

REPUBLIQUE ALGERINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET

DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



MB.05/09

Université de JJEL

01
02

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme des Etudes Supérieures en

Biologie

Option : *Microbiologie*

THEME

*Les application biotechnologiques des
chitinases microbiennes*

Membres de Jury :

- ✓ Encadreur: Dr. Boudjerda. DJ
- ✓ Examineur: Dr. Ouled Haddar. H

Réalisé par :

- ✓ Saoudi Rabia
- ✓ Bousloub Nouar
- ✓ Belguedj Mohammed
Cherif



Promotion 2009



REMERCIEMENTS

On remercie «Allah» le tout puissant pour nous avoir donné le courage et la volonté pour pouvoir réaliser ce Modeste travail.

*Nous tenons à remercier infiniment notre encadreur : Dr. Ouled Haddar. H ; qui nous a porté une aide morale et matérielle au cours de la réalisation de ce travail.

*Notre examinateur : Dr. Boudjerda. DJ d'avoir accepté d'examine Notre travail.

*A mes parents les personnes les plus chères dans mon cœur pour leur soutien moral et matériel durant Toutes mes Années d'étude que «Allah» me les gardes.

* Nos enseignants du département et à mes collègues.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
CHAPITRE I : CHITINE ET CHITOSANE	
I-1. Historique	02
I-2. Structure de la chitine et du chitosane	02
I-2-1. La chitine	02
I-2-2. Le chitosane	03
I-3. L'origine de la chitine	05
I-3-1. L'origine animale	05
A. Les crevettes	06
B. Les insectes.....	07
I-3-2. La chitine dans les mycètes	07
CHAPITRE II : LES CHITINASES	
II-1. Classification des chitinases.....	08
II-1-1. Les chitinases de la famille 18.....	08
II-1-2. Les chitinases de la famille 19.....	08
II-1-3. Les chitosanases de la famille 46.....	09
II-1-4. Les chitinases de classe I	09
II-1-5. Les chitinases de classe II	09
II-1-6. Les chitinases de classe III	09
II-1-7. Les chitinases de classe IV	09
II-1-8. Les chitinases de classe V	09
II-2. Les chitinases humains.....	09
II-3. Les propriétés physico-chimique des chitinases.....	10
II-3-1. Le poids moléculaire.....	10
II-3-2. Le point isoélectrique.....	10
II-3-3. La stabilité.....	11
II-4. Inhibiteurs et activateurs des chitinases.....	11
II-5. Effet du pH et température sur l'activités des chitinases.....	11
II-6. Mécanisme d'action des chitinases.....	13
II-7. Les essais d'activités des chitinases.....	14
II-8. Rôle des chitinases.....	14
CHAPITRE III : PRODUCTION DES CHITINASES MICROBIENNE	
III-1. Les microorganismes producteurs de chitinase	16
III-1-1. La source de carbone	17
III-1-2. La source d'azote	18
III-1-3. Les facteurs d'environnement	18
III-2. Purification des chitinases	19
CHAPITRE VI : LES APPLICATIONS DES CHITINASES MICROBIENN	
IV-1. Les applications pharmaceutiques	21
IV-2. Les applications médicales	21
IV-3. Utilisation des chitinases dans la lutte biologique	21
IV-4. Les chitinases comme cible pour des biopesticides	22
IV-5. Estimation de la biomasse fongique	22

IV-6. Formation des protoplastes	23
IV-7. Production des protéines d'origine unicellulaire	23
CONCLUSION	24

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : La structure chimique de chitine	02
Figure 02 : La structure chimique de chitosane	03
Figure 03 : Procédure générale pour l'obtention de la chitine et du chitosane	04
Figure 04 : La structure de la cuticule et de l'exosquelette d'arthropodes	05
Figure 05 : La morphologie d'une crevette	06
Figure 06 : Chitine : substrat hydrolysé totalement par les chitinases au niveau des liaisons N-Acétyle-glucosamine	13
Figure 07 : Chitosane : substrat hydrolysé partiellement par les chitinases au niveau des liaisons N-Acétyle-glucosamine	13

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : La chitine dans quelques espèces d'insectes	07
Tableau 02 : Classification des chitinases	10
Tableau 03 : Quelques caractéristiques physico-chimiques des chitinases	12
Tableau 04 : Quelques microorganismes producteurs de chitinase et leurs activités chitinolytiques	17
Tableau 05 : Quelques exemples de la production des chitinases par certains microorganismes et les conditions de la culture	20

TABLEAU DES ABRÉVIATIONS

GlcNAc	Glucose N-acetylglucosamine
Glu	Glutamate
KDa	kilo Dalton
DNS	Acide dinitrosalicylique
DMAB	Diméthylam niobenzaldehyde
POU	Protéine d'origine unicellulaire
CM	Couche mince
C	Carbone
Tpm	Tour par minute

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les enzymes sont des molécules biologiques ou par d'autre terme que leur synthèse naturelle ne peut être faite que par des cellules vivantes, parmi ces enzymes une large gamme (chitinases, cellulases, lipases, protéases et ligases ...) sont utilisées à l'échelle biotechnologique.

La chitine est un composé naturel, structurale chez de nombreux organismes : mycètes, insectes, arthropodes, et crustacés, ce composé est l'un des polysaccharides les plus répandus dans la nature après la cellulose, il est constitué d'une chaîne linéaire de groupes N-acetyl-D-glucosamine, liées entre elles par des liaisons β (1-4). La deacytation de la chitine donne une autre molécule très importante qui est le chitosane, [Oanh et al, 2007].

Les différents organismes et microorganismes produisent une large variété d'enzymes hydrolytiques spécifiques aux différents substrats. Les chitinases font partie de ces enzymes qui hydrolysent la chitine au niveau de la liaison glucosidique β (1-4) N - acétyl glucosamines. Elles sont très répandues dans la nature, on les trouve chez les bactéries, les champignons, les plantes, les invertébrés (principalement les nématodes, les insectes et les crustacés) et dans toutes les classes des vertébrés, [Perrakis et al, 1994].

Les chitinases ont attiré l'attention dans la biotechnologie car elles hydrolysent l'un des polysaccharides les plus répandus dans la nature, ces enzymes sont classées surtout en fonction de leur site d'action en deux catégories : les endochitinases et les exochitinases.

Les meilleures sources pour l'obtention des chitinases sont les microorganismes en raison de la possibilité de leur production par fermentation dans des conditions contrôlées de culture, et de leurs applications dans plusieurs domaines [Abdel-Aziz et al, 2008, Laura et al 2005].

L'objectif de notre mémoire est basé sur l'étude du rôle des chitinases microbiennes dans la biotechnologie, leur comportement et leur application. En vue d'atteindre nos objectifs, nous comptons exploiter quelques études et recherches réalisées sur des microorganismes chitinolytiques.

La première étape du travail visera à maîtriser la localisation de chitine dans différents organismes vivants, nous rechercherons ensuite à connaître les conditions optimales pour la production des enzymes chitinolytiques par des microorganismes et leurs applications biotechnologiques.

CHAPITRE I

CHAPITRE 01 : CHITINE ET CHITOSANE

I-1. Historique

La découverte de la chitine et du chitosane date du 18^e siècle, mais ce n'est que dans les années 70 que ces deux produits ont suscité un réel intérêt. La chitine et le chitosane sont des produits des transformations successives des exosquelettes (carapaces) de crustacés provenant des industries agro-alimentaires. Plus spécifiquement, le chitosane est obtenu par N-désacétylation de la chitine [Oanh et al, 2007]. La structure moléculaire de la chitine ou du chitosane consiste en un enchaînement linéaire d'unités de N-acétyl- β -D-glucosamine ou de β -D-glucosamine liées en (1 \rightarrow 4). Le radical R est un groupement acétyle dans la chitine; par traitement alcalin, on obtiendra le chitosane correspondant à la désacétylation partielle de la chitine (R= -H ou -COCH₃) [Brugnerotto et al, 2001].

I-2. Structure de la chitine et du chitosane

I-2-1. La chitine

La chitine est un des polysaccharides les plus répandus dans la nature. Elle est particulièrement présente dans les cuticules des insectes, dans les parois cellulaires de nombreuses espèces de champignons et dans les exosquelettes des crustacés ou de mollusques [Hye et al, 2000]. La chitine est constituée d'une chaîne linéaire d'unités N-acétyl-glucosamine liées entre elles par des ponts β (1,4) (figure 1). Comme la chitine n'est pas soluble dans l'eau, ses applications sont limitées. Certains dérivés de la chitine peuvent être transformés en produits solubles dans des solvants aqueux [Gogev et al, 2003]. La coordination de la synthèse de chitine et de sa dégradation exige la commande stricte des enzymes participantes pendant le développement [Hans et Lars 2003]. Elle est synthétisée par la chitine synthétase et dégradée par deux chitinases différentes; l'endochitinase et l'exochitinase [Palli et al, 1999].

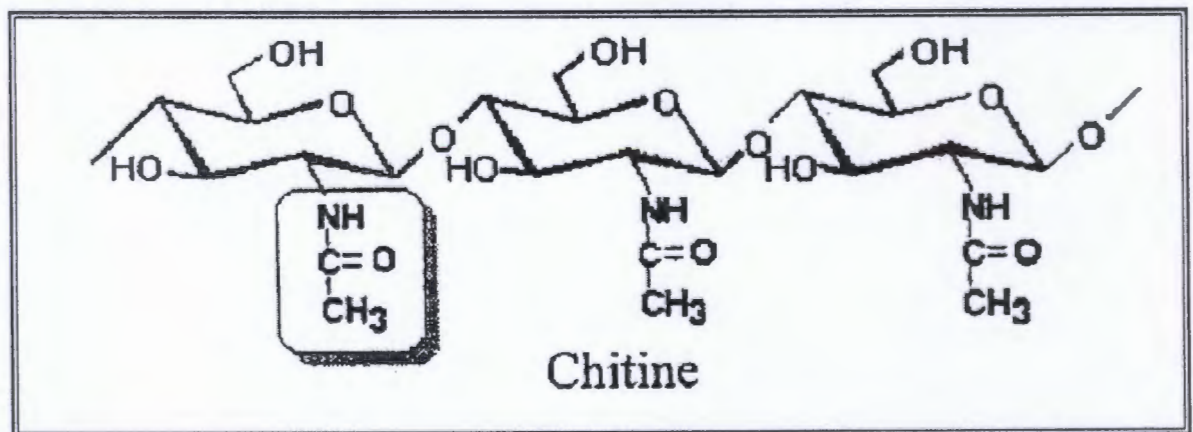


Fig.1 : Structure chimique de chitine [Oanh et al, 2007]

I-2-2. Le chitosane

Le Chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine (figure 02). Cette transformation génère des groupes amines ($-NH_2$) chargés positivement et confère aux chitosanes une nature «cationique» particulièrement intéressante en milieu acide [Gogev et al, 2003]. Le chitosane est un biopolymère polycationique non toxique biodégradable et biocompatible, soluble dans les acides organiques dilués sous forme de gel chargé positivement. Le chitosane a donc des propriétés chimiques et biologiques utilisables dans de nombreuses applications industrielles, médicales et environnementales [Oanh et al, 2007]. Comme la plupart des polysaccharides le chitosane en raison de la liaison β (1 \rightarrow 4) est un polymère semi-rigide et un bon épaississant. En particulier, la possibilité de formation de ponts hydrogène interchaînes augmente encore ses performances allant jusqu'à un comportement de type gel physique faible [Babak et al, 1999].

