrnA et PrnC, contenaient un motif de site de liaison nucléotidique, GxGxxG, qui manquait dans le Chl publié séquence. Alors qu'aucune activité pour Chl n'a pu être démontrée par Dairi et *al.* L'activité*in vitro* de PrnA et PrnC pourrait être montré en utilisant leurs substrats naturels, le tryptophane et la monodéchloroaminopyrrolnitrine, respectivement. Lors des tentatives de purification de PrnC, on s'est rendu compte que la flavine adénine dinucléotide était en quelque sorte impliquée dans la réaction **(Weichold et *al*., 2016).**

Des études plus détaillées avec PrnA ont montré que l'halogénation de 2 par PrnA nécessite l'activité d'une deuxième enzyme, une flavine réductase qui réduit le FAD en $FADH_2$ en utilisant le NADH comme réducteur. $FADH_2$ est ensuite utilisé par l'halogénase pour la formation d'acide hypochloreux *via* l'hydroperoxyde de flavine. Aucune flavine réductase spécifique n'est requise dans le cadre du système à deux composants. La première structure tridimensionnelle d'une halogénase flavine-dépendante à être élucidée était celle de la tryptophane 7-halogène PrnA issue de la biosynthèse de la pyrrolnitrine **(Weichold et *al.*, 2016).**

Étonnamment, la structure a montré qu'une interaction directe entre le cycle isoalloxazine de la flavine et le substrat tryptophane n'était pas possible. Cet acide hypohaleux est produit par la réaction de l'hydroperoxyde de flavine avec un ion halogénure. L'hydroperoxyde de flavine est formé à partir de $FADH_2$ et d'oxygène, comme dans une réaction de monooxygénase **(Weichold et *al.*, 2016).**

III.5.3 Halogénases non hémiques, fer, a-cétoglutarate et O_2 dépendantes

La comparaison des séquences d'acides aminés de BarB1/BarB2 et BarC du groupe de gènes biosynthétiques de la barbaamide a révélé des similitudes élevées avec les enzymes potentielles SyrB2 et SyrC de la biosynthèse de la syringomycine et CmaA et CmaB de la biosynthèse de coronatine. Il a été démontré que SyrB2 présentait une homologie avec les enzymes dépendantes du fer non hémiques et de l'a-cétoglutarate. En utilisant SyrB2 purifié, il a pu être montré que cette enzyme catalyse la chloration de la L-thréonine liée à une protéine porteuse peptidique. Ce mécanisme a été soutenu par l'élucidation de la structure

tridimensionnelle de SyrB2, qui a montré qu'à l'état de repos, le fer est coordonné par deux résidus d'histidine, le chlorure, l'eau et l'akétoglutarate, mais pas d'aspartate**(Weichold et *al.*, 2016).**Bien qu'une certaine compétition entre les radicaux chlorés et les radicaux hydroxyles soit attendue, aucune activité d'hydroxylation n'a été observée pour SyrB2**(Weichold et *al.*,2016).**

III.5.4 Fluoration

Étant donné que l'oxydation des ions fluorure ne peut pas être réalisée avec de l'oxygène ou du peroxyde d'hydrogène, un type différent d'enzyme d'halogénation doit être impliqué dans la formation de la liaison carbone-fluor. Cependant, comme le fluorure est fortement hydraté en solution aqueuse, une enzyme qui incorpore du fluorure doit directement éliminer les molécules d'eau de l'ion fluorure. L'élucidation de la structure tridimensionnelle, la mutagenèse dirigée et les études cinétiques ont montré qu'une sérine et un résidu de thréonine remplacent les molécules d'eau entourant l'ion fluorure et, ainsi, un ion fluorure nu est formé qui peut attaquer le substrat et conduire à substitution de la l-méthionine **(Weichold et *al.*, 2016).**

Chapitre 4

Effet des halométabolites des actinobactéries sur le cancer

IV. Chapitre 4 : Effet des halométabolites des actinobactéries sur le cancer

Les approches thérapeutiques traditionnelles, y compris **(Soleimanpour et *al.*, 2020).** La chimiothérapie, la radiothérapie, l'immunothérapie et la chirurgie sont les méthodes utilisées pour traiter le cancer; cependant, ces techniques thérapeutiques sont utiles dans des cas particuliers de cancer, mais pas dans tous les cancers. De nos jours, les produits d'origine naturelle jouent un rôle important dans le traitement du cancer ; environ 60 % des composés anticancéreux étaient dérivés de sources naturelles, notamment des plantes, des animaux et des micro-organismes **(Al-Dhabi et *al.*, 2019). Ces** sources naturelles ont un rôle pertinent dans la diversité des agents anticancéreux actuellement utilisés. Parmi les nombreux produits naturels, agissant *via* différents mécanismes d'action (**Martino et *al.*, 2018**) , récemment, les bactéries et leurs métabolites secondaires méritent une considération sérieuse en tant qu'agents thérapeutiques contre le cancer. Cependant, des utilisations de bactéries et de leurs produits pour le traitement du cancer ont été signalées pour la première fois par William Coley**(Baindara et *al.*, 2020).**

La découverte de nouvelles espèces bactériennes a permet de trouver de nouveaux produites naturelles, ce qui donne beaucoup d'espoirs de trouver et de développer d'autre traitements qui ciblent plusieurs types du cancer. Particulièrement, les *Streptomyces*constitient une source prolifique de divers produits naturels avec diverses activités biologiques, et des producteurs de nombreux médicaments importants sur le plan clinique, y compris un large éventail d'agents anti-infectieux, antibactériens, antifongiques et anticancéreux **(Jeong et *al.*, 2006).**Notamment des alcaloïdes, des polycétides, des peptides, des isoprénoïdes, des phénazines, des stérols et autres. Ces produits naturels ont le potentiel de fournir de futurs médicaments contre des maladies cruciales comme le VIH, les infections microbiennes et protozoaires, les inflammations sévères et le cancer **(Hassan et *al.*,2017).** Ces agents anticancéreux spécifiques peuvent inhiber, retarder ou inverser le développement du cancer **(Tan et *al.*, 2019).**

Nous contribuant dans ce chapitre, à travers l'analyse de différentes études réalisées sur l'effet des halométabolites issus des actinobactéries sur le cancer, à la détermination des différents halocomposés d'origine bactérienneactinomycétale présentant des effets

anticancéreux et /ou cytotoxique, ainsi que les différents mécanismes d'action de ces molécules.

IV.1 Les halométabolites

Les halométabolites sont des composés couramment trouvés dans la nature et ils sont produits par de nombreux organismes particulièrement les *Streptomyces***(Van, 2001)**. C'est un groupe des composés contenant des substituant halogènes (F, Cl, Br, I) **(Kasanah, &Triyanto, 2019),** ces atomes incorporés dans la structure des produis naturelles donne une grande diversité structurelle (**Pawar et *al*, 2019)** et doncprésentent un large éventail d'activités biologiques, **(Wang et *al.*, 2021).**

Des études sur les métabolites secondaires des actinomycètes montrent qu'ils peuvent synthétiser de nombreux produits naturels,notamment des alcaloïdes, des polykétides, des peptides, des isoprénoïdes, des phénazines, des stéroïdes, ect. Ces produits naturels pourraient fournir des médicaments pour des maladies clés à l'avenir, telles que le VIH, les infectionsmicrobiennes et protozoaires, l'inflammation grave et le cancer **(Hassan et *al*.,2017).** Ces agentsanticancéreux spécifiques peuvent inhiber, retarder ou inverser le développement du cancer **(Tan et *al*.,2019).**

IV.1.1 L'effet cytotoxique :

IV.1.1.1 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent généralement un groupe très diversifié de composés contenant des structures cycliques dans lesquelles au moins un atome d'azote basique est incorporé. Sont des composés chimiques importants qui constituent une riche source pour la découverte de médicaments. De nombreux alcaloïdes sélectionnés ont montré des effets antiprolifératifs et anticancéreux sur une large catégorie de cancers à la fois *in vitro* et *in vivo* **(Mondal et *al*., 2019)** .

La streptochlorine

Streptochlorineest une petite molécule d' alcaloïde indole isolée de *Streptomycessp*., c'est un composé pharemacoprometteur en raison de sa puissante bioactivité(Figure 12)**(Gao et *al*.,2021)**.Streptochlorine, une nouvelle classe d'agents à antinéoplasiques, a des effets anticancéreux, antiangiogènes et antiallergiques**(Kwak et *al.*, 2015).**

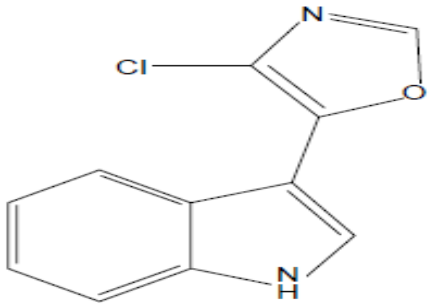


Figure 12: La structure chimique de Streptochlorine **(Kwak et *al.*, 2015).**

Kwak Tae Won et ces collaborateurs (2015), ont montré l'effet cytotoxique et anticancéreux *in vitro* sur les cellules Cholangiocarcinoma (CC) induite par la streptochlorine.La figure ci-dessous, montre que la streptochlorine a induit une inhibition dose-dépendante de la croissance des cellules CC jusqu'à 200 uM. Parmi les différents types de cellules CC, la croissance des cellules SNU1196 était inhibée de moins de 20 % à des concentrations de streptochlorine supérieures à 50 µM et l'inhibition de la croissance des autres lignées cellulaires était presque inférieure à 25 % à 200 µM (Figure 13) **(Kwak et *al.*, 2015).**

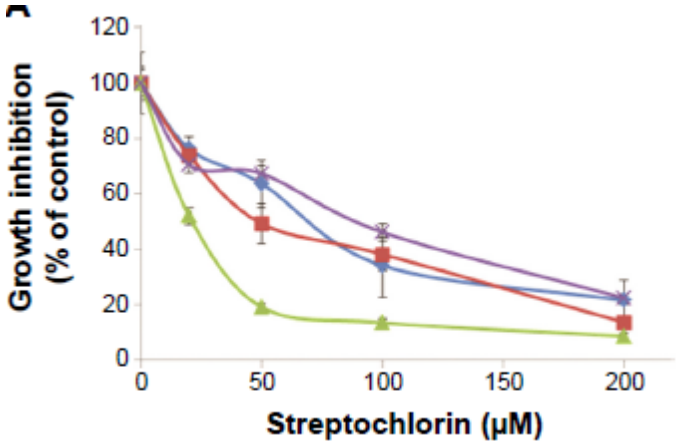


Figure 13:l'inhibition de la croissance des cellules CC par le streptochlorine **(Kwak et *al.*, 2015).**

Le et son équipe (2019) ont étudié l'effet cytotoxiques de la saccharoquinoléine et leur effet sue le cycle cellulaire.

La saccharoquinoléine

La saccharoquinoléine c'est un méroterpénoïde alcaloïde cytotoxique, a été isolé du bouillon de fermentation de la bactérie d'origine marine *Saccharomonosporasp.* CNQ-490. La

saccharoquinoléine est composée d'une unité sesquiterpène de type drimane associée à un acide 6,7,8-trihydroxyquinoléine-2-carboxylique apparent (Figure 14). Cette combinaison de voies de biosynthèse a été observée pour la première fois dans des produits microbiens naturels. La saccharoquinoléine s'est avérée ont une cytotoxicité contre deslignées cellulaire cancéreuses **(Le et *al.*, 2019)**.

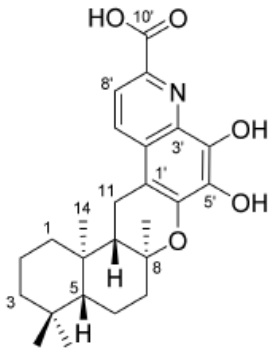


Figure 14 : La structure chimique de la saccharoquinoléine **(Le et *al.*, 2019)**.

l'étude a été réaliser sur des lignées cellulaires telles que H1299, A549, HCT116, PC-3, HepG2 et dans la lignée cellulaire normale BJ. À concentration de 10 M, la saccharoquinoléine a induit une inhibition de la croissance cellulaire d'environ 50 % dans H1299 et HCT116(Tableau 12).Le traitement à la concentration la plus élevée de 25 M a montré une forte inhibition dans le H1299, HCT116,et des lignées cellulaires PC-3, mais a également induit une mortalité cellulaire d'environ 43 % dans les cellules BJ**(Le et *al.*, 2019)**.

Tableau 12: Test de viabilité dans plusieurs types de cellules cancéreuses et de cellules normales après traitement avec saccharoquinoléine pendant 72 h **(Le et *al.*, 2019)**.

		Cancer					Normal
	Concentration (µM)	Lung H1299	Lung A549	Colon HCT116	Prostate PC-3	Liver HepG2	Skin BJ
DMSO (0.1%)		100	100	100	100	100	100
Doxorubicin	10	6	5	11	24	7	16
saccharoquinoléine	1	87	103	89	106	98	87
	10	45	100	39	88	82	80
	25	29	81	25	46	71	57

Pour montrer l'effet cytotoxique de la saccharoquinoléine, parmi les lignées cellulaires cancéreuses testées, ils ont choisi les cellules cancéreuses du côlon HCT116, qui ont montré une réponse cytotoxique élevée, et ont confirmé l'inhibition de la croissance par la

saccharoquinoléine en utilisant des mesures de croissance de cellules vivantes. Comme le montre la figure 14, l'inhibition des cellules HCT-116 est de manière dose-dépendante **(Le et *al.*, 2019)**.

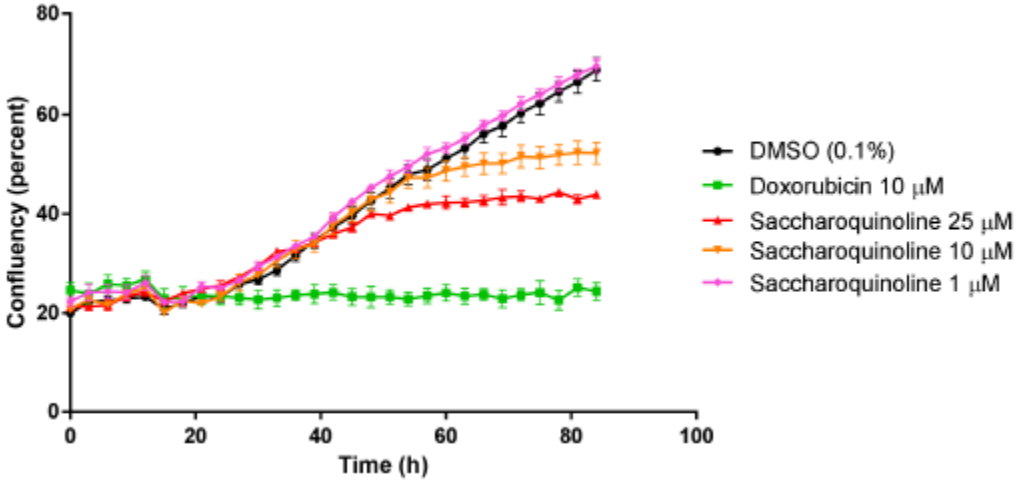


Figure 15 : Croissance des cellules cancéreuses du côlon (HCT116) dans les cellules traitées par la saccharoquinoléine **(Le et *al.*, 2019)**.

Concernentla régulation du cycle cellulaire, le cycle de division cellulaire est le processus fondamental par lequel une cellule duplique son cytoplasme et contenu nucléaire et se divise en deux cellules filles génétiquement identiques. La progression du cycle cellulaire est entraînée par des combinaisons spécifiques de complexes hétérodimères cycline/CDK (kinase dépendante de la cycline) cette licence progresse d'une phase du cycle cellulaire à l'autre (**Creff& Besson, 2020).**

En particulier l'arrêt de G1, c'est l'une des origines de la cytotoxicité. Par conséquent, ils ont comparé les expressions des protéines de contrôle G1 telles que les CDK et les cyclines dans les cellules traitées et témoins. La figure 16 illustre la forte inhibition des cyclines D1 et D3, qui jouent un rôle important dans la transition de la phase G1 à la phase S. Ces données ont montré que la saccharoquinoléine induisait un arrêt G1 par la régulation négative des cyclines D1 et D3 dans les cellules cancéreuses du côlon, entraînant une inhibition de la croissance cellulaire **(Le et *al.*, 2019)**.

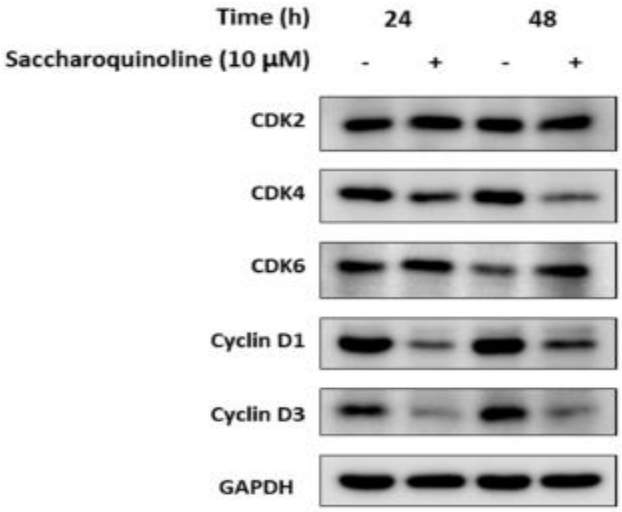


Figure16 : Régulation à la baisse des protéines de point de contrôle du cycle cellulaire impliquées dans la transition de phase G1 à la phase S **(Le et *al.*, 2019)**.

Il y a un autre type des alcaloïdes qui portées un effet cytotoxiques sure des cellules cancéreuses y compris :

Alcaloïdes bis-indoles chlorés

Sont des produits naturels bis-indole sont structurellement définis par deux alcaloïdes indoliques monomères qui contribuent à leurs diverses activités biologiques. Les composés de la famille des bis-indoles sont omniprésents dans les plantes et les micro-organismes. Depuis le début des années 1960, cette classe de composés a été utilisée avec succès dans les thérapies combinées contre le cancer. Les premiers alcaloïdes bis-indoles anticancéreux introduits en usage clinique étaient la vinblastine et la vincristine. Par la suite, les progrès ultérieurs ont suscité un intérêt durable pour la découverte de nouveaux alcaloïdes bis-indoles à partir de sources naturelles. Les indolocarbazoles sont un type de bis indoles qui possèdent des activités inhibitrices contre les protéines kinases ou les ADN topoisomérases, comme la rébeccamycine et la staurosporine. De plus, des composés classés de manière similaire dans cette classe tels que UCN-01 et BMY-27557 avaient été explorés dans des essais cliniques pour la chimiothérapie anticancéreuse. Les composés bis-indole dérivés de la mer contiennent généralement des atomes d'halogène dans leurs structures. De tels alcaloïdes bis-indoles halogénés présentent généralement de puissantes activités cytotoxiques et/ou antibactériennes, et sont donc considérés comme des pistes anti-cancéreuses ou antibactériennes prometteuses. La dionémycine (1) et l'acide 6-OMe-7′,7″- dicorochromopyrrolique (2), Deux nouveaux

alcaloïdes bis-indoles chlorés ont été isolés de *Streptomycessp.* SCSIO 11791(figure17) **(Song et *al.*, 2020).**

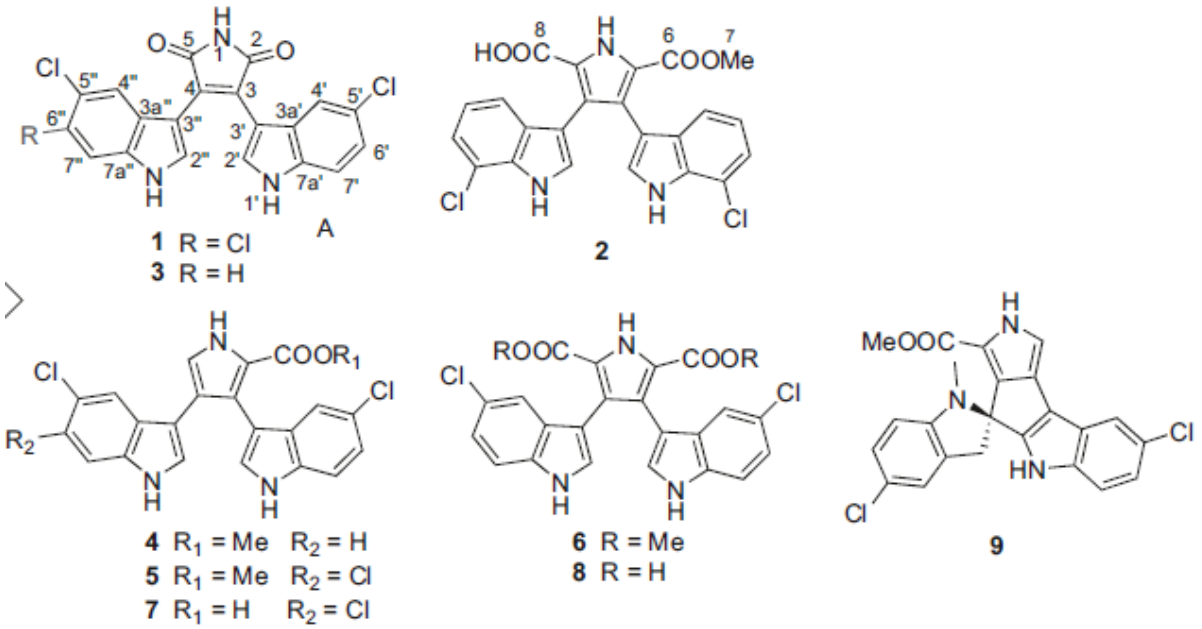


Figure17: Structures des alcaloïdes bis-indoles chlorés 1–9 de *Streptomyces.* SCSIO 11791 **(Song et *al.*, 2020).**

Pour montre l'effet cytotoxique des alcaloïdes bis-indole, **Song et al. (2020),** ontidentifiées de neuf alcaloïdes bis-indole isolés de *Streptomyces.* SCSIO 11791par une étude*in vitro* sur un panel de lignées cellulaires cancéreuseshumaines, NCI-H460, MDA-MB-231, HCT-116, HepG2 et MCF10A non cancéreux Ils sont montrés que les composés 1, 2, 5, 7, 9 ont montré une cytotoxicité modérée avec des valeurs IC50 allant de 2,2 à 30,4 µM. Les composés 1, 5 et 7 possédants un atome de chlore en C-6″ ont produit une plus grande cytotoxicité que les composés 3, 4, 6,8 **(Tableau13) (Song et *al.*, 2020).**

Tableau 13 : Cytotoxicités de cinq composés 1, 2, 5, 7, 9 contre un panel de lignées cellulaires cancéreuses et non cancéreuses humaines (valeur IC50, M) **(Song et*al.*, 2020).**

	1	2	5	7	9	EPI[a]
MDA-MB-435	3.9	19.4	6.9	13.8	3.0	0.3
MDA-MB-231	11.2	>25.0	28.6	30.4	12.2	0.9
NCI-H460	3.6	>25.0	12.2	21.9	7.0	0.02
HCT-116	4.3	13.1	8.7	8.8	2.2	0.4
HepG2	8.2	18.5	11.6	27.7	6.7	0.1
MCF10A	3.1	2.9	1.9	3.1	3.4	0.1

[a]EPI (epirubicin) was used as a positive control

Après l'analyse de la relation structure-activité des alcaloïdes bis-indoles chlorés 1–9 de *Streptomyces.* SCSIO 11791, dont deux nouveaux composés 1 et 2. Ces alcaloïdes bis-indoles chlorés ont montré des activités cytotoxiques dans les tests bioactifs. Notamment, le composé 1 a montré une cytotoxicité modérée contre un panel de lignées cellulaires cancéreuses humaines avec une gamme IC50 de 3,1 à 11,2 µM. L'analyse SAR de ces composés indique que l'atome de chlore en C-6″ est un atome fonctionnel clé pour conférer leurs bioactivités.

IV.1.1.2 Les polykétides

Les polykétides sont des produits naturels constituent une large classe de composés avec diverses caractéristiques structurelles et activités biologiques **(Dutta et *al*.,2014).** Ce groupe ayant des squelettes carbonés structurellement intrigants qui comprennent des polyphénols, des macrolides, des polyènes, des énédiynes et des polyéthers. Bien que leurs rôles exacts dans leurs contextes biologiques d'origine ne soient pas connus dans tous les cas, on pense qu'ils fonctionnent comme des pigments, des facteurs de virulence, des produits infochimiques ou pour la défense. D'un point de vue pharmacologique, les polykétides sont une source importante de nouvelles thérapeutiques. En particulier, ils sont utilisés en médecine principalement comme antibiotiques, immunosuppresseurs, antiparasitaires, hypocholestérolémiants et agents antitumoraux **(Hertweck,2009)**

La kendomycine

Un polykétide de type ansamycine, a été isolée pour la première fois sous la forme (-)-TAN 2162 de Streptomyces AL-71389 en 1996 et a été réisolée par Su et Zeeck de *Streptomyces*NRRL-21370 et *Streptomycesviolaceoruber* 3844-33C en 1998 et 2000, respectivement. La configuration absolue de la kendomycine a été établie par analyse cristallographique aux rayons X et l'application de la méthode modifiée de l'ester de Mosher en 2000. La kendomycine présente une chaîne macrocyclique ansa aliphatique qui incorpore un cycle tétrahydropyrane hautement substitué qui relie une quinone noyau de méthide. Jusqu'à présent, la kendomycine est le seul représentant de sa classe qui a été isolé d'un actinomycète au cours des deux dernières décennies. La kendomycine est un puissant antagoniste des récepteurs de l'endothéline qui présente des activités anti-ostéoporotiques, antitumorales et antibactériennes (Figure18) **(Zhang et *al*., 2019).**

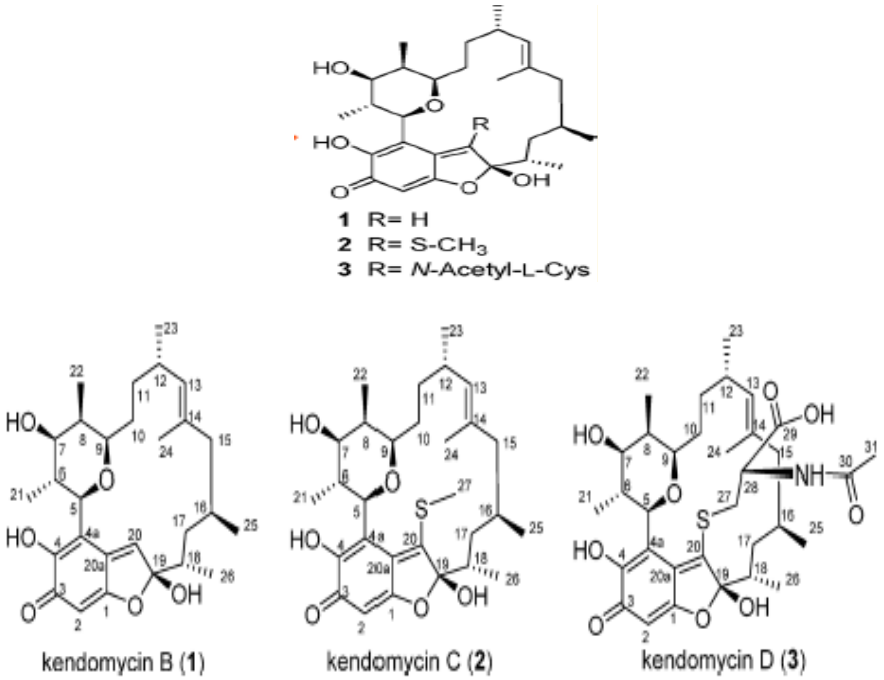


Figure18: Structure chimique de kendomycineA et leurs dérivés (B, C, D)
(Zhang et *al*., 2019).