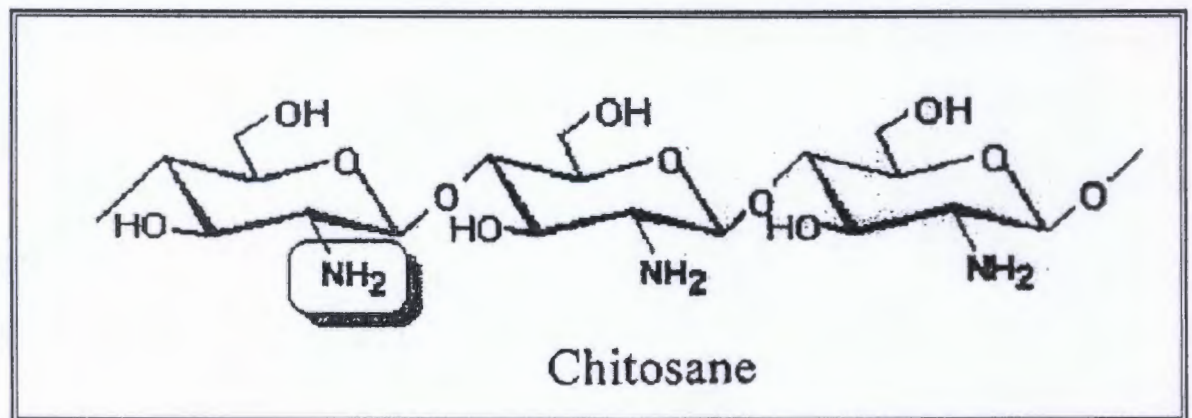


Fig.2 : Structure chimique de chitosane [Oanh et al, 2003]

Il y a d'autres dérivés de chitine, tel que le carboxyméthyl chitosane, qui diffère de la chitine en raison du remplacement du groupe acétyle par le groupe carboxyméthyl ($-CH_2COOH$) résultant en $NHCH_2COOH$ et de l'addition des chaînes alkyles courtes ($-CH_3$) et, par conséquent, devient soluble même à des pH physiologiques et légèrement basiques [Gogev et al, 2003].

L'obtention de chitine : est réalisé en 03 étapes :

Décalcification: le traitement de la cuticule par HCl dilué.

Déproteination : c'est le traitement alcalin de la cuticule par NaOH dilué.

Décoloration acide oxalique et $KMnO_4$, 0,5%

L'obtention de chitosane : à partir du traitement alcalin de la chitine par NaOH.

La figure 03 représente les étapes chimiques de l'obtention de la chitine et de chitosane à partir des sous produits de pêche.

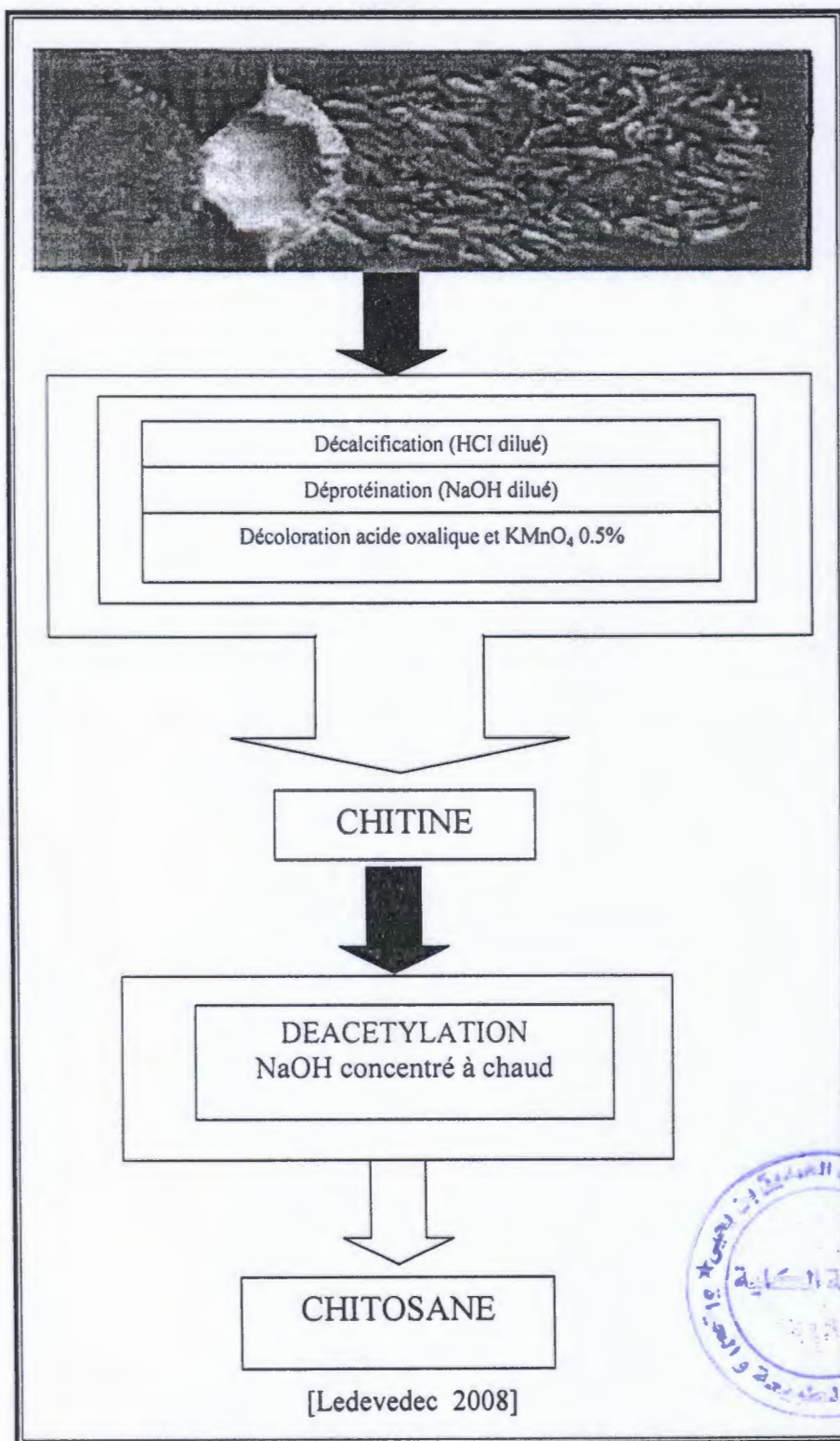


Fig.3 : Procédure générale pour l'obtention de la chitine et du chitosane.

I-3. L'origine de la chitine

I-3-1. Origine animale

La chitine se produit largement en nature, particulièrement dans les animaux inférieurs tels que des araignées, des insectes et des coléoptères et les mycètes, mais l'exosquelette des crabes, les langoustines et les crevettes sont également une source de matière première pour la production de chitine [Hans et Lars 2003].

I-3-1-1. Les arthropodes

La structure de cuticule d'arthropodes peut être considérée comme une structure de deux couches des complexes de protéine - chitine, L'exocuticule est durcie par la polymérisation des protéines avec des polyphénols et incorporée à des sels de calcium. La chitine se produit la plupart du temps dans les épithéliums intestinaux et des trachées, Dans la cuticule, la chitine est souvent associée à des protéines et à une fraction inorganique importante constituée par le carbonate et le phosphate de calcium [Brands et al, 2007].

La figure 4 représente la structure de la cuticule et de l'exosquelette d'arthropodes

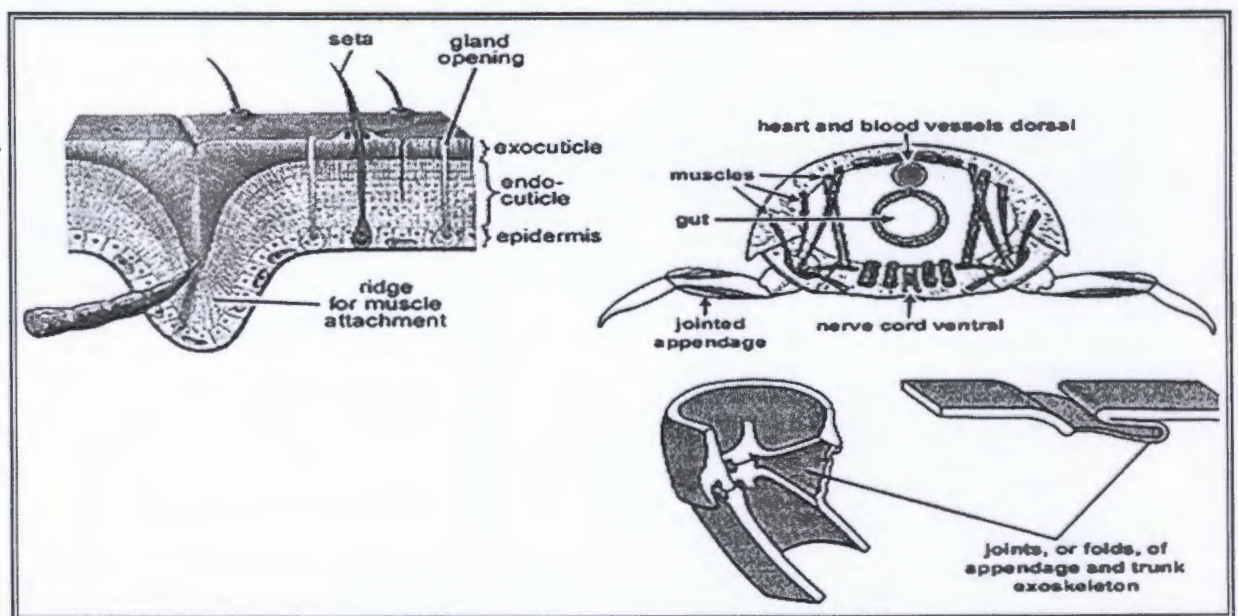


Fig. 4 : La structure de la cuticule et de l'exosquelette d'arthropodes [Brands et al, 2007]

A. les crevettes

La figure 05 représente la morphologie d'une crevette, où sont détaillées les différentes parties constituant le corps. L'exosquelette est composé en grande majorité de chitine et de carbonate de calcium. Un exosquelette ou squelette externe, par opposition à l'endosquelette, est une caractéristique anatomique externe qui supporte et protège un animal. La partie abdominale d'un exosquelette est communément appelée «carapace». [Site web 01].