L'étude de Zhang et*al*.,(2019), a montré l'éffet cytotoxique de kendomycine et leurs analogues qui ont été découverts à partir de l'actinomycète d'origine marine *Verrucosisporasp.* SCSIO 07399.

Après des tests *in vitro*, ils ont révélé que la kendomycine et leurs analogues (1-3) affichent uneactivité modérément cytotoxique contre MGC803, A549, HeLa, HepG2, MCF-7 et lignées cellulaires tumorales humaines RKO. Les valeurs IC50 allaient de 2,2 à 44 M. la kendomycine A et B possédant une activité cytotoxique à peu près équivalentes et que la kendomycine C est 1à4 fois moins active que la kendomycine A et B (Tableau 14) **(Zhang et *al*., 2019).**

Tableau 14 : Valeurs IC50 (µM) des composés 1 à 3 contre six lignées cellulaires tumorales humaines et deux lignées cellulaires non malignes **(Zhang et *al*., 2019).**

	MGC803	A549	HeLa	HepG2	MCF-7	RKO	L02[b]	HUVEC-12[b]
1	3.3 ± 0.02	8.0 ± 0.17	4.9 ± 0.09	22 ± 0.19	5.1 ± 0.16	6.1 ± 0.09	7.4 ± 0.13	6.0 ± 0.13
2	8.9 ± 0.06	6.8 ± 0.08	5.4 ± 0.18	6.7 ± 0.09	2.3 ± 0.05	3.8 ± 0.08	2.2 ± 0.05	6.0 ± 0.22
3	7.1 ± 0.17	26 ± 0.29	7.1 ± 0.08	44 ± 0.27	13 ± 0.12	34 ± 0.25	6.2 ± 0.03	>50
Cis	13 ± 0.20	9.3 ± 0.13	6.1 ± 0.11	10 ± 0.20	6.4 ± 0.21	20 ± 0.13	22 ± 0.22	23 ± 0.17
Dox	3.6 ± 0.06	2.1 ± 0.03	0.8 ± 0.09	0.7 ± 0.06	0.8 ± 0.03	1.5 ± 0.08	8.6 ± 0.06	7.2 ± 0.09

[a]Data are expressed as the mean of at least three independent experiments. [b]Noncancerous human cell lines. *cis*-Platin (Cis) and doxorubicin (Dox) were used as positive controls.

IV.1.1.3 Les peptides

Les peptides ayant des activités biologiques, libérés lors de la digestion gastro-intestinale ou de la transformation des aliments, jouent un rôle important dans la régulation et la modulation métaboliques, suggérant leur utilisation potentielle comme nutraceutiques et ingrédients alimentaires fonctionnels pour la promotion de la santé et la réduction des risques de maladie. De nombreuses études ont rapporté que les peptides provenant de diverses sources alimentaires possèdent des activités biologiques, notamment des activités antihypertensives, antioxydantes, anticancéreuses, antimicrobiennes et opioïdes, ainsi que des effets immunomodulateurs et hypocholestérolémiants. D'autres études sont en cours pour explorer les sources, les biodisponibilités etpropriétés physiologiques/fonctionnelles possibles et les mécanismes d'action des peptides bioactifs. Des approches technologiques en termes de préparation, de purification et de caractérisation des peptides ont également été étudiées **(Shahidi et *al*., 2008).**

Le nocardiotide A

Le nocardiotide A (1) Un nouvel hexapeptide cyclique, ainsi que trois composés - tryptophane (2), acide kynurénique (3) et acide 4-amino-3-méthoxy benzoïque (4) - ont été isolé et identifié à partir du bouillon de culture de *Nocardiopsissp*. Souche UR67 associée à l'éponge marine *Callyspongiasp.*De la mer Rouge (Figure 19) **(Alyaa et *al*.,2018).**

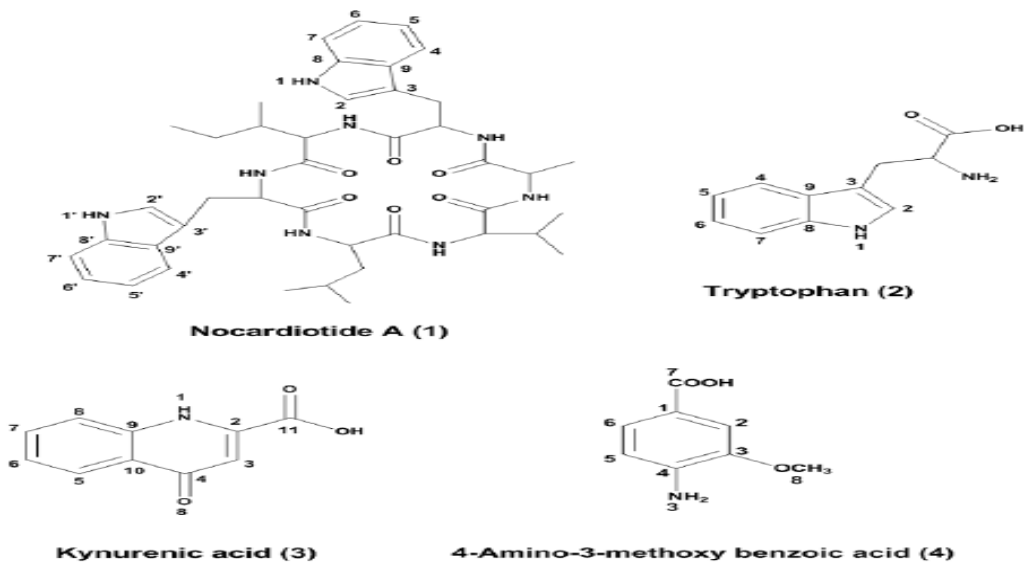


Figure 19 : la structure chimique de le nocardiotideA, tryptophane, l'acide kynurenic et l'acide amino-3-methoxybenzoic **(Alyaa et *al*.,2018).**

Alyaa et al. (2018) ont montré l'effet cytotoxique dele nocardiotide isole à partir de *Nocardiopsissp.* Souche UR67 sur des lignes cellulaires cancéreuses, carcinome du côlon murin CT26, du carcinome du col de l'utérus humain HeLa et des lignées cellulaires humaines de myélome multiple MM.1S**(Alyaa et *al*.,2018).**

Selon cette étude, ils sont montrés que les quatre composés isolés susmentionnés ont été examinés pour leur potentiel de cytotoxicité vis-à-vis du carcinome du côlon murin CT26, du carcinome du col de l'utérus humain HeLa et des lignées cellulaires humaines de myélome multiple MM.1S MM.1S. Nocartiodite A (1) présentait des caractéristiques cytotoxiques importantes avec des valeurs IC50 de 8, 11 et 12 M/mL contre le MM humain. Le myélome multiple 1S, le carcinome du col de l'utérus humain HeLa et le carcinome du côlon murin CT26, respectivement (figure20) **(Alyaa et *al*.,2018).**

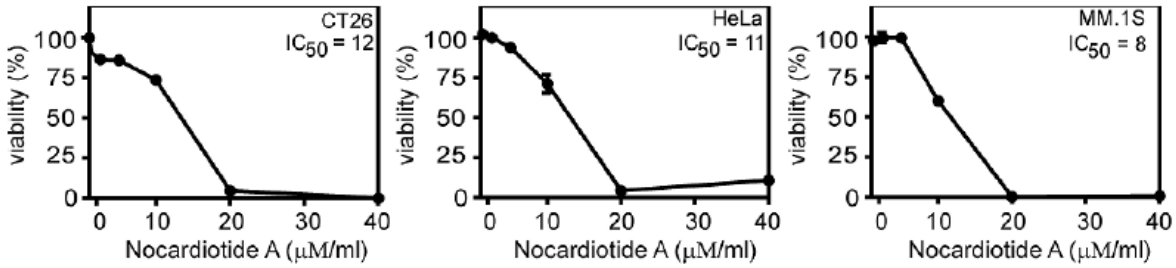


Figure 20: Le nocardiotide A induit la mort cellulaire dans les lignées cellulaires CT26, HeLa et MM.1S**(Alyaa et *al*.,2018).**

Les lucentamycines

Les lucentamycines A-D (1-4) sont des peptides contenant de la 3-méthyl-4-éthylidèneproline. Ils ont été isolés du bouillon de fermentation d'un actinomycète d'origine marine identifié par des méthodes phylogénétiques comme *Nocardiopsislucentensis* (souche CNR-712) (figure21) **(Cho et *al.*, 2007)**.

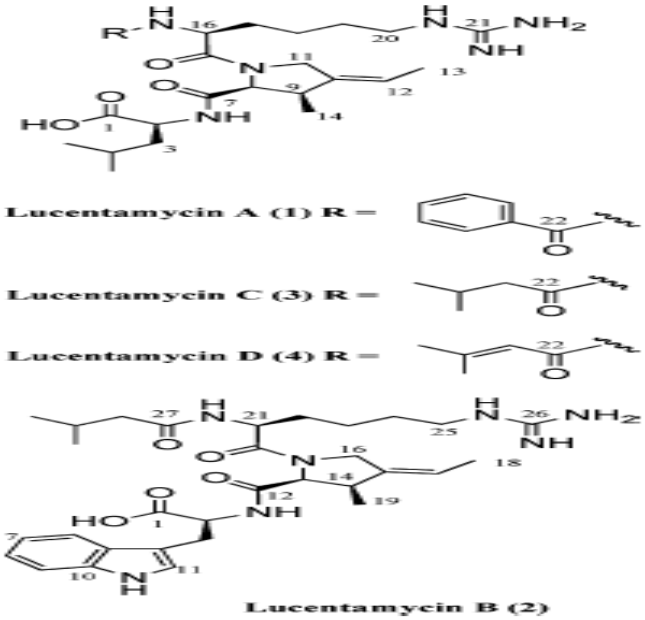


Figure21 : La structure chimique de les lucentamycines A-D **(Cho et *al.*, 2007)**.

L'équipe de Ji Young Cho (2007) montre que lucentamycines A-D, un des peptides qui porte un effet cytotoxique contre le carcinome du clon humaine HCT116 **(Cho et *al.*, 2007)**.

IV.1.2 L'effet anticancéreux :

Won et ces collaborateurs (2015), été constaté que la streptochlorinea inhibé la croissance et la sécrétion du facteur de croissance endothélial vasculaire par les cellules de cholangiocarcinome d'une manière dose-dépendante et a induit l'apoptose *in vitro* (Figure 13) **(Kwak et *al.*, 2015).** C'est le processus du mort cellulaire programmée. Il est activé à la réponse à des signaux d'origine intracellulaires ou extracellulaireset aboutissant à l'activation de protéases capables d'hydrolyser les constituants cellulaires **(Monier et *al.*, 2015).**

La streptochlorine inhibe aussi efficacement l'invasion et la migration des cellules de cholangiocarcinome et la sécrétion de facteur de croissance de l'endothélium(VEGF) à partir des cellules SNU478. Cette protéine (VEGF) sécrétée par les cellules était significativement

diminuée lorsqu'elles étaient traitées avec 100 µM de streptochlorine (figure14). L'activité de la MMP-9 a diminué de manière significative de manière dose-dépendante. Plus précisément, l'activité de la MMP-9 après traitement avec de la streptochlorine 100 µM était presque la moitié de celle du groupe témoin (Figure 22) **(Kwak et *al.*, 2015).**

De plus, la régulation de la motilité des cellules cancéreuses par la streptochlorine suggère que la streptochlorine régule la métastase des cellules cancéreuses *in vivo*. Pour examiner cette possibilité, ils ont injecté des cellules HuCC-T1 dans la rate de souris nude, puis ils ont observé des métastases dans le foie, comme le montre la figure 22**(Kwak et *al.*, 2015).**

Selon cette étude la streptochlorineà la dose de100 µM à200 µMmontre un effet cytotiques, est capable d'induire l'apoptose et inhibe efficacement l'angiogenèse, la migration et l'invasion des cellules CC