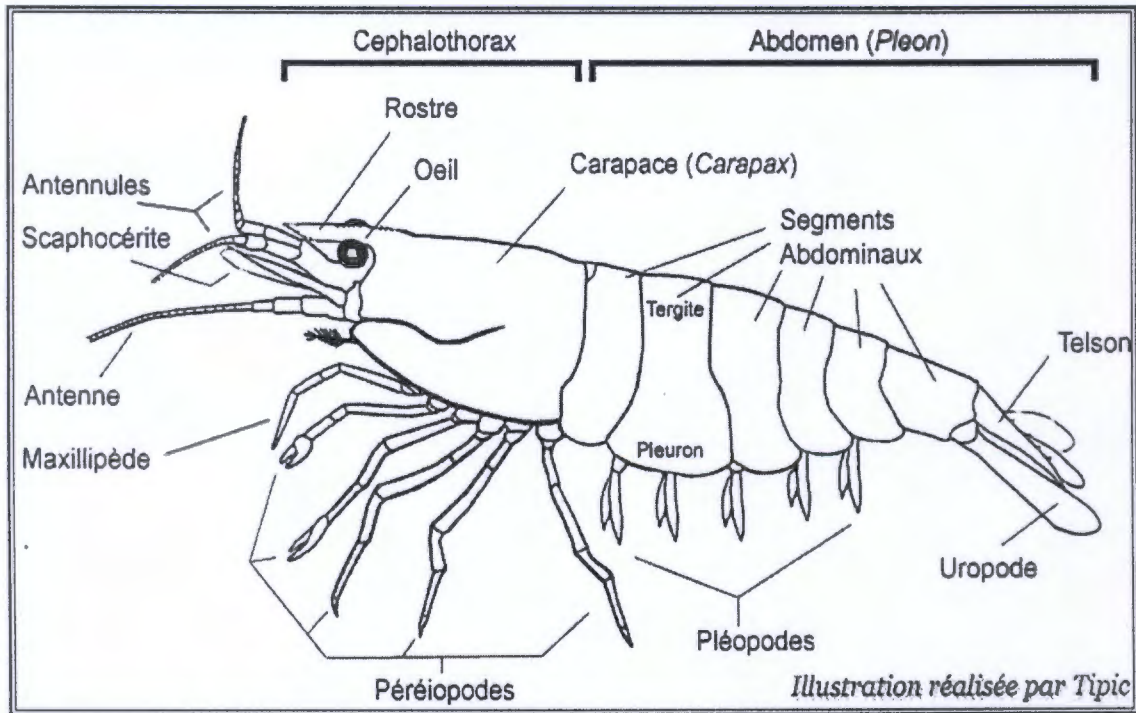


Fig.5 : Morphologie d'une crevette. [Site web 01]

B. La chitine dans les insectes

Dans le tableau suivant (tableau 1) sont représentées quelque espèce d'insectes caractérisés par la présence de la chitine au niveau de leur cuticule.

Tableau 1 : La chitine dans quelques espèces d'insectes

Espèces	Origine	Référence
1- <i>Chrysolina coerulea</i> (coléoptère chrysomélidé).	Terrestre	[Moniotte, 2005]
2- <i>Anoplius viaticus</i> (hyménoptère pompilidé)		
3-le <i>Taon.tabanus bromius</i> (deptère tabanidé)		
4- <i>Pterostichus madidus</i> (coléoptère carabidé)		

I-3-2. La chitine dans les mycètes

La chitine des mycètes possède principalement la même structure que la chitine se produisant dans d'autres organismes. Cependant, une différence importante résulte du fait que la chitine fongique est associée à d'autres polysaccharides qui ne se produisent pas dans l'exosquelette des arthropodes. En outre, l'occurrence du chitosane est apparemment limitée aux mycètes [Peter, 2005].

CHAPITRE II

CHAPITRE II : LES CHITINASES

II-1. Classification des chitinases

Parmi les enzymes impliquées dans l'hydrolyse des polymères de sucre on trouve les chitinases, les chitosanases et les lysozymes. Elles sont classées selon leurs séquences d'acides aminés en 50 familles de glycohydrolases [Henrissat et Bairoch, 1993].

Les chitinases peuvent être classées en deux catégories majeures: les endochitinases coupent la chitine au niveau des liaisons internes, ce qui donnera des polymères de GlcNAc tel que les chitotetraoses, les chitotrioses et des dimères de di-acétylchitobiose. Les exochitinases coupent la chitine progressivement à partir de la première liaison glycosidique en libérant des monomères de GlcNAc [Sahai et Manocha, 1993]. D'après la similitude des séquences d'acides aminés des différentes chitinases identifiées, 5 classes de chitinases ont été proposées et regroupées dans les deux familles de glycosyle hydrolases 18 et 19 [Henrissat et Bairoch, 1993] (Tableau 2).

II-1-1. Les chitinases de la famille 18

Les chitinases de cette famille possèdent une structure en tonneau avec 8 hélices α et 8 brins de feuillet β . Elles ont été identifiées chez les bactéries, les champignons et chez un grand nombre de plantes. La structure primaire de ces chitinases possède plusieurs motifs d'acides aminés conservés [Robertus et Monzingo, 1999].

Dans les séquences conservées de ces chitinases se trouve le site actif dans lequel est inclu un résidu **Glu (E) 171**. Ce site est crucial dans le mécanisme catalytique des chitinases. La structure tridimensionnelle (3D) des chitinases famille 18 a été déterminée chez les bactéries [Shahabuddin et al, 1994] et chez les plantes (l'enzyme hevamine) [Terwissacha et al, 1996]. Les informations obtenues à partir de la structure 3D ont permis de situer le site catalytique et le mécanisme d'action de ces chitinases. En effet, les séquences les mieux conservées se présentent sous forme de deux courts segments correspondants à deux brins β contenant le site catalytique. Plusieurs chitinases bactériennes et d'eucaryotes de cette famille 18 possèdent un domaine riche en Ser/thr qui est attaché au domaine de fixation des chitinases [Neuhaus 1999].

II-1-2. Les chitinases de la famille 19

Les chitinases de cette famille ont été identifiées principalement chez les plantes et quelques bactéries. Elles possèdent dans leur structure deux sites actifs incluant deux résidus (E) **Glu 67** et **Glu 89** importants dans le mécanisme catalytique de ces chitinases. La structure 3D d'une chitinase de l'orge de la famille 19 a été déterminée [Hart et al, 1993]. Elle est complètement différente de la structure 3D des chitinases famille 18 car elle est composée essentiellement d'hélices α [Henrissat, 1999]. L'analyse des protéines des chitinases de la famille 19 a démontré la présence de plusieurs résidus hydrophobes conservés. Ces résidus forment une large fonte dans l'enzyme qui semblerait être l'endroit du site catalytique et de fixation du substrat [Iseli et al, 1993].

II-1-3. Les chitosanases famille 46

Les glycohydrolases famille 46 forment un petit groupe qui contient seulement des chitosanases isolées à partir des *Streptomyces* NI74 - [Masson et al 1994] et de *Bacillus circulans* [Ando et al, 1992]. Les chitosanases hydrolysent la chitosane composée de 20 - 60 % de glucosamine [Venegas et al, 1996].

Les chitinases sont aussi classifiées selon leurs origines et leurs structures (Tableau3). Les chitinases de classes I, II et IV sont d'origine végétale et elles regroupent les glycohydrolases de famille 19 [Sahai et Manocha, 1993].

II-1-4. Les chitinases de classe I sont constituées d'un domaine amino - terminal riche en cystéines qui est lié par une courte région riche en glycine/proline au domaine catalytique qui est souvent suivi d'un peptide C-terminal [Perrakis et al, 1993]. Dans les cellules de plantes, le peptide de ces enzymes est essentiel pour conduire les chitinases vers les vacuoles [Neuhauss et al, 1991] .

II-1-5. Les chitinases de classe II ont été caractérisées principalement chez les plantes dicotylédones. Ces chitinases ne possèdent pas de domaine riche en cystéines, ce qui les empêche de se fixer sur les structures chitineuses. Elles sont sécrétées dans l'apoplaste [Shinshi et al, 1990].

II-1-6. Les chitinases de classe III ont été identifiées chez de nombreuses plantes et champignons [Hamel et al, 1997].

II-1-7. Les chitinases de classe IV ont été trouvées chez la plupart des plantes et sont extracellulaires. 41 - 47 % de leur séquence du domaine catalytique est identique avec celui de la classe I. Elles possèdent une région riche en cystéine qui ressemble au domaine de fixation des chitinases de classe I. Cependant les chitinases de classe IV sont de petite taille puisqu'une partie des deux domaines qui les constituent a été supprimée [Colling et al, 1993].

II-1-8. Les chitinases de classe V ont été identifiées principalement chez les bactéries, cependant une endochitinase a été isolée à partir des plantes de tabac, qui ressemble beaucoup aux chitinases de classe V [Melchers et al, 1994].

II-2. Les chitinases humaines

La digestion de chitine chez l'homme a été mise en évidence. Des chitinases ont été trouvées tout récemment dans plusieurs tissus humains et leur rôle a été associé à la défense contre des infections parasitaires et à quelques conditions allergiques [Maurizio et al, 2007].

Tableau 2: Classification des chitinases [citez par Azzouz ,2001]

Chitinases				
Classe I	Classe II	Classe IV	Classe III	Classe V
Famille 19			Famille 18	
Plantes Bactéries			Champignons Vertébrés Invertébrés	Plantes Bactéries

II-3. Propriétés physico-chimiques des chitinases

Les chitinases microbiennes ont des propriétés physico-chimiques qui varient d'un enzyme à l'autre et jouent un rôle important dans leurs activités chitinolytiques. (Tableau 3).

II-3-1. Le poids moléculaire

Les chitinases trouvées chez de nombreuses plantes et algues possèdent une masse moléculaire d'environ 30 kDa. Des chitinases de 40 à 90 kDa et même d'environ 120 kDa ont été identifiées chez les mollusques, les arthropodes et chez quelques vertébrés comme les poissons, les amphibiens et les mammifères. La masse moléculaire des chitinases isolées chez les bactéries et les champignons varie de 30 à 120 kDa [Humphreys et Gooday, 1984].

II-3-2. Le point isoélectrique (pI)

Les chitinases possèdent un pI de 3.0 à 10.0 chez les plantes supérieures et les algues. Chez les insectes, les crustacés, les mollusques et les poissons le pI est de 4.7 à 9.3. Chez les microorganismes, de 3.5 à 8.8. Toutefois, les chitinases acides et basiques sont présentes souvent dans le même organisme [Koga 1996].

II-3-3. La stabilité

Les chitinases de plantes classe III et ceux de *Bacillus licheniformis* résistent à une température élevée de 80° C [Koga 1996]. D'autres chitinases identifiées chez des insectes et des vers de soie ne sont pas très stables au-dessus de 40°C car le développement de ces insectes s'effectue à 25°C. En général, les chitinases d'insectes ne sont pas stables à de très hautes températures, car ces espèces utilisent généralement leurs chitinases pour hydrolyser leur propre chitine cuticulaire pendant la phase de mue, alors que les chitinases de plantes sont utilisées principalement pour dégrader des organismes pathogènes, [Koga et al, 1997].

II-4. Inhibiteurs et activateurs des chitinases

Un inhibiteur compétitif a une structure similaire au substrat ou à l'état de transition. Les allosamidines et leurs dérivés inhibent les chitinases de ver de soie [Koga et al, 1987], de crevette rose [Koga et al, 1990], de microorganismes tels que *Piromyces communis* [Sakurada et al, 1996], *Streptomyces sp.* [Wang et al, 1993] et *S. olivaceoviridis* [Romaguera et al, 1993]. Ils sont considérés comme les principaux inhibiteurs des chitinases d'insectes et leur structure est similaire à l'état de transition de l'hydrolyse de la chitine [Koga et al, 1987]. Récemment, des allosamidines cristallisées ont été liées à des chitinases de plantes telles que la hevamine [Terwisscha et al, 1995]. Toutefois, les allosamidines et leurs dérivés inhibent seulement les chitinases appartenant à la famille 18 et n'inhibent pas celles de la famille 19. Les chitinases, sont de manière générale, inhibées par Hg^{+2} et Ag^{+2} . En ce qui concerne le Cu^{+2} ; il existe deux possibilités, un premier groupe de chitinases est inhibé par Cu^{+2} , alors que dans un deuxième groupe, l'activité chitinolytique est plus élevée en présence de Cu^{+2} . Ce dernier groupe a été trouvé chez les poissons [Kono et al, 1990] et les microorganismes tels que *Pseudomonas aeruginosa* [Wang et al, 1997].

II-5. Effet du pH et température sur l'activité des chitinases

Pour la plupart des enzymes, il existe un pH optimal auquel l'activité enzymatique est typiquement maximale, l'activité enzymatique augmente en fonction de la température, et ce jusqu'à l'atteinte d'une température optimale.

Le *Bacillus cereus* CH sécrète des chitinases qui se retrouvent dans le surnageant lorsqu'il est cultivé dans un milieu contenant 0,2% de chitine colloïdale mais, si l'on enlève cette substance, il ne reste qu'une faible activité. Quatre chitinases, A, B1, B2 et B3 ont pu être séparées, et elles avaient des masses moléculaires de 35, 47, 58 et 64 kDa respectivement. Toutes ces chitinases présentaient un pH optimal à 5.0-7.5 et une température optimale à 50-60°C [Mabuchi et al, 2000].

Tableau 3 : Quelques caractéristiques physico-chimiques des chitinase

Source de chitinase	Enzyme (chitinase)	Température optimale	pH optimal	PM	Référence
<i>Vibrio sp.</i>	Classe 1	45°C	6.0	98 kDa	Hye et al, 2000
<i>Streptomyces sp.</i>	Extracellulaire <i>Chi62, chi48</i>	60°C	4.0	62 et 48 kDa	Nawani and Kapadnis, 2004
	Endocellulaire <i>Chi35, chi28</i>	40°C	6.0	35 et 28 kDa	
<i>Enterobacter Sp.</i>		45°C	5,5	60kDa	Dahiya et al ,2005
<i>Bacillus thuringien sis</i>	endochitinase <i>A74</i>	57,2°C	6.0	74kDa	Eleazar et al, 2002
<i>Sphingomonas sp.</i>		36°C	7.0	230 kDa	Fen Zhu et al, 2007
<i>Bacterium C4</i>	Extracellulaire	37°C	4,6	57-58.8 KDa	Yong et al, 2005

II-6. Mécanisme d'action des chitinases

Les chitinases agissent en hydrolysant la liaison β glycosidique entre les résidus GlcNAc. En général, cette hydrolyse se déroule de l'une ou de l'autre manière, l'une avec conservation anomérique dans le produit, l'autre avec une inversion anomérique.

Les figures 5 et 6 représentent les substrats (chitine et chitosane) hydrolysés par les chitinases.

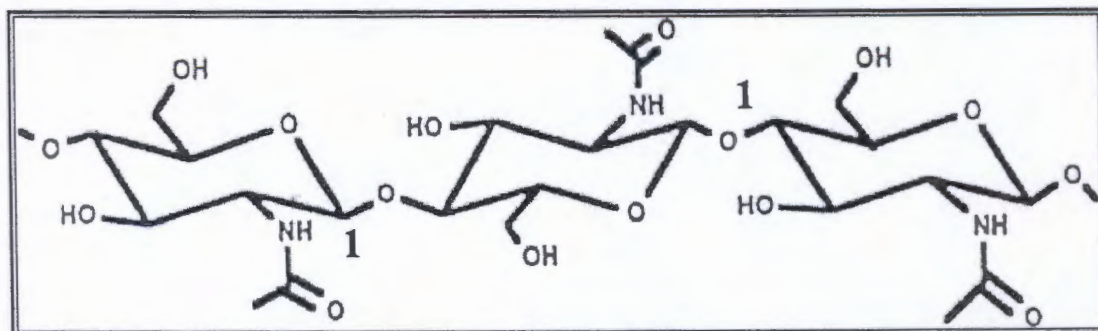


Fig.6 : Chitine: Substrat hydrolysé totalement par les chitinases au niveau des liaisons N-Acétyle- glucosamine indiquées en 1 sur ce schéma [Neuhaus, 1999].

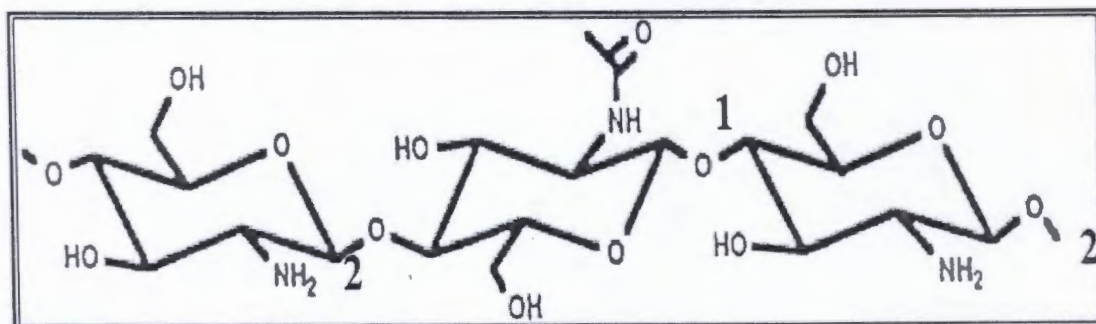


Fig.7 : chitosane : substrat hydrolysé partiellement par les chitinase au niveau des liaisons N-Acétyle-glucosamine indiquées en 1 sur ce schéma. Les liaisons indiquées en 2 sont hydrolysées par les chitosanase [Neuhaus, 1999].

II-7. Les essais de l'activité chitinolitique

L'analyse de l'activité de chitinase chez *Trichoderma harzianum* est réalisée par l'utilisation de la méthode colorimétrique, le milieu de la réaction contient 1ml de 0.5 % de chitine pur (Sigma, suspendu dans 50 ml de tampon acétate pH=5.2) et 1ml de solution d'enzyme. Le mélange de réaction est incubé à 37°C pendant 7 h avec agitation, puis arrêté par centrifugation (5000g/min) pendant 10 min et additionné de 1ml de réactif du DNS (dinitrosalicylate). La quantité des sucres réduits libérés est évaluée à partir des courbes étalons pour GLcNAc et le glucose, les activités de chitinase ont été exprimées en pkat (pmol), [El-katatny et al, 2000].

Selon Nandakumar et al, 2007, l'analyse colorimétrique de l'activité de chitinase chez *Pseudomonas fluorescens* se fait en mélangeant 10ul la solution tampon d'acétate de sodium (pH= 4) 0.1M, 0.1ml de la solution d'enzyme et de 0.1ml de la chitine colloïdale (10mg/ml), après l'incubation à 37°C pendant 2 h, la réaction est arrêtée par centrifugation à 1000g pendant 3min, une partie aliquote du surnageant est introduit dans un tube contenant 30µl de la solution tampon de phosphate de potassium (pH=7) 1M, puis incubée avec 20µl d'enzyme d'intestin d'escargot de 30% (w/v) pendant 1 h. Après 1h, le mélange de réaction a été apporté à pH 8.9 par l'addition de 70µl de solution tampon de borate de sodium (pH = 9.8), le mélange est incubé dans un bain marie pendant 3 minute puis refroidi, dans un bain de glace après l'addition de deux ml de diméthylam niobenzaldehyde (DMAB), le mélange à été de nouveau incubé à 37°C pendant 20 min. après l'incubation l'absorbance a été mesurée à 585 nm. L'activité enzymatique a été exprimée comme n mol de GlcNAc équivalente /min / ml de culture bactérienne.

II-8. Rôle des chitinases

Les chitinases représentent une partie des enzymes qui jouent un rôle important dans le développement de plusieurs espèces vivantes. Chez les bactéries, les chitinases sont produites généralement pour des raisons nutritionnelles et aussi pour hydrolyser les diverses structures chitineuses trouvées dans la nature [Arnold, et al 1996].

Les bactéries produisent la chitinase pour digérer principalement la chitine qui sera utilisée comme source de carbone et d'énergie [Perrakis et al, 1993]. Les chitinases des champignons ont plusieurs fonctions similaires aux chitinases bactériennes. Elles jouent un rôle nutritionnel et ont une activité dans le processus de développement des champignons, elles ont aussi un rôle morphogénique car la chitine est la majeure composante des parois cellulaires [Sahai et Manocha 1993].

Ces chitinases jouent aussi un rôle clé dans l'activité mycoparasitaire de l'espèce *Trichoderma* contre plusieurs plantes [Elad et al, 1982]. Les chitinases de champignons possèdent un grand nombre d'acides aminés homologues avec ceux des chitinases de plantes classe III [Limn et al, 1995].

La chitine est le deuxième polymère le plus abondant dans l'environnement marin. Des chitinases isolées de ces organismes marins sont peu homologues avec les chitinases des autres organismes. Quelques études sur le système chitinolytique de la bactérie marine *Vibrio furnissii* ont décrit, en 1996 [Keyhani et Roseman, 1996], que ce dernier utilise la chitine comme unique source d'azote et de carbone. Chez les plantes, les chitinases jouent un rôle important dans le mécanisme de défense contre les organismes qui contiennent de la chitine, tels que les champignons pathogènes [Schlein et al, 1991].

L'expression des chitinases chez les plantes se fait en réponse aux stimulations de l'environnement tel qu'une infection par des champignons [Welburn et al, 1993].

Les Chitinases jouent un rôle important dans la morphogenèse des levures et des Insectes. Kuranda et Robbins, (1991), ont rapporté le rôle des Chitinases dans la séparation de cellules pendant la croissance dans *Saccharomyces cerevisiae*, et Shimono et al, (2002), ont étudié l'expression fonctionnelle de la chitinase et de la chitosanase et leurs effets sur la morphogenèse de levure de *Schizosaccharomyces pombe*. Quand le gène *de chiA* a été exprimé chez *S.pombe*, les cellules de levures, se développent lentement et les cellules deviennent ovales, mais quand le gène *de choA* a été exprimé, les cellules se développent rapidement et deviennent grosses, donc l'expression des gènes *de chiA* et *de choA* joue un rôle principal dans la morphologie de cette levure.

CHAPITRE III

CHAPITRE III : PRODUCTION DES CHITINASES MICROBIENNES

III-1. Les microorganismes producteurs de chitinase

L'activité chitinolytique a été observée chez plusieurs microorganismes, ces microorganismes sont généralement des levures, champignons ou des bactéries, ils sont cultivés dans des milieux de culture adéquats et incubés dans des conditions favorable a la croissance (température, pH, source de carbone et source d'azote), la présence de certains éléments minéraux est parfois essentielle [Simunek et al, 2004; Laura et al, 2005].

Plusieurs bactéries montraient une activité chitinolytique, elles appartiennent généralement au genre *Aeromonas*, qui a été isolé de différentes sources [Al-Ahmadi et al, 2008].

D'autre bactéries du genre *Bacillus* produisaient des chitinases en présence de la chitine colloïdale comme source de carbone [Abdel-Aziz et al, 2008].

Des études réalisées sur *Serratia marcescens* ont montré que cette dernière possédait une enzyme chitinolytique qui est secrétée dans le milieu de culture contenant de la chitine comme source de carbone [Jesus et al, 2005].