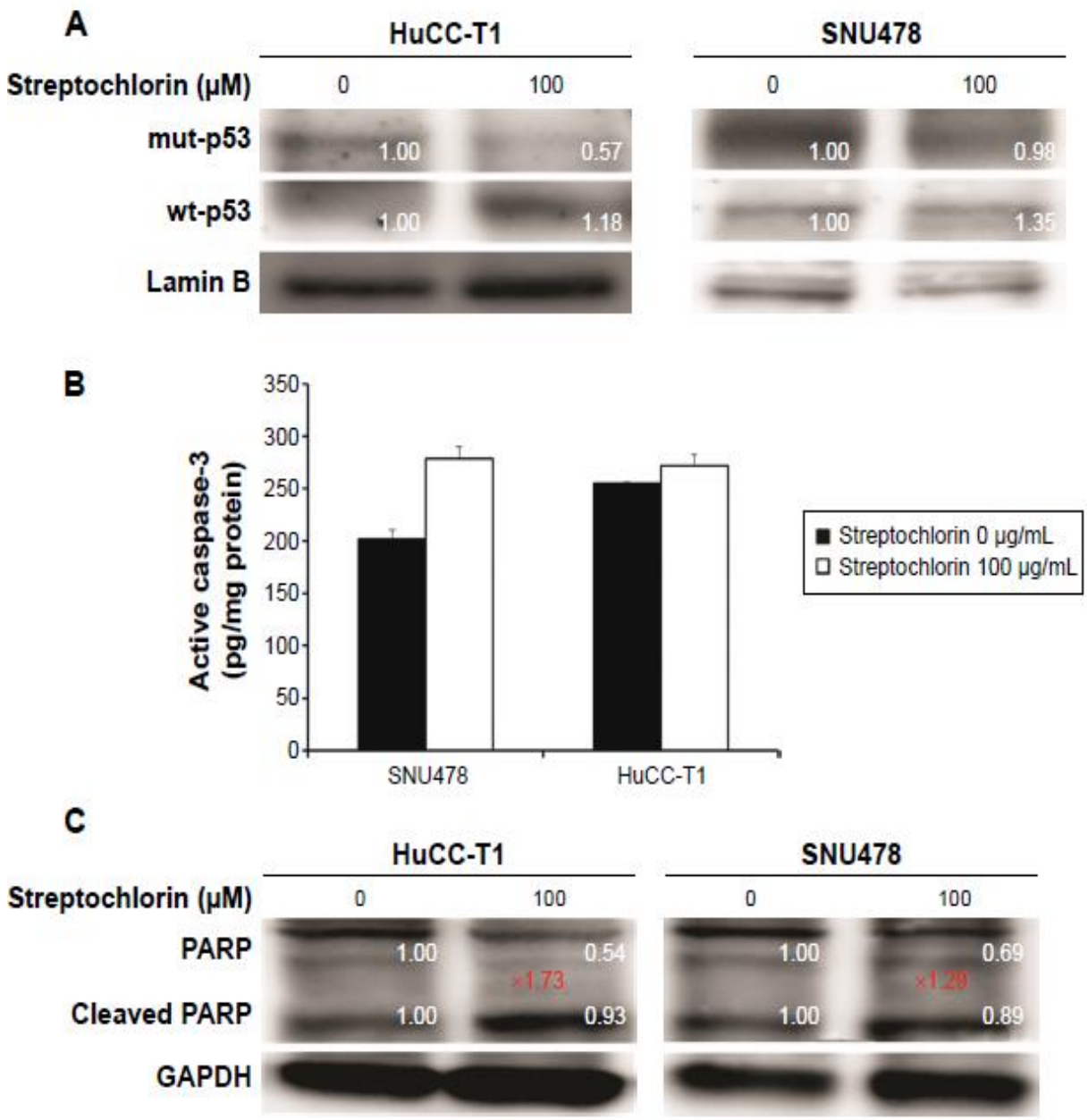


Figure 22: Divers signaux apoptotiques de cellules HuCC -T1 et SNU478 lors d'un traitement avec de la streptochlorine. (A) p53 de type sauvage et mutant, (B) activité caspase-3 et (C) expression PAR P. Le PAR P clivé par rapport au PAR P a augmenté de 1,73 fois dans les cellules HuCC-T1 et de 1,29 fois dans les cellules SN U478, respectivement.Abréviations : mut-p53, mutant p53; wt-p53, p53 de type sauvage; PAR P, poly ADP ribose polymérase **(Kwak et *al.*, 2015).**

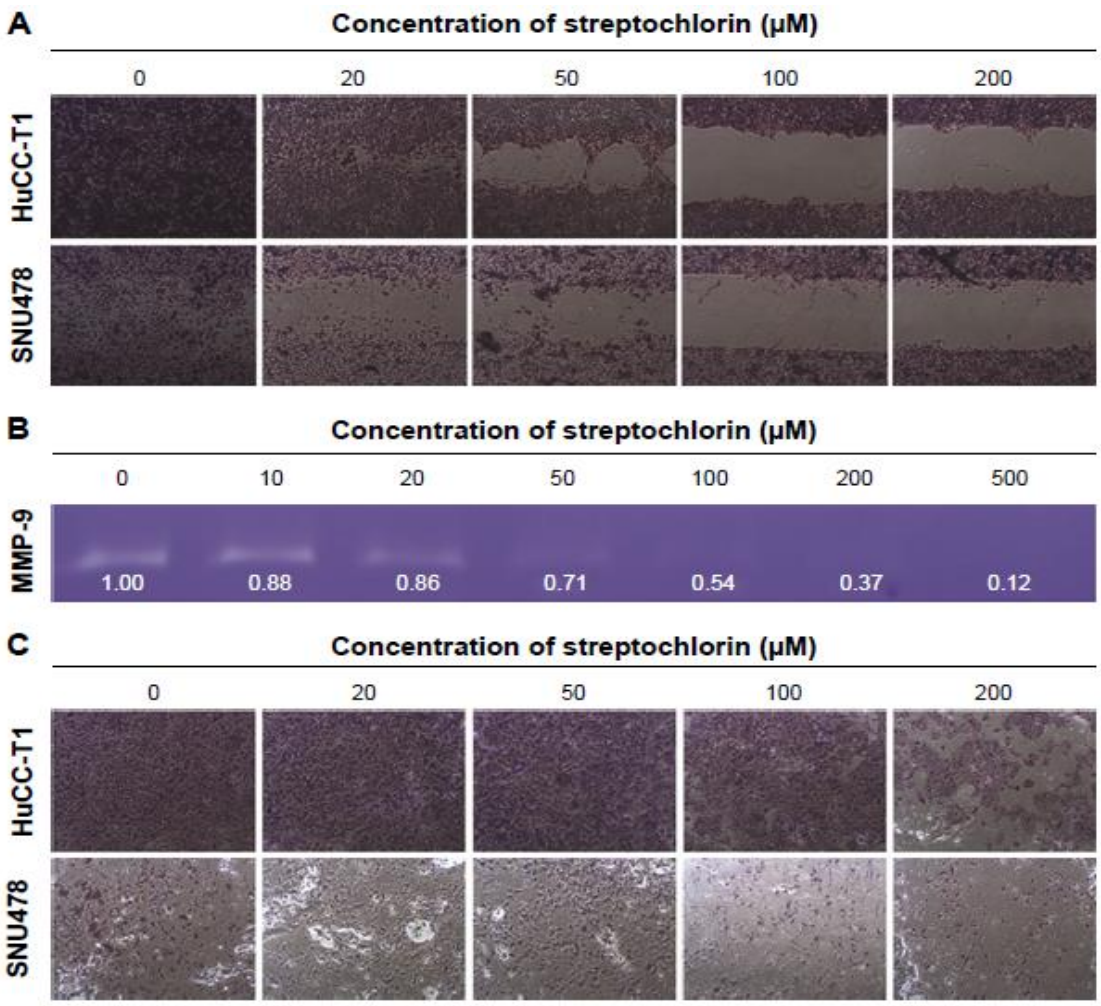


Figure 23 : Effet de la streptochlorine sur les cellules HuCC -T1 et les cellules SN U478.(A) Test de migration utilisant le test de cicatrisation des plaies. (B) Zymographie sur gélatine de cellules HuCC -T1 **(Kwak et *al.*, 2015).**

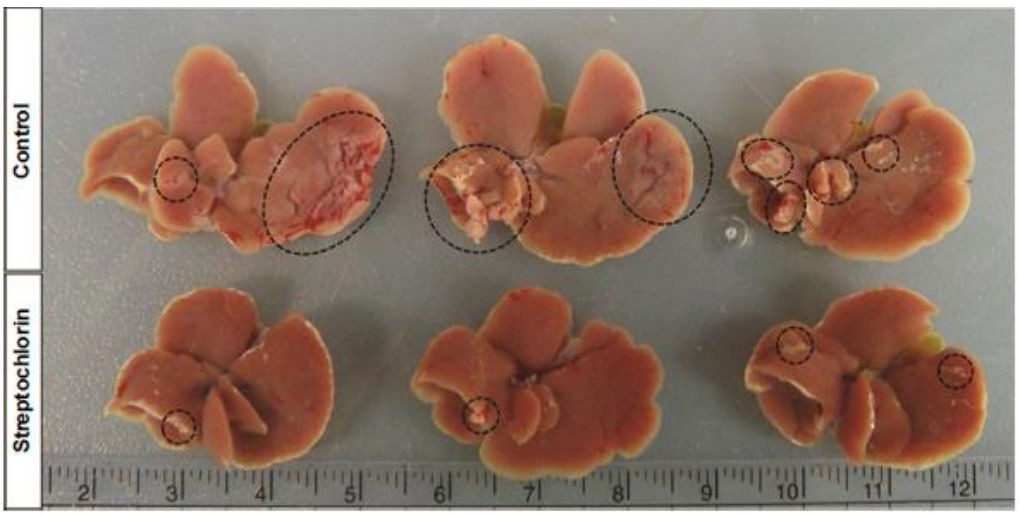


Figure 24: Effet antimétastatique de la streptochlorine**(Kwak et *al.*, 2015).**

D'autres équipes montrent que la streptochlorine porte un effet pro-apoptotique, médié par l'activation des caspases et des mitochondries dans les cellules U937.

Park et son équipe, après le traitement par la streptochlorine, ont montré que la streptochlorine entraîne une inhibition de la croissance dépendante de la concentration et du temps en induisant l'apoptose **(Park et *al.*, 2008),** ce qui joue un rôle majeur dans la prévention naturelle du développement d'un cancer au sein d'un organisme, par l'élimination de cellules endommagées ou mal placées. **(Monier et *al.*, 2015).**

L'augmentation de l'apoptose induite par la streptochlorine était corrélée avec régulation à la baisse de l'expression anti-apoptotique de Bcl-2, régulation à la hausse de Bax et FasLpro-apoptotique, une diminution du potentiel membranaire mitochondrial (MMP), activation des caspases et dégradation de la poly-(ADP-ribose) polymérase et la protéine phospholipase C-cl (Figure 17-18) **(Park et *al.*, 2008).**

Cependant, le mécanisme par lequel la streptochlorine exerce sa fonction n'est pas encore entièrement compris. Par conséquent, Park et son équipe ont utilisé la lignée cellulaire leucémique humaine U937 comme système modèle pour étudier les effets de l'apoptose induite par la streptochlorine. Ils ont constaté que l'apoptose induite par la streptochlorine s'accompagne d'une modulation du système Fas/Fas ligand (FasL), des membres de la famille Bcl-2, d'un dysfonctionnement mitochondrial et de l'activation des caspases. De plus, le blocage de l'activation de la caspase-3 et la surexpression de Bcl-2 ont réduit l'apoptose induite par la streptochlorine dans les cellules U937**(Park et *al.*, 2008).**

La salinosporamideA

La salinosporamideA également appelé NPI-0052, récemment identifié à partir de la bactérie marine *Salinisporatropica*, est un puissant inhibiteur du protéasome 20S et présente un potentiel thérapeutique contre une grande variété de tumeurs grâce à un mécanisme mal compris **(Ahn et *al.*, 2007)**.

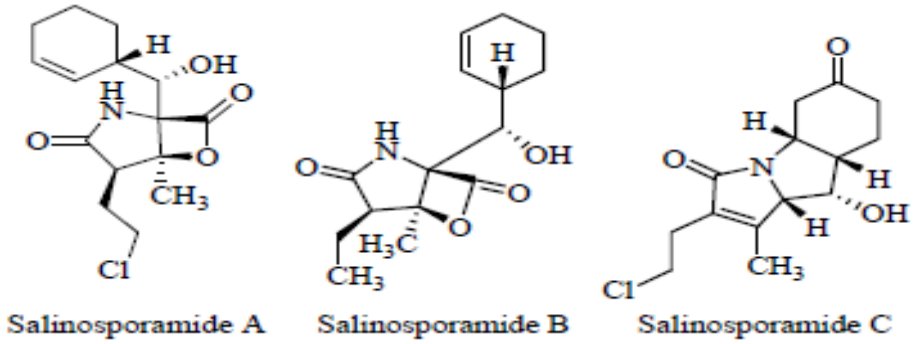


Figure25 : La structure chimique de salinosporamide(A,B,C)
(Kasanah, &Triyanto, 2019).

Ahn et *al.* (2007) ont montré que la salinosporamide A amélioré l'apoptose et inhibe l'invasion cellulaire. La salinosporamide A (également appelé NPI-0052), améliore l'apoptose et inhibe l'invasion cellulaire par la supprission de la voie NF-KB. Après la comparaison de salinosporamide A avec bortézomib, MG-132, N-acetyl-leucylleucyl-norleucinal (ALLN) et lactacystin, lasalinosporamide A s'est avéré être le suppresseur le plus puissant de l'activation de NF-KB. D'autres études ont montré que le salinosporamideA inhibait la sous-unité inhibitrice induite par le TNF de la dégradation de NF-KB (I KB) (Figure 2 5-26) **(Ahn et *al.*, 2007)**.