Les bactéries appartenant au genre *Streptomyces* sont capables de produire deux types de chitinases en présence de la chitine comme source de carbone [Nawani et Kapadnis, 2003] (Tableau 4).

Comme chez les bactéries, les mycètes telques *Aspergillus carneus* produisent une grande quantité de chitinases en présence de la chitine comme source de carbone [Abdel-Naby et al, 1992] (tableau 4).

D'autres mycètes comme *Fusarium oxysporum* et *Fusarium moniliforme* et *Fusarium subglulinans* sont considérés comme des meilleures sources de chitinase quand elles sont cultivées dans des milieux favorables [Nuero, 1995] (Tableau 4).

A partir des études réalisées par Mellor et al, (1994), *Candida albicans* pouvait synthétiser la chitinase si on enrichie le milieu de culture par la chitine.

Tableau 4 : Le tableau suivant regroupe quelques microorganismes producteurs de chitinase et leurs activités chitinolytique.

microorganisme	Source	Activité	Référence
<i>Aeromonas-sp</i>	Eau	0.001-0.0066U/cm ³	Danderski et Trzebiatowska, 1999
<i>Flavobacterium sp.</i>	Eau	0.0002-0.0033 U/cm ³	
<i>Rhizopus microsporus</i> VS-9	Sol	1.25 U/ml	Nguyen et al, 2007
<i>Trichoderma atroviride</i> PTCC5220	Sol	0.1-2 U/ml	Harighi et al, 2007
<i>Bacillus licheniformis</i>	Sol	1.27 U/ml	Kamil et al, 2007
<i>Bacillus laterosporous</i> MML 2270	Sol	59.6 U/ml	Shanmugaiah et al, 2008
<i>Streptomyces sp.</i> NK 1057	-	0.022 U/ml	Nawani et Kapadnis, 2003
<i>Leacanicillium fungicola</i>	Plante	619-747 U/mg	Laura et al, 2005
<i>Asspergillus carneus</i>	-	-	Abdel-Naby, 1992
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	Nuero, 1995

III-1-1. La Source de carbone

La source de carbone est un des paramètres influçant le plus la production des chitinases, soit par induction soit par diminution de la quantité du produit, Al-Ahmadi et al, (2005) démontraient que le rendement des chitinases produits par *Aeromonas sp.* JK1, était affecté par le type de la source de carbone. La production des chitinases en présence des monosaccharides et des disaccharides comme source de carbone par *Aeromonas sp.*JK1 était inférieure à celle en présence de chitine.

D'autre part la production des chitinases par *Trichoderma harzianum* en présence de plusieurs substrats comme source de carbone (chitine, glucose, GlcNAc), était étudiée. Le meilleur rendement de cette production était obtenu lorsque la chitine était employée en combinaison avec le glucose (chitine 0.5%+glucose 0.5%) ou avec GlcNAc (chitine 0.5%+GlcNAc 0.5%) [El-Katatny et al 2000].

Suraini et al (2008) démontrait que avec *Trichoderma virens* UKM1 l'addition d'une source de carbone autre que la chitine réduit la production des chitinases sans affecter le taux de croissance. Dans la plus part des cas, la concentration en chitine dans la gamme de 1-1.5% a été trouvée pour être la plus appropriée à la production des chitinases, parmi les sources de carbone étudiée la chitine colloïdale s'est avéré la meilleure source de carbone.

Nawani et Kapadnis (2003) trouvaient que la souche de *Streptomyces sp.* NK1057 utilisait le glycérol à 20% et la chitine comme source de carbone, et que la production d'exochitinase (62 et 48 KDa) commençait après 24 h d'incubation.

Avec la chitine comme unique source de carbone, *Enterobacter* NRG4 a montré une activité chitinolytique dans le milieu de culture [Dahiya et al, 2005].

Jesus et al, (2005) indiquaient que la production des chitinases par *Serratia marcescens* était perceptible lors de l'utilisation de la solution mère de coquilles brutes de crevettes séchées dans un four à 60°C après traitement par l'eau bouillante, au lieu de la chitine comme source de carbone (Tableau 4).

III-1-2. La Source d'azote

Aeromonas sp. était capable d'utiliser plusieurs sources d'azote telles que le N₂ et le nitrate d'ammonium qui semblent donner un maximum de production de la chitinase [Al-Ahmadi et al, 2008].

El-katatny et al, 2000 ont étudié l'effet de la source d'azote sur la production de la chitinase par la souche *Trichoderma harzianum* et ils ont trouvé que cette souche est capable d'utiliser des sources d'azote variables (organiques et inorganiques), telles que les nitrate d'ammonium, l'urée, le peptone, le maximum de production était obtenue en présence de nitrate d'ammonium.

Le changement de la source d'azote dans le milieu de la production de chitinase affectait le rendement en chitinases (exo et endochitinase) et l'utilisation de l'extrait de levure comme source d'azote donne un rendement plus élevé. Le sulfate d'ammonium semble être la meilleure source d'azote utilisée par *Streptomyces sp.* NK1057 [Nawani et al 2004].

Dans une autre étude, la production de la chitinase par *Trichoderma virens* UKM1, a été réalisée en présence d'acide dinitrosalicylique (DNS) comme seule source d'azote dans le milieu de culture [Suraini et al 2008].

De l'autre côté, chez *Enterobacter sp.* NRG4 l'utilisation de 0.5% de peptone comme seule source d'azote en combinaison avec l'extrait de levure donne un rendement plus élevé de la chitinase d'environ environ de 176 U/mg [Dahiya et al 2005].

Dans le même objectif, *Serratia marcescens* WF avait utilisé le citrate d'ammonium comme seule source d'azote pour la production de la chitinase [Jesus et al, 2005] (Tableau 4).

III-1-3. Les facteurs d'environnement

Le pH du milieu est l'un des paramètres cruciaux pour le déroulement du processus de production, sachant que le pH optimal de la croissance du microorganisme n'est pas forcément égal au pH optimal de la production, et au pH optimal de l'activité enzymatique. et chaque variation dans cette valeur du pH aboutit à une variation du processus.

Chez *Aeromonas sp.*, le pH du milieu joue un rôle important dans le processus de production et il est compris entre 5 à 8. [Al-Ahmadi et al 2008]. Chez *Trichoderma harzianum* l'effet du pH sur la production de la chitinase est lié avec la variation de pH initial du milieu [El-Katatny et al 2000].

La température du milieu joue un rôle important dans le processus de production des chitinases et aussi dans l'activité chitinolytique sachant que la température optimale

nécessaire pour la croissance du microorganisme est différente de celle de la production d'enzyme chitinolytique. Mais cette la température varie d'une espèce à l'autre.

Chez *Aeromonas sp.* la température nécessaire pour produire la chitinase est comprise entre 25°C et 37°C [Al-Ahmadi et al 2008], Avec le même paramètre, une température de 25°C conduit à une bonne production des chitinase chez *Trichoderma atroviride* PTCC5220, [Harighi et al ,2007].

Il y a d'autres facteurs pouvant influencer le processus de production des chitinases chez les microorganismes tel que la vitesse d'agitation et la présence des composés organiques et inorganiques dans le milieu de culture. Par exemple Chez *Streptomyces sp.* NK1057, le milieu doit contenir un extrait de levure 0.12g/l, 0.5g/l MgSO₄, 0.3g/l KH₂PO₄, 0.3g/l (NH₄)₂SO₄, 0.4g/l FeSO₄, 0.003g/l ZnSO₄, et 0.003g/l MnCl₂. Pour obtenir une bonne production de la chitinase (pH=7.8), T°=35°C avec agitation à 150 tpm, [Nawani et kapadnis2003].

III-2. Purification des chitinases

La purification des chitinases dépend principalement de leur charge ionique. Les techniques les plus utilisées sont des purifications par la chromatographie d'échange ionique sur sephadex DEAE, chromatographie de filtration sur gel sephadex G200 et par la précipitation au sulfate d'ammonium (30-75%) avec centrifugation [Dahiya et al, 2005 ; Yong et al, 2005].

La chitinase de *Bacterium C4* a également été purifiée par chromatographie d'échange ionique sur sufadex DEAE A-50 dans des colonnes (2x20cm).L'enzyme a été élue avec un gradient linéaire de 0.1 à 0.2 ml-1 NaCl, l'éluat était précipité avec le PEG suivi par une dialyse contre un tampon d'acétate de sodium (pH=4.6) contenant 0.1 ml -1 NaCl [Yong et al 2005].

La chitinase brute de *Trichodarma atroviride* PTCC5220 a été purifiée par chromatographie sur CM sufadex dans une colonne échangeuse de cation (2x25cm). après lavage la protéine absorbée a été éluee avec le gradient linéaire de 0.0-0.5 M de NaCl dans le même tampon. [Harighi et al, 2007].

Une chitinase (EC 3.2.1.14) a été isolée d'un filtrat de culture de *Fusarium chlamydosporum* et purifiée par chromatographie échangeuse d'ions et filtration sur gel. D'après l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS, la masse moléculaire de la chitinase purifiée était de 40 kDa [Mathivanan et al, 1998].

Tableau 5: quelques exemples de la production des chitinases par certains microorganismes et les conditions de la culture

microorganisme	Source de carbone	Source d'azote	pH	T°C	remarque	Référence
<i>Aeromonas sp.</i>	-Monosaccharide -Disaccharide -chitine	-Nitrogène (N ₂) -Nitrate - d'ammonium (NH ₄ NO ₃)	8	30°C	-agitation : 150tpm -Période d'incubation 48 h -présence des éléments : Mg ⁺² , Mn ⁺²	Al-Ahmadi et el, 2005
<i>Trichoderma harzianum</i>	-chitine+glucose -chitine+GlcNAc	-Nitrate d'ammonium -Urée -Peptone	6	20-45°C	-Période d'incubation 5 jours -Présence des éléments : MgSO ₄ ,KH ₂ PO ₄ , Kcl , FeSO ₄ .	El-katatny et al 2000
<i>Streptomyces sp.</i> NK 1057	-Glycérol -Chitine	-(NH ₄) ₂ SO ₄ + l'extrait de levure	7	37°C	-présence des élément : MgSO ₄ , ZnSO ₄ , KH ₂ pO ₄ , Mn Cl ₂ -agitation : 150tpm	Nawani et Kapadnic 2004
<i>Trichoderma virens</i> UKM1	-Chitine colloidal	-3-5 dinitrosalicylique (DNS)	5.5	30°C	-présence des élément : MgSO ₄ , CaCl ₂ , KH ₂ pO ₄ - agitation : 150tpm	Surani et al, 2008
<i>Enterobacter sp.</i> NRG4	-Chitine	-Peptone+l'extrait de levure	8	30°C	-Période d'incubation 72 h -agitation : 150tpm -Présence des éléments : KH ₂ pO ₄	Dahiya et al ,2005
<i>Serratia marcescens</i> WF	-Chitine	-Citrate d'ammonium	6-8	28-37°C	-Période d'incubation 24-72h - agitation : 180 tpm -présence des éléments : MgSO ₄ Na ₂ CO ₃ , KH ₂ PO ₄	Jesús et al, 2005
<i>Bactirium</i> C4	-Chitine colloidal	-Peptone -KNO ₃	5.8	28°C	-présence des éléments : MgSO ₄	Yong et al, 2005
<i>Trichoderma atraviride</i> PTCC5220	-Glucose -Chitine colloidal	-NaNO ₃	-	25°C	-Période d'incubation 96 h -agitation : 100tpm -présence des élément : FeSO ₄	Harighi et al, 2007

CHAPITRE IV

CHAPITRE IV : LES APPLICATIONS DES CHITINASES MICROBIENNES

IV-1. Les applications pharmaceutiques

Les chitinases ont une large gamme d'applications biotechnologiques telles que la préparation des chitooligosaccharides et de N-acétyl-D-glucosamine qui sont des éléments importants entrant dans les préparations pharmaceutiques à application locale (crèmes...) [Al-ahmadi et al, 2008].