Selon cette étude, le NPI-0052 potentialisait l'apoptose induite par le TNF et les médicaments chimiothérapeutiques, supprimait l'invasion des cellules tumorales induite par le TNF. Cet effet de NPI-0052 était en corrélation avec la régulation négative de divers produits géniques qui interviennent dans la prolifération cellulaire, la survie cellulaire, l'invasion et l'angiogenèse, tous connus pour être associés à NF-KB. NPI-0052 a supprimé l'activation non seulement inductible mais aussi constitutive de NF-KB. Ils ont également constaté que le NPI-0052 bloquait la dégradation de l'IKB induite par le TNF ; suppression de la translocation de p65 vers le noyau ; et inhibe l'expression du gène rapporteur NF-KB-dépendant. Ils ont montré que la suppression de l'activation de NF-KB par NPI-0052 était due à l'accumulation d'IKB phosphorylé, d'IKB ubiquitiné et à l'inhibition de l'activité du protéasome.

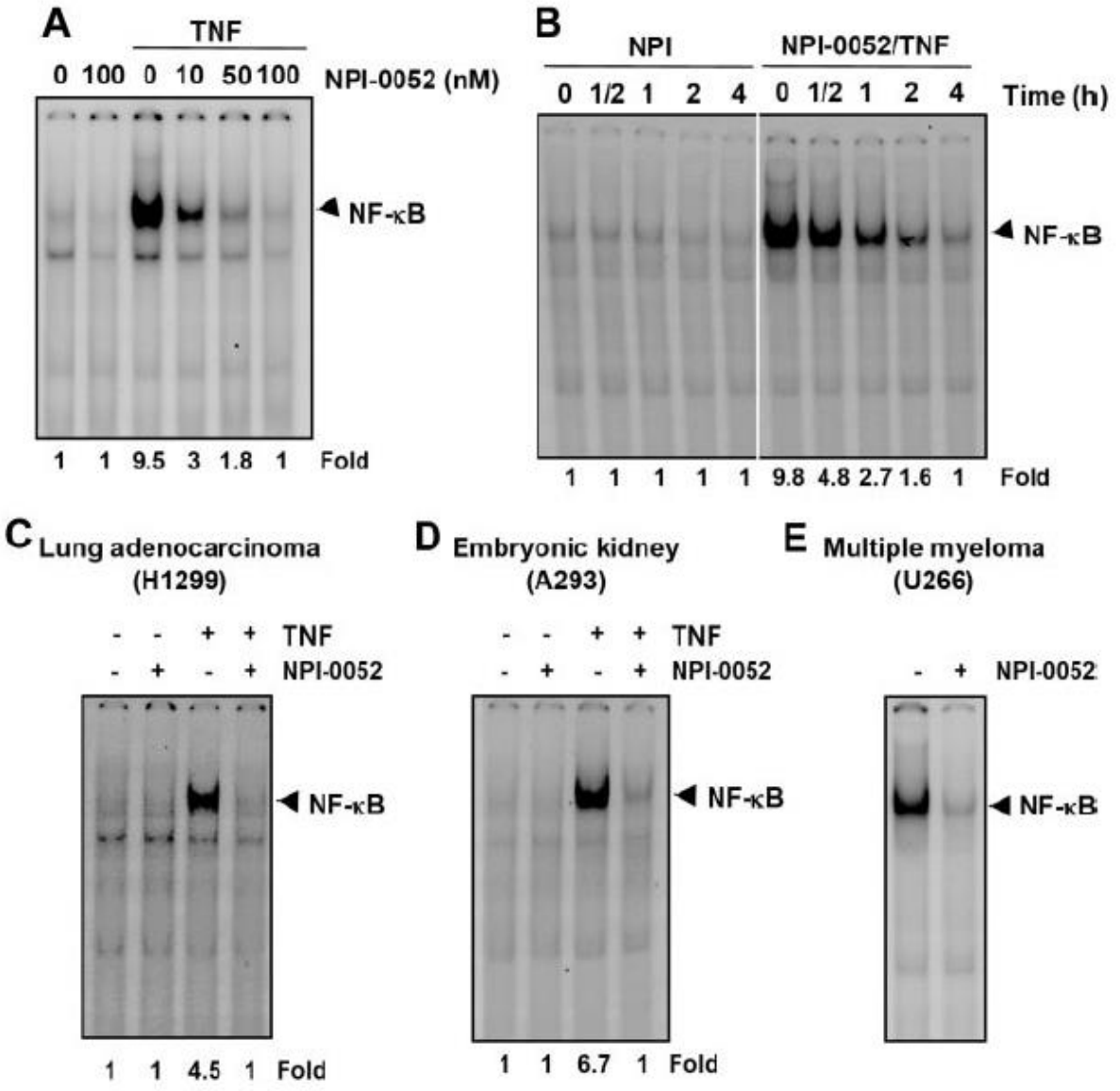


Figure26:NPI-0052 inhibe à la fois inductible et constitutif Activation de NF-B en fonction de la dose et du temps. (A) Les cellules KBM-5 ont été incubées avec les concentrations indiquées de NPI-0052 pendant 4 heures, puis exposées à 0,1 nM de TNF pendant 30 minutes. Les extraits nucléaires ont été soumis à EMSA pour évaluer l'activation de NF-B. (B) Les cellules ont été pré-incubées avec 50 nM de NPI-0052 pendant les durées indiquées, traitées avec 0,1 nM de TNF pendant 30 minutes, puis soumises à EMSA pour évaluer l'activation de NF-B. Des cellules H1299 (C) ou A293 (D) ont été prétraitées avec 50 nM de NPI-0052 pendant 4 heures puis traitées avec 0,1 nM de TNF pendant 30 minutes. Les extraits nucléaires ont ensuite été préparés et dosés pour le NF-B par l'EMSA comme décrit dans « Matériaux et méthodes ». (E) Des cellules U266 avec des cellules d'activation NF-B constitutives ont été incubées avec 50 nM de NPI-0052 pendant 12 heures. Des extraits nucléaires ont été préparés et analysés pour l'activation de NF-B par EMSA **(Ahn et *al.*, 2007)**.

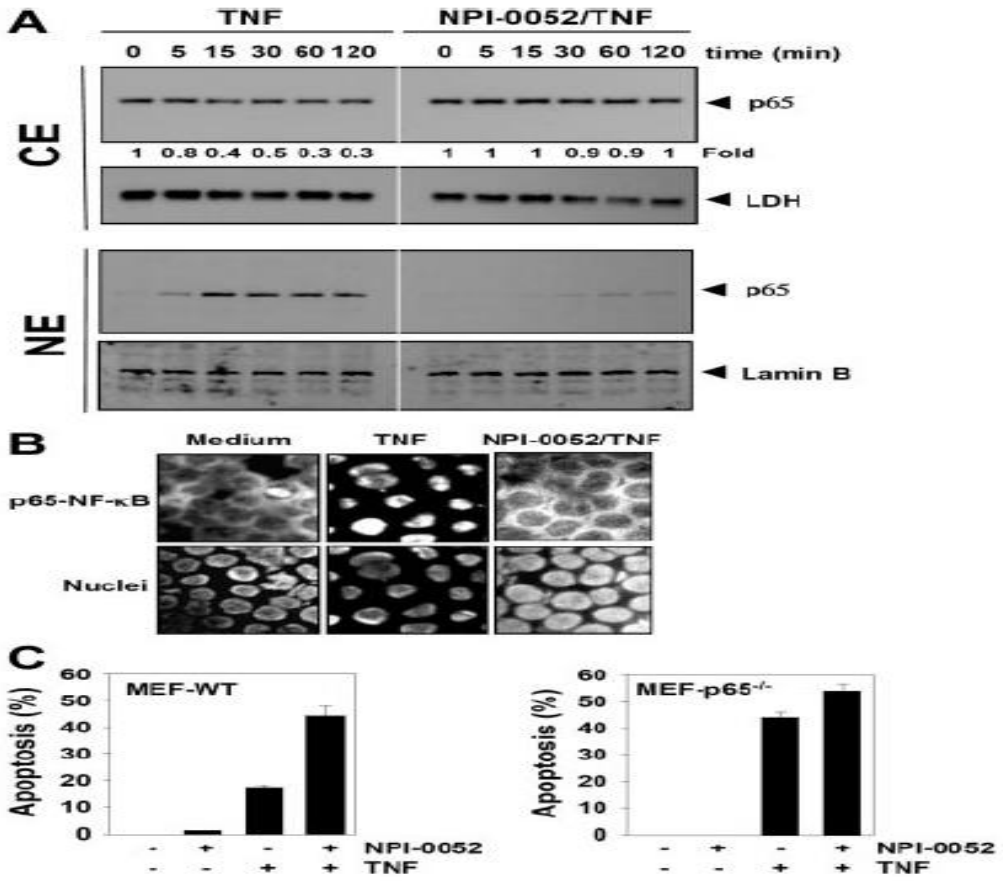


Figure 27: NPI-0052 inhibe la translocation nucléaire de p65 induite par le TNF. (A) Les cellules KBM-5 ont été incubées avec 50 nM de NPI-0052 pendant 4 heures, puis traitées avec 0,1 nM de TNF pendant les durées indiquées. Des extraits cytoplasmiques et nucléaires ont été préparés, fractionnés sur SDS-PAGE et électrotransférés sur une membrane de nitrocellulose. L'analyse a été réalisée en utilisant des anticorps p65. (B) Analyse immunocytochimique de la translocation nucléaire de p65 induite par le TNF. Les cellules KBM-5 ont été incubées avec 50 nM de NPI-0052 pendant 4 heures, traitées avec 1 nM de TNF pendant 15 minutes, puis soumises à une analyse immunocytochimique comme décrit dans « Immunolocalisation of NF-B p65 ». Les cellules plaquées avec Mounting Media (Sigma-Aldrich) ont été analysées sous un microscope à fluorescence (Lapshot-2, Nikon) équipé d'un objectif à immersion dans l'huile CFWN 10/1,5 NA et d'une caméra couleur PhotometricsCoolsnap CF (Nikon). Les images ont été acquises avec le logiciel MetaMorph 4.6.5 (Universal Imaging). (C) Les cellules de type sauvage et p65 / (105/mL) ont été prétraitées avec 50 nM de NPI-0052 pendant 4 heures puis incubées avec 1 nM de TNF pendant 16 heures. La mort cellulaire a été déterminée par le test live/dead basé sur la calcéine-AM tel que décrit dans « Test des vivants et des morts ». Les données sont pour une expérience représentative de 3 expériences indépendantes montrant des résultats similaires. Les barres d'erreur représentent l'écart-type des valeurs en triple**(Ahn et *al.*, 2007)**.

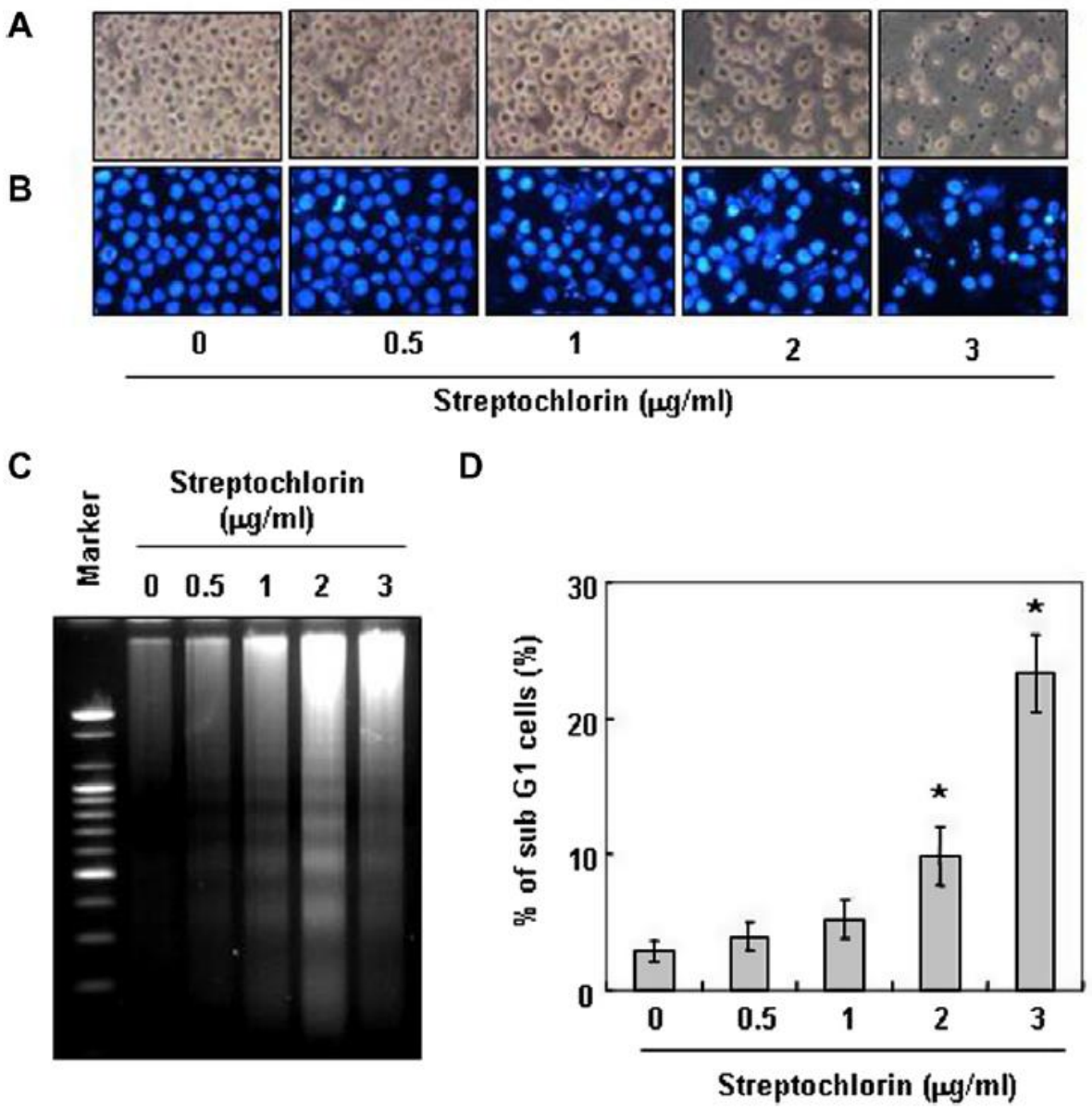


Figure 28. Induction de l'apoptose par traitement par la streptochlorine des cellules U937. Après avoir été traitées avec de la streptochlorine pendant cinq jours, les cellules ont été échantillonnées et soit examinées par microscopie inversée (A, grossissement, 200) soit fixées et colorées au DAPI afin que la morphologie nucléaire puisse être photographiée en fluorescence à l'aide d'un filtre bleu (B, grossissement, 400). (C) Pour analyser la fragmentation de l'ADN, l'ADN génomique a été extrait, soumis à une électrophorèse dans un gel d'agarose à 1,0 %, puis visualiser par coloration EtBr. (D) Pour quantifier le degré d'apoptose induite par la streptochlorine **(Park et *al.*, 2008).**

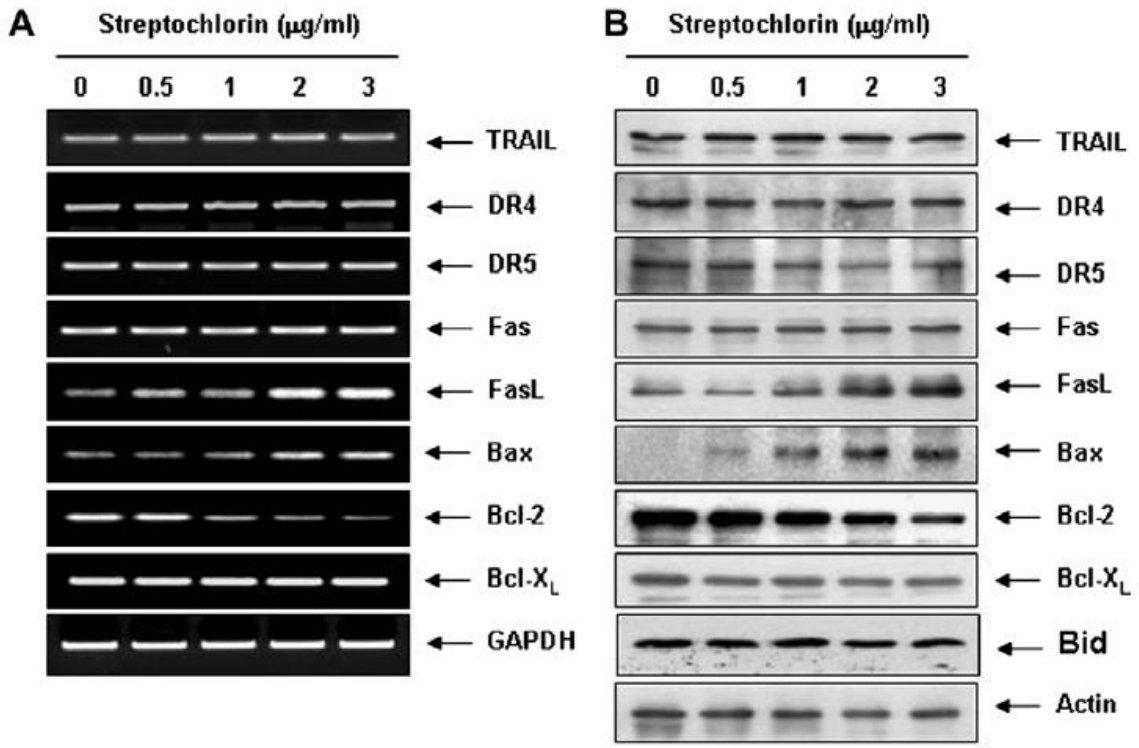


Figure29 : Effets de la streptochlorine sur les niveaux du récepteur de la mort et des membres de la famille Bcl-2 dans les cellules U937. (A) Après incubation avec de la streptochlorine pendant cinq jours, l'ARN total a été isolée et rétro-transcrite. L'ADNc résultant a été soumis à une PCR en utilisant les amorces indiquées. Les produits de la réaction ont été soumis à une électrophorèse dans un 1,0% gel d'agarose puis visualisé par coloration Et Br. GAPDH a été utilisé comme contrôle interne. (B) Les cellules ont été lysées et les protéines cellulaires ont ensuite été séparées en SDS-PAGE, après quoi ils ont été transférés sur des membranes de nitrocellulose **(Park et *al.*, 2008)**

IV.2 Mécanisme d'action des halométabolites sur une cellule cancéreuse

D'après l'analyse des résultats obtenus des études réalisées in vitro et in vivo sur l'effet de différents composés, appartenant à différentes classes d'halométabolites produits par différentes espèces d'actinobactéries, sur le cancer ; nous avons proposé un mécanisme d'action des halométabolites sur la cellule cancéreuse qui est résumé dans la figure suivante (figure30-31).

IV.2.1 La voie extrinsèque

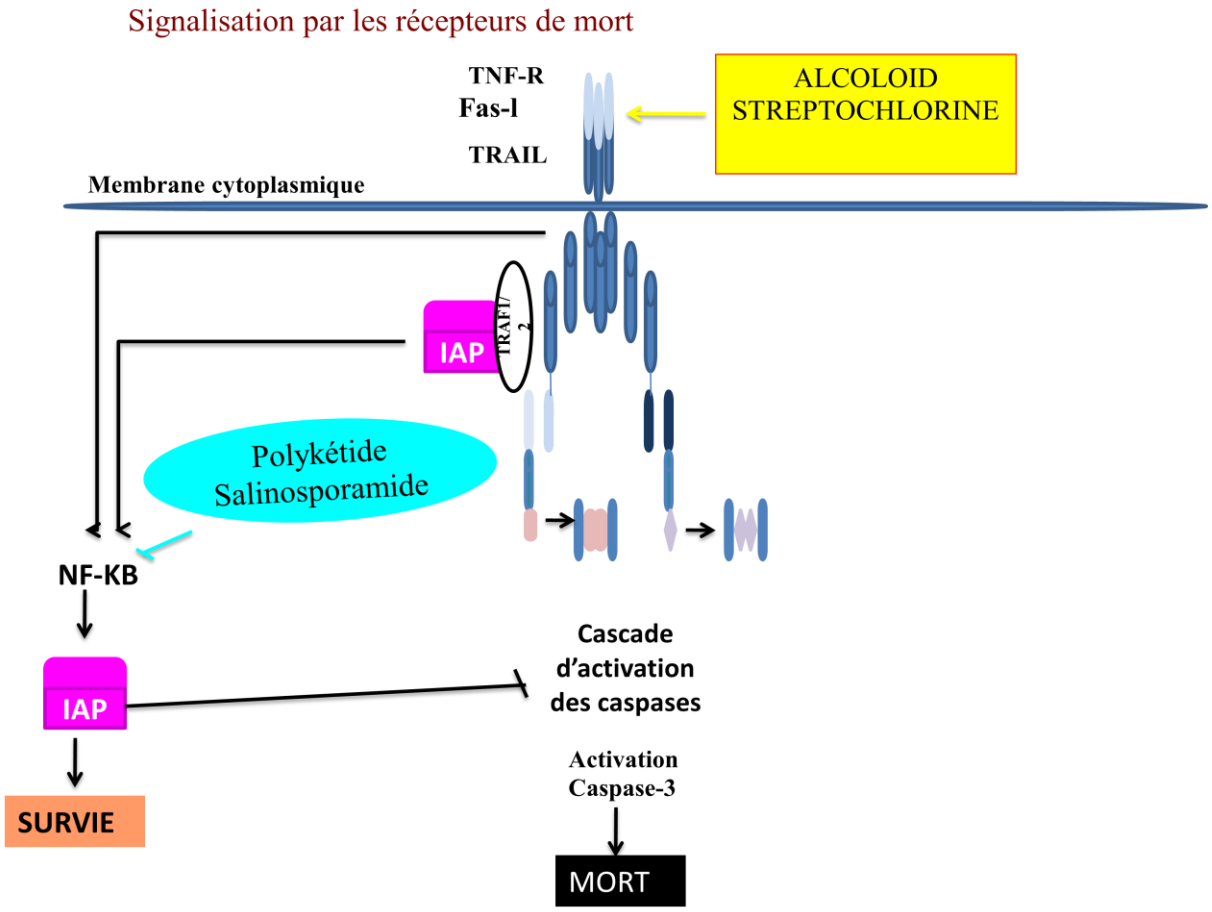


Figure30 : Schémarécapitulatif représentant les principales cibles des halométabolites sur la voie extrinsèque de l'apoptose.

IV.2.2 La voie Intrinsèque

Signalisation par la voie mitochondriale

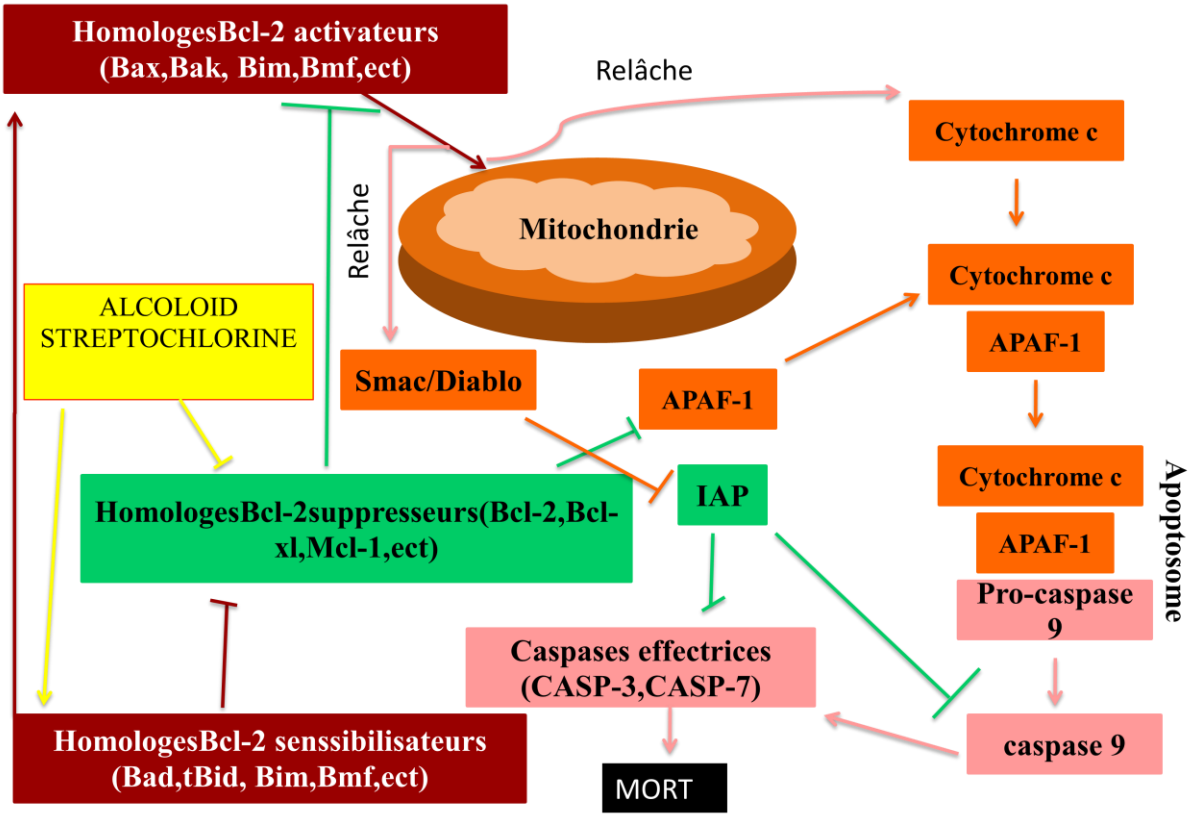


Figure 31: Schéma récapitulatif représentant les principales cibles des halométabolites sur la voie intrinsèque de l'apoptose.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Malgré les progrès actuels dans le domaine thérapeutique, le cancer demeure la principale cause de mortalité. La nécessité de la recherche de nouvelles substances pouvant combler ce problème est accrue. Les halométabolites, qui sont des substances produites par des actinomycètes, servant de source inestimable d'agents thérapeutiques et de pistes potentielles de médicaments anticancéreux.

Cette recherche bibliographique sur l'effet de différents composés, appartenant à différentes classes d'halométabolites produits par différentes espèces d'actinobactéries, sur le cancer nos a permet de conclure que les halométabolites des actinomycètes présentent un effet anticancéreux et ce par différent mécanismes :

-L'effet apoptotique pourrait être le principal mécanisme de l'activité anticancéreuse et cytotoxique des halométabolites ;

-L'arrêt du cycle cellulaire et l'inhibition l'invasion, l'angiogenèse et la métastase constituent des mécanismes d'action anticancéreuse qui ont été démontrés par plusieurs chercheurs études.