Les combinaisons spécifiques des enzymes chitinolytiques de *Serratia marcescens* seraient nécessaires pour obtenir ces oligomères. Par exemple, la production des chitooligosaccharides exige des niveaux élevés de l'endochitinase et des niveaux bas du N-acétyl-glucosaminidase et de l'exochitinase, tandis que la production de GlcNAc exige une proportion plus élevée d'exochitinase et de N-acétylglucosaminidase [Aloise et al, 1996].

L'activité de transglycosylation d'une variété d'endochitinases et de N-acétylglucosaminidases est également utile. La réaction de transglycosylation, de la glucosaminidase, d'endochitinase de *Mucor hemalis* ont été employées pour la préparation des dérivés de sucre modifiés à C1 ou C2 pour la synthèse des glycopeptides [Yamanoi et al, 2004].

Des chitinases brutes du *Cepacia TU09* et de *Bacillus licheniformis SK-1* ont été employées pour l'hydrolyse de la chitine des coquilles de crabes et de chitine de calmar pour produire GlcNAc [Pichyangkura et al, 2002].

IV-2. Les applications médicales

Les Chitinases peuvent être utilisées dans le secteur de la santé humaine, elles rentrent dans les préparations ophtalmiques en association avec des biocides microbiologiques. Une utilisation médicale directe a été suggérée pour des chitinases dans la thérapie pour les maladies fongiques en renforçant l'activité des drogues antifongiques [Pope et Davis 1979]. Quelques chitooligosaccharides comme le chitohexaose et le chitoheptaose ont montré une activité antitumorale. Une chitinase de *Vibrio alginolyticus* a été employée pour la production du chitopentaose et du chitotriose à partir de la chitine colloïdale. [Muraio et al 1992].

IV-3. Utilisation des chitinase dans la lutte biologique

Les Chitinases ont été impliquées dans la résistance des plantes contre les microbes pathogènes fongiques, en raison de leur nature inductible et de leurs activités antifongiques *in vitro* [Taira et al. 2002].

Le rôle direct de l'activité chitinolytique sur la protection des cultures a été confirmé par des tests *in vitro* avec une chitinase bactérienne produite par *Serratia marcescens* incorporée dans un milieu artificiel à des concentrations variant de 1 à 500 ng/ml les chercheurs ont conclu que la culture de *Solanum tuberosum* est mieux protégée en présence d'une concentration de 275ng/ml en chitinase microbienne [Saguez et al, 2005].

Les chitinases dans les mycètes ont des rôles autolytiques, alimentaires, et morphogénétiques. Dans les virus, des chitinases sont impliqués dans la pathogénie [Patil et al. 2000], et dans les bactéries les chitinases jouent un rôle dans la nutrition et

le parasitisme, de plus ces chitinases peuvent être employées pour la production des chitoooligosaccharides qui sont considérés comme des agents antimicrobiens [Wen et al. 2002].

Une des premières applications biotechnologiques des chitinases produits par *Serratia marcescens* concerne leur utilisation dans la lutte contre les microbes phytopathogènes [Bruberg et al, 2000].

Le champignon compétiteur *Trichoderma aggressivum* provoque la maladie de la moisissure verte, un problème potentiellement dévastateur pour le champignon commercial *Agaricus bisporus*. *Agaricus bisporus* produit un chitinase de masse moléculaire apparente de 96 kDa. Cette enzyme pourrait avoir un rôle dans la résistance des souches commerciales brunes à la maladie de la moisissure verte. Et d'autre part *Trichoderma aggressivum* produit un chitinase de masse moléculaire de 122 kDa, cette dernière a démontré l'activité la plus élevée et pourrait représenter un important facteur de prédiction de l'activité antifongique [Jennifer et al, 2006].

En ce qui concerne les insectes, l'activité chitinolytique joue un rôle important dans le développement des *aphides*, Rahbe et Febvay, (1993) ont rapporté des effets aphicide mineurs d'une chitinase bactérienne testée *in vitro*. Dans le même sens, Broadway et al, (1998), ont montré que l'utilisation de forte concentration de chitinase bactérienne pouvait affecter la survie des pucerons. Aussi l'endochitinase de *Bacillus thuringiensis* est utilisée comme un agent pesticide [Park et al, 2006].

IV-4. Les Chitinases comme cible pour des biopesticides

La chitine est présente dans l'exosquelette des insectes. La chitinase muante a été décrite chez *Bombyx mori* (ver à soie), et *Manduca sexta* (hawkmoth de tabac), et de plusieurs autres espèces. De même, des chitinases ont été impliquées dans différents événements morphologiques chez les mycètes [Villagomez-Castro et Lopez-Romero, 1996]. L'Allosamidine est un inhibiteur efficace de chitinase, il s'est avéré inhibiteur à la croissance des acarides (*Tetranychus urticae*) et d'une larve de mouche domestique (*Musca Domestica*) après ingestion [Sakuda et al, 1987]. Des inhibiteurs de chitinase peuvent être explorés en tant que biopesticides potentiels.

IV-5. Estimation de la biomasse fongique

Une série de méthodes ont été décrites pour mesurer des mycètes dans le sol. Les techniques regroupent l'extraction et l'observation microscopiques directes de molécules indicatrices spécifiques des mycètes telles que l'ergostérol glucosamine. Une corrélation forte a été rapportée entre l'activité de chitinase et la population fongique dans les sols. Une telle corrélation n'a pas été trouvée pour les bactéries et les actinomycètes. Ainsi, l'activité de chitinase semble être un indicateur approprié des mycètes actives dans le sol. Miller et al, (1998) ont rapporté la corrélation entre l'activité de chitinase avec le contenu en molécules indicatrices spécifiques des mycètes. De même, les chitinases et les chitines- protéines peuvent être employés pour la détection des infections fongiques chez l'homme [Laine et Lo, 1996].

IV-6. Formation des protoplastes

L'enzyme chitinolytique est essentielle pour la formation des protoplastes à partir des mycètes, [Dahiya et al, 2005]. Al-Ahmadi et al, (2008), ont rapporté l'efficacité de la chitinase d'*Enterobacter sp. NRG 4* dans la génération de protoplastes des champignons suivants: *Trichoderma reesei*, *Pleurotus florida*, *Agaricus bisporus*, et *Aspergillus niger*. et ils ont conclu que le nombre de protoplastes générés en présence de la chitinase est supérieur de celui obtenu en son absence.

IV-7. Production des protéines d'origine unicellulaires (POU)

Les déchets solides des mollusques et crustacés se composent principalement de chitine, CaCO₃, et protéine. Revah-Moiseev et Carrod (1981) ont proposé l'utilisation de ces déchets pour la bioconversion de la chitine en protéine unicellulaire de levure (POU) en utilisant les enzymes chitinolytiques. Ils ont employé la chitinase de *S.marcescens* pour hydrolyser la chitine et *Pichia kudriavazevii* pour produire les POU (avec un taux de protéine de 45% et 8-11% d'acides nucléiques). Les mycètes utilisés généralement comme source de POU sont polymorphes, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, et *Myrothecium verrucaria*. Vyas et Deshpande (1991) ont utilisé l'enzyme chitinolytique de *S. cerevisiae* pour la production de POU. Ils ont rapporté que la teneur en protéines totales est 61%, avec un contenu très faible en acides nucléiques (3.1%). Cody et al, (1990) ont suggéré la conversion enzymatique de la chitine en éthanol. Les critères employés pour évaluer la production de POU sont le rendement de croissance, protéines totales, et teneurs en acide nucléique. La teneur en protéines dans les fermentations utilisées était entre 39 et 73%, considérant que les teneurs en acide nucléique étaient 1-11%. Le meilleur rapport était celui de *S. cerevisiae*, qui a montré que le teneur en protéine est supérieur à 60% et 1-3% teneurs en acide nucléique.

CONCLUSION

CONCLUSION

La chitine et un composé naturel qui appartient à la famille des polysaccharides les plus répandus dans la nature, elle est constituée par des unités N-acetylglucosamine liées entre elles par des liaisons β (1-4), elle représente avec le chitosane des substrats de la chitinase.

Plusieurs microorganismes (champignons, levures, bactéries), plantes et même l'Homme sont capables de produire des enzymes chitinolytiques. Ces chitinases peuvent être classées en deux catégories majeures, les endochitinases qui agissent aux niveaux des liaisons internes et des exochitinases qui coupent la chitin à partir de la première liaison glucosidique.

Les études scientifiques ont beaucoup contribué à mieux connaître les processus biologiques de la production des chitinases par des microorganismes de différentes sources d'isolement, ainsi que les paramètres physicochimiques influençant la production.

Les chitinases deviennent de plus en plus importantes dans le développement biologique durable, elles permettent d'éviter les conditions extrêmes des réactions chimiques, elles ont déjà trouvé des applications biotechnologiques au niveau industriel, agricole, pharmaceutique, et même comme outil en génie génétique. De plus les chitinases ont des avantages économiques car ils permettent d'obtenir des substances bénéfiques à partir des déchets des crustacés et aussi des avantages écologiques puisque ils protègent les plantes contre les parasites pathogènes.

BIBLIOGRAPHIE

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdel-Naby M.A., El-Shayeb Nefisa M.A. et Sherief A.A. (1992). Purification and some properties of chitinase from *Aspergillus carneus*. Appl. Biochem. Biotechnol. 10:141-154.
- Al Ahmadi J.K., Tabatabaei Y.M., Fathi N.M., Shahverdi A.R., Faramarzi.M.A, Zarrini G. et Behravan J. (2008). Optimization of médium and Cultivation Conditions for Chitinase Production by the Newly Isolated: *Aeromonas* sp. Biotechnol. 7 (2): 266-272.
- Aloise P.A., lumme M et Haynes C.A. 1996. N-acetyl glucosamine production from chitin waste using chitinase from *Serratia marcescens* in: Muzzareli RAA chitin enzymology.2.Eur. Chitin. Soc. Grottamare. 581-594.
- Ando A., Noguchi K., Yanagi M., Shinoyama H., Kagawa Y., Hirata H., Yabuki M. et Fujii T. (1992). Primary structure of chitosanase produced by *Bacillus circulans*. MH-K. J. Gen. Microbiol. 138: 135 - 144.
- Arnold K., Venegas A., Houseweart C. et Fuhrman J.A. (1996). Discrete transcripts encode multiple chitinase isoforms in brugian microfilariae. Mol. Biochem. Parasitol. 80: 149-158.
- Citer par Azzouz F. et encadrer par Betschart MM. B. (2001). Identification moléculaire d'une chitinase CHT-1, sa localisation et son rôle chez le nemathode *Caenorhabditis elegans*. Thèse de Diplômé de L'U.S.T.R.B. Alger.
- Brands C., Eshuis T., Geerlings A. et Vansteenbergen T. (2007). Association imagine.how does a profitable chitin factory help Cambodias development. (www.francechitine.com).
- Babak V., Lukina I., Vikhoreva G. et Desbrieres R.J. (1999). Interfacial properties of dynamic association between chitin derivatives and surfactants. Colloid surf. A-physicochem. Eng. Asp. 147, 139-148.
- Brurberg M.B., Synstad B., Klemsdal S.S., Van Aalten D.M.F., Sundheim L. et Eijsink V.G.H. (2000). Chitinases from *Serratia marcescens*. Rev. Microbiol 5: 187-204.
- Broadway R.M., Gongora C., Kain W.C., Sanderson J.P., Monroy J.A., Bennett K.C., Warner J.B. et Hoffmann M.P. (1998). Novel chitinolytic enzymes with biological activity against herbivorous insect. J. Chem. Ecol. 14: 985-998.
- Brugnerotto J., desbrières J., mazeau K. et Rinaudo M. (2001). Overview on structural characterization of chitosan molecules in relation with their behavior in solution. Macromol. Symp. 168, 1-20.
- Cody R.M., Davis N.D., Lin J. et Shaw D. (1990). Screening micro-organisms for chitin hydrolysis and purification from aminosurars. Biomass 21: 285-295.