L'ensemble des résultats réalisés dans cette recherche, est considéré comme un grande espoir dans le domaine de la santé notamment dans le domaine du traitement du cancer et la limitation de son développement, il est intéressant également de trouver des nouvelles cibles ou des nouvelles molécules bioactives pour limiter la propagation et la progression des maladies cancéreuses.

On s'attend à ce que les données rapportées dans ce travail orientent le futur des médicaments anticancéreux et des pharmocologues ou les personnes qui sont intéressées par le domaine pharmaceutique.

Références Bibliographiques

Références

- **(2012).** Discovery of Marinopyrrole A (Maritoclax) as a Selective Mcl-1 Antagonist that Overcomes ABT-737 Resistance by Binding to and Targeting Mcl-1 for ProteasomalDegradation. Journal of Biological Chemistry, 287(13), 10224–10235. doi:10.1074/jbc.m111.334532 ..38.S14.
- **Ahn, K. S., Sethi, G., Chao, T.-H., Neuteboom, S. T. C., Chaturvedi, M. M., Palladino, M. A., … Aggarwal, B. B. (2007).** SalinosporamideA (NPI-0052) potentiates apoptosis, suppresses osteoclastogenesis, and inhibits invasion through down-modulation of NF- B regulated gene products. Blood, 110(7), 2286–2295. doi:10.1182/blood-2007-04-084996 .
- **Al-Dhabi, N. A., Esmail, G. A., Ghilan, A.-K. M., Arasu, M. V., Duraipandiyan, V., &Ponmurugan, K. (2019).** Chemical constituents of Streptomyces sp. strain Al-Dhabi-97 isolated from the marine region of Saudi Arabia with antibacterial and anticancer properties. Journal of Infection and Public Health. Doi: 10.1016/j.jiph.2019.09.004.
- **Alyaa Hatem Ibrahim 1, EmanZekryAttia 2, Dina Hajjar 3, Mohamed A. Anany 4,5, Armstrong, H., Bording-Jorgensen, M., Dijk, S., & Wine, E. (2018).** The Complex Interplay between Chronic Inflammation, the Microbiome, and Cancer: Understanding Disease Progression and What We Can Do to Prevent It. Cancers, 10(3), 83. doi:10.3390/cancers10030083.
- **AyoubBensakhria.(2018).**Cytotoxicité,NécroseApoptose.Chapitre11.p(94,101).https://www.researchgate.net/publication/326132039.
- **Baindara, P., & Mandal, S. M. (2020).** *Bacteria and bacterial anticancer agents as a promising alternative for cancer therapeutics . Biochimie*. doi:10.1016/j.biochi.2020.07.020.
- **Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., van Wezel, G. P. (2015).**Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria, *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80(1), 1–43.* Doi:10.1128/mmbr.00019-15.
- **-Baskaran, R., Subramanian, T., Zuo, W., Qian, J., Wu, G., & Kumar, A. (2017).** Major Source of Marine Actinobacteria and Its Biomedical Application, *Microbial Applications Vol.2, 55–82.* Doi: 10.1007/978-3-319-52669-0_3.
- **Belyagoubi, L. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens, *Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.*P.9.

- **Bidard, F.-C., & Poupon, M.-F. (2012).** Biologie du processus métastatique. Médecine/sciences, 28(1), 89–95. doi:10.1051/medsci/2012281022 .
- **C.D. Murphy.(2003).** New frontiers in biological halogenations, *Journal of Applied Microbiology* 2003, 94, 539–548.
- **C.Mongar etV.Sautou.(2016).**Cancérogenèse et maladie cancéreuse. Pharmacie Clinique Pratique en Oncologie, Pages(25,29). https://doi.org/10.1016/B978-2-294-73488-5.00004-4
- **Carlos Valverde-R, Aurea Orozco, ArturoBecerra, Michael C. Jeziorski, Patricia Villalobos, and J. Carlos Solı´s-S.(2004).** Halometabolites and Cellular Dehalogenase Systems: An Evolutionary Perspective, *International Review of Cytology*, Vol. 234 0074-7696/04 $35.00. Elsevier Inc.
- **Castanier, C., & Arnoult, D. (2010).** La dynamique mitochondriale au cours de l'apoptose. Médecine/sciences, 26(10), 830–835. doi:10.1051/medsci/20102610830.
- **Cho, J. Y., Williams, P. G., Kwon, H. C., Jensen, P. R., &Fenical, W. (2007).** Lucentamycins A−D, Cytotoxic Peptides from the Marine-Derived Actinomycete Nocardiopsislucentensis. Journal of Natural Products, 70(8), 1321–1328. doi:10.1021/np070101b .
- **Courdavault, V., Papon, N., &Clastre, M. (2019).** Vers la bioproduction de métabolites anticancéreux par les levures. Médecine/sciences, 35(5), 417–419. doi:10.1051/medsci/2019087 .
- **Creff, J., &Besson, A. (2020).** Functional Versatility of the CDK Inhibitor p57Kip2, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. Doi:10.3389/fcell.2020.584590.
- **Dimitri MOREAU. (2006).** Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer
- **Doi, K., Li, R., Sung, S.-S., Wu, H., Liu, Y., Manieri, W., … Wang, H.-G.**
- Doi:10.1128/mmbr.00005-07.
- **Dutta, S., Whicher, J. R., Hansen, D. A., Hale, W. A., Chemler, J. A., Congdon, G. R., … Skiniotis, G. (2014).** Structure of a modular polyketide synthase. Nature, 510(7506), 512–517. doi:10.1038/nature13423
- **Elmallah, M. I. Y., Cogo, S., Constantinescu, A. A., Elifio-Esposito, S., Abdelfattah, M. S., &Micheau, O. (2020)**. Marine Actinomycetes-Derived Secondary Metabolites

Overcome TRAIL-Resistance via the Intrinsic Pathway through Downregulation of Survivin and XIAP. Cells, 9(8), 1760. doi:10.3390/cells9081760.

- **Fatemeh Mohammad ipanah and Mona Dehhaghi. (2017).**Biology and Biotechnology of Actinobacteria, *Classification et Taxonomie des Actinobactérie. (51-71)* doi: 10.1007/978-3-319-60339-1 .
- **Gao, Y., Huang, D.-C., Liu, C., Song, Z.-L., Liu, J.-R., Guo, S.-K., … Zhang, M.-Z. (2021).** Streptochlorin analogues as potential antifungal agents: Design, synthesis, antifungal activity and molecular docking study. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 35, 116073. doi:10.1016/j.bmc.2021.116073
- **Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011).** Hallmarks of Cancer: The Next Generation, *Cell*, 144(5), 646–674. Doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- **Hassan, S. S. ul, Anjum, K., Abbas, S. Q., Akhter, N., Shagufta, B. I., Shah, S. A. A., &Tasneem, U. (2017).** Emerging biopharmaceuticals from marine actinobacteria. Environmental Toxicology and Pharmacology, 49, 34–47. doi:10.1016/j.etap.2016.11.015 .
- **Hassanpour, S. H., &Dehghani, M. (2017).** Review of cancer from perspective of molecular, *Journal of Cancer Research and Practice*, 4(4), 127 129. Doi:10.1016/j.jcrpr.2017.07.001.
- **Hassanpour, S. H., &Dehghani, M. (2017).** *Review of cancer from perspective of molecular. Journal of Cancer Research and Practice, 4(4), 127–129.* doi:10.1016/j.jcrpr.2017.07.001
- **Hertweck, C. (2009)**. The Biosynthetic Logic of Polyketide Diversity.AngewandteChemie International Edition, 48(26), 4688–4716. doi:10.1002/anie.200806121
- **Hotam Singh Chaudhary, BhavanaSoni, Anju RawatShrivastava, Saurabh Shrivastava. September, (2013).** Diversity and Versatility of Actinomycetes and its Role in Antibiotic Production.Applied Pharmaceutical Science Vol. 3. DOI: 10.7324 /JAPS.2013.
- **Hubert, S., &Abastado, J.-P. (2014).**Les étapes précoces du processus métastatique,Médecine/sciences, 30(4), 378–384. Doi:10.1051/medsci/20143004010 .
- **Jacotot, É. (2020).** *Inhibition des caspases. Médecine/sciences, 36(12), 1143–1154.* doi:10.1051/medsci/2020222.

- **Jeong, S.-Y., Shin, H. J., Kim, T. S., Lee, H.-S., Park, S., & Kim, H. M. (2006).** Streptokordin, a New Cytotoxic Compound of the Methylpyridine Class from a Marine-derived Streptomyces sp. KORDI-3238.The Journal of Antibiotics, 59(4), 234–.
- **Kamala, K., Sivaperumal, P., Kamath, S. M., Thilagaraj, W. R., &Rajaram, R. (2020).** Marine Actinobacteria as a Source for Emerging Biopharmaceuticals, *Encyclopedia of Marine Biotechnology, 2095–2105.* Doi:10.1002/9781119143802.ch93.
- **Kasanah, N., &Triyanto, T. (2019).** Bioactivities of Halometabolites from Marine Actinobacteria. *Biomolecules, 9(6), 225.* Doi: 10.3390/biom9060225.
- **Katarzyna Jakubiec-Krzesniak, Aleksandra Rajnisz-Mateusiak, Adam Guspiel, Joanna Ziemska, and Jolanta Solecka.(2018).**Secondary Metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties,*Pol J Microbiol*.67(3): 259–272.Doi: 10.21307/pjm-2018-048.
- **KitouniM.(2007).**Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystemesextremes .Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées ,*Thése de Doctorat en Microbiologie appliquée .Université Mentouri Constantine. Algerie* ,P.170.
- **Kwak, T. W., Shin, H. J., Jeong, Y.-I., Han, M.-E., Oh, S.-O., Kim, H.-J., … Kang, D. H. (2015).** Anticancer activity of streptochlorin, a novel antineoplastic agent, in cholangiocarcinoma. Drug Design, Development and Therapy, 2201. doi:10.2147/dddt.s80205.
- **Kwon, H. C., Espindola, A. P. D. M., Park, J.-S., Prieto-Davó, A., Rose, M., Jensen, P. R., &Fenical, W. (2010).** Nitropyrrolins A−E, Cytotoxic Farnesyl-α-nitropyrroles from a Marine-Derived Bacterium within the Actinomycete Family Streptomycetaceae. Journal of Natural Products, 73(12), 2047–2052. doi:10.1021/np1006229,
- **Le, T., Lee, E., Lee, J., Hong, A., Yim, C.-Y., Yang, I., …Fenical, W. (2019).** Saccharoquinoline, a Cytotoxic Alkaloidal Meroterpenoid from Marine-Derived Bacterium Saccharomonospora sp. Marine Drugs, 17(2), 98. doi:10.3390/md17020098 .
- **Lucas Treps, Julie Gavard.(2015)**. L'angiogenèse tumorale Quand l'arbre de vie tourne mal .médecine/sciences.
- **M.A. Coulon, J.F. Morère, S. Piperno-Neumann, A. Ladouani, V. Andriambolona,B. Driss, J.L. Breau.(1999)**. Angiologie et cancer (III). Act. Méd. Int. - Angiologie (15) n° 7).

- **Macdonald, F., e. H. J. Ford et Alan G. Casson.(2003).**Molecular biology of cancer, *Coll. «Advanced text». Oxford: BIOS Scientific.*
- **Manal Selim Mohamed Selim ,Sayeda Abdelrazek Abdelhamid , Sahar Saleh Mohamed.(2021).**Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes,*J Genet EngBiotechnol*. 2021 Dec; 19: 72. Doi: 10.1186/s43141-021-00156-9.
- **Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S.-K. (2014).** pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria, *Microbiological Research, 169(4), 262–278.* Doi:10.1016/j.micres.2013.07.014 .
- **Marie-Paule Sablin, Francesco Ricci, Delphine Loirat, Aude Jobard, Clémence Basse, Emanuela Romano, Christophe Le Tourneau, Véronique Dieras. (2017)**. Les inhibiteurs du cycle cellulaire et cancer du sein hormono dépendant, *Publié par Elsevier Masson SAS*. Tous droits réservés.http://dx.Doi.org/10.1016/j.bulcan.2016.12.005.
- **Martino, E., Casamassima, G., Castiglione, S., Cellupica, E., Pantalone, S., Papagni, F., … Collina, S. (2018)**. Vinca alkaloids and analogues as anti-cancer agents: Looking back, peering ahead. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 28(17), 2816–2826. doi:10.1016/j.bmcl.2018.06.044.
- **Mohamed HARIR. (2018).**caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'Algérie, *Thèse de Doctorat en sciences biotechnologie. Universitéd'Oran 1 Ahmed Ben Bella* .P 27 ; 28.
- **Mondal, A., Gandhi, A., Fimognari, C., Atanasov, A. G., &Bishayee, A. (2019).** Alkaloids for cancer prevention and therapy: Current progress and future perspectives. European Journal of Pharmacology, 172472. doi:10.1016/j.ejphar.2019.172472
- **Monier, B., Gettings, M., Gay, G., Mangeat, T., Schott, S., Guarner, A., & Suzanne, M. (2015).***Le dernier sursaut des cellules mourantes. Médecine/sciences*, 31(5), 475–477. doi:10.1051/medsci/20153105005.
- **Morère, Jean-François ; Bouillet, Thierry ; Zelek, Laurent. (2011)**.Le cancer pour les nuls ,*Éditions Grund. Source : Le cancer pour les nuls.*
- **Mukesh Sharma, PinkiDangi .MeenakshiChoudhary. (2014).** Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications, *International Journal of Current and Applied Sciences. ISSN: 2319-7706* Volume 3 Number 2 (2014) pp. 801-832.

- **NalânUtku.(2011).** The End of Cytotoxics?. Medical Immunology, *Charité University Hospital Berlin*. DOI: 10.17925/EOH.2011.07.04.228.
- **Park, C., Shin, H. J., Kim, G.-Y., Kwon, T. K., Nam, T.-J., Kim, S.-K., … Choi, Y. H. (2008)**. Induction of apoptosis by streptochlorin isolated from Streptomyces sp. in human leukemic U937 cells. Toxicology in Vitro, 22(6), 1573–1581. doi:10.1016/j.tiv.2008.06.010 .
- **Paula A.Oliveira,Aura ColaÇo,Raquel Chaves ,Henrique Guedes-Pinto ,Luis F.De la Cruz P. et Carlos Lopes. (2007).**Chemical carcinogenesis. Anais da Academia Brasileira de Ciências (2007) 79(4): 593-616 (Annals of the Brazilian Academy of Sciences) ISSN 0001-3765 www.scielo.br/aabc.
- **Pawar, S., Chaudhari, A., Prabha, R., Shukla, R., & Singh, D. P. (2019)**. Microbial Pyrrolnitrin: Natural Metabolite with Immense Practical Utility, *Biomolecules, 9(9), 443*. Doi: 10.3390/biom9090443.
- **Qinyuan Li, Xiu Chen, Yi Jiang and ChenglinJiang .(2016).**Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Morphological *Identification of Actinobacteria.*(61-81). http://dx.doi.org/10.5772/61461).
- **RanjaniAnandan, Dhanasekaran Dharumadurai and GopinathPonnusamyManogaran. (2016).** Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, *An Introduction to Actinobacteria*. (3-29) http://dx.doi.org/10.5772/62329.
- **Robert J. (2010)**. Les voies de contrôle de l'apoptose In Oncologie pratique, springer,*paris*.https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0028-8-19.
- **Robert Peter Gale, MD, PhD, sept. 2020.**Développement et propagation du cancer. Imperial College London.
- **Salwan, R., & Sharma, V. (2019).** Molecular and Biotechnological Aspects of Secondary Metabolites in Actinobacteria, Microbiological *Research, 126374*. Doi: 10. 1016/j.micres .2019.126374.
- **Samar YehiaDesoukey 2, Mostafa Ahmed Fouad 2, Mohamed Salah Kamel 6, Harald Wajant 4 ID ,Tobias A. M. Gulder 7,* and Usama Ramadan Abdelmohsen,(2018)**, Article New Cytotoxic Cyclic Peptide from the MarineSponge-Associated Nocardiopsis sp. UR67, marinedrugs, doi:10.3390/md16080290.
- **Shahidi, F., &Zhong, Y. (2008)**. Bioactive Peptides. Journal of AOAC INTERNATIONAL, 91(4), 914–931. doi:10.1093/jaoac/91.4.914

- **Shalini, S., Dorstyn, L., Dawar, S., & Kumar, S. (2014).** Old, new and emerging functions of caspases, *Cell Death&Differentiation*, 22(4), 526–539. Doi:10.1038/cdd.2014.216.

- **Shan, W., Zhou, Y., Liu, H., & Yu, X. (2018).** Endophytic Actinomycetes from Tea Plants (Camellia sinensis): Isolation, Abundance, Antimicrobial, and Plant-Growth-Promoting Activities. *BioMed Research International, 2018, 1–12.* Doi:10.1155/2018/1470305.
- **Shan, W., Zhou, Y., Liu, H., & Yu, X. (2018)**. *Endophytic Actinomycetes from Tea Plants (Camellia sinensis): Isolation, Abundance, Antimicrobial, and Plant-Growth-Promoting Activities. BioMed Research International, 2018, 1–12.* doi:10.1155/2018/1470305 .

- **Sherr, C. J., &Bartek, J. (2017).** Cell Cycle–Targeted Cancer Therapies, *AnnualReview of Cancer Biology,* 1(1), 41–57. Doi:10.1146/annurev-cancerbio-040716-075628.

- **Solecka, J., Zajko, J., Postek, M., &Rajnisz, A. (2012).** Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes. *Open Life Sciences, 7(3).* Doi: 10.2478/s11535-012-0036-1.
- **Soleimanpour, S., Hasanian, S. M., Avan, A., Yaghoubi, A., &Khazaei, M. (2020).** *Bacteriotherapy in gastrointestinal cancer.Life Sciences, 117754.* doi:10.1016/j.lfs.2020.117754
- **Song, Y., Yang, J., Yu, J., Li, J., Yuan, J., Wong, N.-K., &Ju, J. (2020).** Chlorinated bis-indole alkaloids from deep-sea derived Streptomyces sp. SCSIO 11791 with antibacterial and cytotoxic activities.The Journal of Antibiotics. doi:10.1038/s41429-020-0307-4 .
- **Soumya Nair and Jayanthi Abraham.(2020).** Advances in Pharmaceutical Biotechnology,*Natural Products from Actinobacteria for Drug Discovery*. Doi: 10.1007/978-981-15-2195-9-23.
- **T.R. PrashithKekuda, K.S. Shobha, R. Onkarappa.(2010).**Fascinating diversity and Potent biological activities of Actinomycete metabolites, *Dept. of Microbiology, S.R.N.M.N College of Applied Sciences, NES Campus, BalrajUrs Road, Shivamogga-577201, Karnataka, INDIA.*
- **Tan, L. T.-H., Chan, K.-G., Pusparajah, P., Yin, W.-F., Khan, T. M., Lee, L.-H., & Goh, B.-H. (2019).** Mangrove derived Streptomyces sp. MUM265 as a potential source of

antioxidant and anticolon-cancer agents. BMC Microbiology, 19(1). doi:10.1186/s12866-019-1409-7 .

- **-Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja, S. S. S., &Vijayakumar, R. (2018).** An Introductory Chapter: Secondary Metabolites, *Secondary Metabolites - Sources and Applications.* Doi:10.5772/intechopen.79766.
- **Valverde-R, C., Orozco, A., Becerra, A., Jeziorski, M. C., Villalobos, P., &Solís-S, J. C. (2004).** Halometabolites and Cellular Dehalogenase Systems: An Evolutionary Perspective, *International Review of Cytology Volume 234, 143–199.* Doi:10.1016/s0074-7696(04)34004-0 .
- **Van Pée, K.-H. (1996)**. *BIOSYNTHESIS OF HALOGENATED METABOLITES BY BACTERIA. Annual Review of Microbiology, 50(1), 375–399.*Doi:10.1146/annurev.micro.50.1.375.
- **Van Pée, K.-H. (2001).** Microbial biosynthesis of halometabolite,. *Archives of Microbiology, 175(4), 250–258.* Doi: 10.1007/s002030100263.
- **Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007).** Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum,*Microbiology and Molecular Biology Reviews, 71(3), 495 548.*
- **Vincent Lévy, Michèle Lévy-Soussan. canceologie. 1996**. (MEDLINE) - Recherche Google [Internet]. [cité 21 juin 2019]. Disponible sur:https://www.google.com/search?client=firefox-bd& q=Vincent+L%C3%A9vy%2C+Mich%C3%A8le+L%C3%A9vy-Soussan.+canceologie.+1996.+%28MEDLINE%29.
- **Wacker A, Gerhardt H. (2011).** Endothelial development taking shape. CurrOpin Cell Biol 2011 ; 23 : 676-85.
- **Wang, C.; Du,W.; Lu, H.; Lan, J.; Liang, K.; Cao, S. (2021)** A Review: Halogenated Compounds from Marine Actinomycetes, *Molecules* 2021, 26, 2754. https://doi.org/ 10.3390/molecules26092754).
- **Weichold, V., Milbredt, D., & van Pée, K.-H. (2016).** Specific Enzymatic Halogenation-From the Discovery of Halogenated Enzymes to Their Applications in Vitro and In Vivo, *AngewandteChemie International Edition, 55(22), 6374–6389.* Doi:10.1002/anie.201509573.

- **Wenna Shan,1,2 Ying Zhou,2,3 Huihui Liu,1,2 and XiaominYu.(2018).** Endophytic Actinomycetes from Tea Plants (*Camellia sinensis*): Isolation, Abundance, Antimicrobial, and Plant-Growth-Promoting Activities, *HindawiBioMed Research Internationa. Article ID* 1470305.P. 12 .https://doi.org/10.1155/2018/1470305.
- **Wink, J., Mohammadipanah, F., &Hamedi, J. (Eds.). (2017).** Biology and Biotechnology of Actinobacteria, *Classification et Taxonomie des Actinobactérie.*Doi:10.1007/978-3-319-60339-1.
- **Xu, G., & Wang, B.-G. (2016).** Independent Evolution of Six Families of Halogenating Enzymes, PLOS ONE, 11(5), e0154619. Doi:10.1371/journal.pone.0154619.
- **Xu, J., Gu, K., Zhang, D.-J., Li, Y.-G., & Tian, L. (2017).** *Ghanamycins A and B, two novel γ-butyrolactones from marine-derived streptomycesghanaensis TXC6-16. The Journal of Antibiotics, 70(6), 733–736.* doi:10.1038/ja.2017.37.
- **Zhang, S., Xie, Q., Sun, C., Tian, X.-P., Gui, C., Qin, X., …Ju, J. (2019).** Cytotoxic Kendomycins Containing the Carbacylic Ansa Scaffold from the Marine-Derived Verrucosispora sp. SCSIO 07399.Journal of Natural Products. doi:10.1021/acs.jnatprod.9b00654

Présenté par :	Encadré par :	Date de soutenance :
Fanit khadidja , **Lehneche ahlem**	**M^{eme} Azouz Wassila**	**.../09/2021**

Thème : l'implication des halométabolites des actinobactéries dans l'effet cytotoxique et anticancéreux

Résumé

Le cancer est l'une des principales causes des mortalités dans le monde. Ainsi, l'objectif principal de cette étude est de décrire la potentialité des actinobactéries et leur rôle cytotoxique et anticancéreux. Les actinobactéries sont présentes dans divers habitats écologiques tels que le sol, les milieux marins, les eaux douce et dans les milieux extrêmes. Ces bactéries sont un groupe abondant de micro-organismes qui produisent un large éventail des métabolites secondaires. Entre autre, les halométabolites, servant de source inestimable d'agents thérapeutiques et de pistes potentielles de médicaments. D'après les études de recherche sur l'effet de ces composés sur le cancer, il a été démontré que les halométabolites des actinomycètes possèdent des effets anticancéreux. L'effet apoptotique pourrait être le principal mécanisme de l'activité anticancéreuse et cytotoxique des halométabolites ; l'arrêt du cycle cellulaire et l'inhibition l'invasion, l'angiogenèse et la métastase sont d'autres mécanismes qui ont également été rapportés à plusieurs reprises.

mots clés: Cancer, halométabolites, actinobactéries , activités anticancéreux, effets cytotoxiques .

Summary

Cancer is one of the leading causes of death worldwide. Thus, the main objective of this study is to describe the potentiality of actinobacteria and their cytotoxic and anticancer role. Actinobacteria are present in various ecological habitats such as soil, marine environments, freshwater and in extreme environments. These bacteria are an abundant group of microorganisms that produce a wide range of secondary metabolites. Among other things, halometabolites, serving as an invaluable source of therapeutic agents and potential drug leads. Based on research studies on the effect of these compounds on cancer, halometabolites from actinomycetes have been shown to have anticancer effects. The apoptotic effect may be the main mechanism for the anticancer and cytotoxic activity of halometabolites; cell cycle arrest and inhibition of invasion, angiogenesis and metastasis are other mechanisms that have also been repeatedly reported.

key words: Cancer, halometabolites, actinobacteria, anticancer activities, cytotoxic effects.

ملخص

السرطان هو أحد الأسباب الرئيسية للوفاة في جميع أنحاء العالم. وبالتالي، فإن الهدف الرئيسي لهذه الدراسة هو وصف احتمالية البكتيريا الشعاعية ودورها السام للخلايا والمضاد للسرطان. توجد البكتيريا الشعاعية في العديد من الموائل البيئية مثل التربة والبيئات البحرية والمياه العذبة وفي البيئات القاسية. هذه البكتيريا هي مجموعة وفيرة من الكائنات الحية الدقيقة التي تنتج مجموعة واسعة من المستقبلات الثانوية. من بين أمور أخرى، هالوميتابوليت، التي تعمل كمصدر لا يقدر بثمن للعوامل العلاجية وأدوية محتملة. بناءً على الدراسات البحثية حول تأثير هذه المركبات على السرطان، فقد ثبت أن هالوميتابوليتيس من الفطريات الشعاعية لها تأثيرات مضادة للسرطان. قد يكون تأثير موت الخلايا المبرمج هو الآلية الرئيسية للنشاط المضاد للسرطان والنشاط السام للخلايا من هالوميتابوليت. يعتبر توقيف دورة الخلية وتثبيط الغزو وتكوين الأوعية والورم الخبيث من الآليات الأخرى التي تم الإبلاغ عنها مرارًا وتكرارًا.

الكلمات المفتاحية: السرطان، هالوميتابوليت، البكتيريا الشعاعية، الأنشطة المضادة للسرطان، التأثيرات السامة للخلايا.