- Colling D.B., Kragh K.M., Mikkelsen J.D., Neilsen K.K.R. et Vad K. (1993). Plant chitinases. *Plant J.* 3: 31 - 40.
- Danderski W. et Trzebiatowska M. (1999). Influence of physical and chemical factors on The Activity of Chitinases Produced by Planktonic Bacteria from Jeziorak Lake. *Pol. J. Environ. Studies.* 9 (2): 77-82.
- Elad Y., Chet I. et Henis Y. (1982). Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.* 28: 719 - 725.
- Elango N.A., Correa J.U. et Cabib E. (1981). Secretory character of yeast chitinase. *J. Biological. Chem.* 257:1398-1400.
- El-Katatny M.H., Somitsch W., Robra.K.H., El-Katatny M.S. et Gubitzi G.M. (2000). Production of chitinase and β -1,3 glucanase by *Trichodemra harzianum* for control of phytopathogenic fungus. *Food. Technol. Biotechnol.* 38(3): 173-180.
- Eleazar J.B-C., Elizabeth N-M., Rocio V-R., Ruben S-H., Myela B., Beatriz J. et Jorge E.I. (2002). Cloning, sequencing and expression of the chitinase gene *chiA7* from *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 23: 1023-1029.
- Fen Z-X., Ying Z. et Jun L. (2007). Analysis of both chitinase and chitosanase produced by *Sphingomonas sp* .CJ-5 .J. Zhejiang. Sci. 8(11): 831-838.
- Fredman D.O., Nutman T.B. et Ottesen E.A. (1989). Protective immunity in bancroftian filariasis. *J. Clin. Invest.*83: 14 – 22.
- Gogev S. I., Versali M. F., et Thiry E. (2003). Les chitosanes - nouveaux adjuvants pour la vaccination par voie muqueuse chez les animaux. *Ann. Méd. Vét.* 147. 343-350.
- Hamel F., Boivin R., Temblay C. et Bellemare G. (1997). Structure and evolutionary relationships among chitinases of flowering plants. *J. Mol. Evo.*144: 614 – 624.
- Hans M. et Lars Z. (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *J. Exper. Biol.* (206) 4393-4412.
- Hart P.J., Monzingo A.F., Ready MP., Ernst S.R. et Robertus J.D. (1993). Crystal structure of an endochitinase from *Hordeum vulgare*. L.seeds. *J Mol Biol* 229: 189-193.
- Harighi M.J., Zamani M.R., et Motallbi M. (2007). Evaluation of antifungal activity of purified chitinase 42 from *Trichoderma atroviride* PTCC5220. *Biotechnol* 6(1): 28-33.
- Humphreys A.M. et Gooday G. (1984). Properties of chitinase activities from *Mucor mucedo*: Evidence for a membrane-bound zymogenic form. *J. Gen Microbiol.* 130: 1359 – 1366.
- Henrissat A.B.B. (1993). New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. J.* 293:781-788.

- Henrissat B. (1999). Classification of chitinases modules. *Chitin and chitinases*. 87: 137 - 156. Ed. by p. Jollès and R. A. A. Muzzarelli.
- Hye P.S., Lee J-H et Lee H.K. (2000) Purification and characterization of chitinase from a marine bacterium, *Vibrio sp.* J. Microbiol. 224-226.
- Iseli B., Boller T. et Neuhaus J-M. (1993). The N-terminal cycteine-rich domain of tobacco class I chitinase is essential for chitin binding but not for catalytic or antifungal activity. *Plant Physiol.* 103: 221 - 226.
- Jennifer L. Guthrie et Alan J. Castle (2006). Chitinase production during interaction of *Trichoderma aggressivum* and *Agaricus bisporus*. *Can. J. Microbiol.* 52(10): 961-967.
- Kamil Z., Rizk M., Saleh M. et Moustafa.S (2007). Isolation and identification of rhizosphere soil chitinolytic bacteria and their potential in antifungal biocontrol Global. *J. Mol. Sci.* 2(2):57-66.
- Jesus E.M-S., Waliszewski K.N., Garcia M.A. et Cruz-Camarillo R. (2005). The use of crude shrimb shell powder for chitinase production by *Serratia marcescens* WF. *Food. Technol. Biotechnol.* 44(1):95-100.
- Koga D., Isogai A., Sakuda S., Matsumoto S., Suzuki A., Kimura S. et Ide A. (1987). Specific inhibition of *Bombyx mori* chitinase by allosamidin. *Agric. Biol. Chem.* 51: 471 - 476.
- Koga D., Mizuki K., Ide A., Kono M., Mstui T. et Shimizu C. (1990). Kinetics of a chitinase from a prawn, *Penaeus japonicus*. *Agric. Biol. Chem.* 54:2505 - 2512.
- Kuranda M.J. et Robbins W.P. (1991). Chitinase is required for cell separation during growth of *Saccharomyces serevisiae*. *J. Biol. Chem.* 266:19758-19767.
- Koga D., Mitsutomi M., Kono M. et Matsumiya M. (1999). Biochemistry of chitinases. *Chitin and chitinases*. 87: 111 - 123. Ed. by p. Jollès and R. A. A. Muzzarelli.
- Koga D. (1996). Comparative biochemistry of insect and plant chitinases. In: Muzzarelli, R.A.A. Ed. *Chitin enzymology 2*. Atec, Grottammare, K. 85 -94.
- Koga D., Sasaki Y., Uchiumi Y., Hirai N., Arakane Y. et Nagamatsu Y. (1997). Purification and characterization of *Bombyx mori* chitinases. *Insect Biochem. Mol. Biol* 27 : 759 -767.
- Kono M., Matsui T., Shimizu C. et Koga D. (1990). Purification and some properties of chitinase from the stomach of japanese, *Anguilla japonica*. *Agric. Biol. Chem* 54: 973 - 978.
- Keyhani N.O. et Roseman S. (1996). The chitin catabolic cascade in the marine bacterium *Vibrio furnissii*: Molecular cloning, isolation, and characterization of a periplasmic chitodextrinase. *J. Biochem.* 271: 33414 - 33424.

- Kayoung J.K., Yang J.Y. et Gikin J. (2002). Purification and characterization of chitinase from *Streptomyces sp.* M20. *J. Bioch. Mol.* 36:185-189.
- Citer par Ledvedec F. et encadrer par Mircea A.M. (2008). Mémoire de maîtrise en chimie. Université du Québec-Canada.
- Laura R.C., Maria Del Carmen M.C., Sergio Huearta S.R. et Keiko S. (2005). Enzymatic hydrolysis of chitin in the production of oligosaccharides using *Lecanicillium Fungicola* chitinases. *Proc Biochem.* 41:1106-1110.
- Limn M.C., Lora J.M., Garcia I., de la Cruz J., Llobell A., Bentez T. et Pintor-Toro J.A. (1995) Primary structure and expression pattern of the 33-kDa chitinase gene from the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum*. *Curr. Genet.* 28: 478 - 483.
- Laine L.A. et Lo C.J. (1996). Diagnosis of fungal infection with a chitinase PCT. *Int. Appl. Wo.* 9802742.A.122. (CA.128?86184).
- Masson J.Y., Denis F. et Brzezinski R. (1994). Primary sequence of the chitosanases from *Streptomyces sp.* strain N 174 and comparison with other endoglycosidases. *Gene.* 140: 103 -107.
- Mellor K.J., Nicholas R.O. et Adams D.J. (2006). Purification and characterization of chitinase from *Candida albicans*. *Microbiol. Lett.* 119(12): 111-117.
- Martin G.P. (2001). Chemical structure of chitin. *Chitin and chitosan*. in *fungi*.(3):125-127
- Moniottte P. (2005). Pixels et chitine: insectes (2):137-140.
- Melchers L.S., Apotheker-De Groot M., Van Der Knaap JA., Ponstein AS., Selabuurlage M.B., Bol J.F., Cornelissen B.J.C., Van Den Elzen P.J.M. et Linthorst H.J.M. (1994). A new class of Tobacco chitinases homologous to bacterial exo-chitinases displays antifungal activity. *Plant J.* 5: 569 – 580.
- Minic Z., Brown S., Dekouchkovsky Y., Schultze M. et Staehelin C. (1999). Purification and characterization of a novel chitinase-lysozyme, of another chitinase, both hydrolysing *Rhizobium meliloti* Nod factors, and of apathogenesis-related protein from *Medicago sativa* roots. *J. Biochem.* 332:329-335.
- Mabuchi N., Hashizume I. et Araki Y. (2000) Characterization of chitinase excreted by *Bacillus cereus* CH. *Can. J. Microbiol.* 46(4): 370–375.
- Maurizio P.G., Norberto L., Damini R. et Musumeci S. (2007). Human gastric juice contains chitinase that can degrade chitin. *Ann. Nutr. Metab.* 51:244-251.
- Mathivanan N., Kabilan V. et Murugesan K. (1998). Purification, characterization and antifungal activity of chitinase from *Fusarium chlamydosporum*. *J. Microbiol.* 44(7):646-651.

- Murao S., Kuwada T., Ovama H. et Shin T. (1992). Purification and characterization of a novel type of chitinase from *Vibrio alginolyticus* TK-22. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56: 368-369
- Miller M., Palotarvi A., Rangger A., Reesly M. et Kjoller A. (1998). The use of fluorogenic substrates to measure fungal presence and activity in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:613-617.
- Nandakumar R., Babu S., Raquchender T. et Samiyappen R. (2007). Chitinolytic activity of native *Pseudomonas fluorescens*. *J. Agric. Sci. Technol.* 9:61-68.
- Nguyen N.V., Kim Y-J. (2007). Antifungal Activity of chitinases from *Trichoderma aureoviride* DY-59 and *Rhizopus microsporus* VS-9. *Curr. Microbiol.* 56:28-32.
- Neuhaus J.M., Sticher L., Meins F.Jr. et Boller T. (1991). A short C-terminal sequence is necessary and sufficient for the targeting of chitinases to the plant vacuole. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 88: 10362 - 10366.
- Nawani N.N. et Kapadnis B.P. (2003). Production dynamics and characterization of chitinolytic system of *Streptomyces sp.* NK1057. *J. Microbiol. Biotech.* 20:487-494.
- Nuero O.M. (1995). Production of chitinase by *Fusarium species*. *Curr. Microbiol.* 30 (5). 287-289.
- Neuhaus J.M. (1999). Pathogenesis-related proteins in plants. . Edited by: Datta, S.K. Subbaratnam Muthukrishnan. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 88: 10362-10366.
- Oanh T.T., Hausler R., Monette F. et Niquette P. (2007). Valorisation des résidus industriels des pêches pour la transformation de chitosane. *J. Water. Sci.* (20) 3:253-262.
- Pichyangura R., Kudan S., Kultiyawong M. et Aiba S.I. (2002). Quantitative production of 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose from dystaline chitin by bacterial chitinase. *Carbohydr. Res.* 337:557-559.
- Palli S.R. et Retnakaran A. (1999). Molecular and biochemical aspects of chitin synthesis inhibition. *Chitin and chitinases* 87: 85 - 98. Ed. by p. jollès and R. A. A. Muzzarelli.
- Perrakis A., Wilson K.S., Chet I., Oppenheim, A.B., and Vorgias, C.E. (1993). Phylogenetic relationships of chitinases. R.A.A. Muzzarelli, ed., *Chitin enzymology.* Eur. Chitin. Soc. Ancona.
- Patil S.R., Ghormade V. et Deshpande M.V. (2000). Chitinolytic enzyme an exploration. *Enz. Microbiol. Technol.* 26 :473-483.
- Park S.K., Kim C.W., Kim H., Jung J.S. et Harman G.E. (2006). Cloning and high-level production of a chitinase from *Chromobacterium sp.* and the role of nonconserved residues on its catalytic activity. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 74:791–804.

- Pope A.M.S., Davis D.A.L. (1979). The influence of carbohydrates on the growth of fungal pathogens in vitro .Post. Med. J.55:674-676.
- Perrakis A., Wilson K.S., Chet I., Oppenheim A. et Band Vorgiase C.E. (1994). Phylogenetic Relationships of chitinases. In *Chitin Enzymology*. Edited by Muzzarelli R.A.A. Ancona: 217 - 232.
- Perakis A., Tews I., Dauter Z., Oppenheim A.B., Cet I., Wilson K.S. et Vorgias E.C. (1994) :Crystal structure of a bacterial chitinase at 2.3Å° resolution. Structure2. 12: 1169-1180.
- Robertus J.D., Monzingo A.F. (1999): The structure and action of chitinases *Chitin and chitinases*. 87: 125 - 135.Ed .by p. Jollès and R.A.A. Muzzarelli.
- Ravah-Moisaav S. et Carrod P.A. (1981). Conversion of the enzymatic hydrolysate of shellfish waste chitin in sungl ceel protein. Biotechnol. Bioeng. 23: 1067-1078.
- Romaguera A., Tschech A., Bender S., Plattner H.J. et Diekmann H. (1993): Protoplast formation by a *mycelase* from *Streptomyces olivaceoviridis* and purification of chitinases. Enz. Microb. Technol. 15: 412 - 417.
- Rahbe Y. et Febvay G. (1993). Protein toxicity to aphids: an *in vitro* test on *Achythosiphon pisum*. Entomol. Exp. Appl. 67: 149-160.
- Sahai A.S. et Manocha M.S. (1993): Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. FEMS *Microbiol*. 11: 317 – 338.
- Scheltinga A.C., Hennig M., Dijkstra B.W. (1996). The 1.8 Å resolution structure of hevamine, a plant chitinase/lysosyme and analysis of the conserved sequence and: structure motifs of glycosyl hydrolase family 18. J. Mol. Biol. 262: 243 – 257.
- Shahabuddin M., Toyoshima T., Aikawa M., Kaslow D. (1994). Transmission blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malarial parasite chitinase by mosquito protease. Proc.Nat. Aca. Sci, 90: 4266 - 4270.
- Shinshi H., Neuhaus J-M., Ryals J. et Meins F. (1990). Structure of a tobacco endochitinase gene: evidence that different chitinase genes can arise by transposition of sequence encoding a cysteine-rich domain. Plant Mol Biol 14: 357 - 368.
- Schlein Y., Jacobson R.L. et Shlomai J. (1991). Chitinase secreted by *Leishmania* functions in sandfly vector. Biol. Sci. 245: 121 - 126.
- Site web1: www. Origine animale de chitine. PDF. 14. 04. 2006.
- Saguez J., Hainez R., Cheroqui A., Van Wuytswinkel O., Jeanpierre H., Lebon G., Noiraud N., Beau-Jean A., Jouanin L., Laberche J.C., Vincent C. et Giordanengo P.(2005). Unexpected effects of chitinases on the peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer) when delivred via transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* Linné) and in vitro. Transgenic. Res.14:57-67.

- Sakuda S., Isogai A., Matsumoto S. et Suzuki A (1987). Search for insect growth regulators.II. Allosamidin, a novel insect chitinase inhibitor. *J. Antibiot* 40:296-300.
- Shimono K., Matsuda H. et Kawamukai M. (2002). Functional expression of chitinase and chitosanase, and their effects on morphologies in the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66:1143-1147.
- Suraini A-A., Teoh L.S., Noorjahan A., Neelan S. et Kamarulzaman K. (2008). Microbial degradation of chitin by *Trichoderma virens* UKM1. *J. Biological. Sci.* 8(2): 52-59.
- Shanmugaiah V., Mathivanan N., Balasubramanian N. et Manoharan P.T. (2008). Optimization of cultural conditions for production of chitinase by *Bacillus laterosporous* MML2270. *Afr. J. Biotechnol.* 7(15):2562-2568.
- Sakurada M., Morgavi D.P., Komatani K., Tomita Y. et Onodera R. (1996). Purification and characteristics of cytosolic chitinase from *Piromyces communis* OTSl. *FEMS. Microbiol. Lett.* 137: 75 - 78.
- Shimono K., Matsuda H. et Kawamukai M. (2002). Functional expression of chitinase and chitosanase, and their effect on morphologies in the yeast *Shizosaccharomyces pombe*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66: 1144-1147.
- Simunek J., Tishchenko G., Rozhetsky K., Bartronava H., Kopencny J. et Hodrova B. (2003). Chitinolytic enzymes from *Clostridium aminovalericum*: Activity screening and purification. *Folia. Microbiol.* 49 (2). 194-198.
- Terwisscha Van Scheltinga A.C., Armand S., Kalk KH., Isogai A., Henrissat B., et Dijkstra B.W. (1995). Stereochemistry of chitin hydrolysis by a plant chitinase/lysozyme and Xray structure of a complex with allosamidin: evidence for substrate assisted catalysis. *Biochem.* 34: 15619 -15623.
- Taira T, Ohnuma T, Yamagami T, ASO Y, Ishiguro M, Ishihara M (2002) Antifungal activity of *Secale cereale*. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 66:970-977.
- Venegas A., Goldstein J.C., Beaugerard K., Oies A., Abdulhayoglu N. et Fuhrman A. (1996). Expression of recombinant microfilarial chitinase and analysis of domain function. *Mol. Biochem. Parasitol.* 78: 149 - 159.
- Villagomez-Castro J.C., Calvo-Mendez C., Lopez-Romero E. (1992). Chitinase activity in encysting *Entamoeba invadens* and its inhibition by allosamidin. *Mol. Biochem. Parasitol.* 52: 53 – 63.
- Vyas P.R. et Deshpande M.V. (1991). Enzymatic hydrolysis of chitin by *Myrothecium verrucaria* chitinase complex and its utilisation to produce SCP. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37:267-275.
- Villagomez-Castro JC., Lopez-Romero E. (1996). Identification and partial characterization of three chitinase from *Entamoeba invadans* with emphasis on their inhibition by allosamidin. *Antonie. Van Leeuwenhoek.* 70: 41-48.

- Wang Q., Zhou Y.Z., Sakuda S. et Yamada Y. (1993). Purification of allosamidin-sensitive and insensitive chitinases produced by allosamidin-producing *Streptomyces*. *Biosci Biotech Biochem* 57: 467 - 470.
- Wang S-L. et Chang W-T. (1997). Purification and characterization of two bifunctional chitinases/lysozymes extracellularly produced by *Pseudomonas aeruginosa* K -187 in a shrimp and crab shell powder medium. *Appl. Environ. Microbiol.*63: 380 - 386.
- Welburn SC., Arnold K., Maudlin I. et Gooday D.C. (1993). *Rickettsia-like* organisms and chitinase production in relation to transmission of trypanosomes by tsetse flies. *Parasitol.* 107: 141 – 145.
- Wen C.M., Tseng C.S., Cheng C.Y., Li YK., (2002). Purification, characterization and cloning of a chitinase from *Bacillus* sp.NCTU2. *Biotechnol. Appl. Biochem* 35:213-219.
- Yong T., Hong J., Zhangfu L., Li Z., Xiuqiong D., Ke T., Saorong G., Shigui L., (2005). Purification and characterization of an extracellular chitinase produced by *Bacterium* C4. *Ann. Microbiol.* 55(3):213-218.
- Yamanoi T., Tsutsumuda M., Oda Y., Akaike E., Osumi K., Yamammato K., Fujita K(2004) tranglycosylation reaction of *Muccor*. Endo- β -N-acetylglucosaminidase using derivatives modified at C1 or C2 as oligosaccharide acceptors. *Carbohydr. Res.* 339: 1403-1406.

Thème de : Les applications
biotechnologiques des chitinases
microbiennes

Présenté par :

- Saoudi Rabia
- Bousloub Nouar
- Belguedj Mohammed Cherif

Résumé :

la chitine est un polysaccharides, constitué de chaines linéaires des groupes N-acétyl-glucosamine liées entre elles par des liaisons β (1-4). C'est un constituant majeur de la paroi cellulaire des champignons et des cuticules des insectes et des crustacés ce qui explique l'existence d'une large gamme d'enzymes chitinolytiques. Elles ont la capacité de réduire la chitine en GlcNAc par l'hydrolyse de la liaisons β -glucosidique. Ces enzymes sont des produits naturels fabriqués par les microorganismes cultivés dans des milieux dans des conditions favorables (température, pH, source de carbone, source d'azote). Les Chitinases exercent une activité optimale dans des conditions physico-chimique différentes dépendant du microorganisme producteur. Les chitinases sont bien adaptées pour une large gamme d'applications telles que les applications pharmaceutiques, les applications médicales, la lutte biologique et aussi en génie-génétique pour la production des protoplastes.

Application of microbial chitinases in biotechnology

Abstract :

Chitin is a polysaccharide, which consists of linear chains of N-aceyl-D-glucosamine groups bounded in β -(1-4). It is a major constituent of fungal cell wall, insects and shell fish cuticle, what explains the existence of a broad range of chitinolytic enzymes. These enzymes are produced naturally by microorganisms cultivated in favorable conditions (pH, temperature, carbon source, nitrogen source). Chitinases displayed optimal activity in different physico-chemical conditions depending on producer microorganism. They have the capacity to reduce chitin to GlcNAc by the hydrolysis of β -glucosidic bonds. Chitinases are well adapted for broad applications such as pharmaceutical application, medical application, biocontrol and also in genetic engineering for protoplast production.

التطبيقات البيوتكنولوجية للكيتيناز الميكروبي

ملخص:

الكيتين هو متعدد سكري ، متكون من سلاسل خطية من Nacetyl-glucosamine مرتبطة معا بروابط β (1-4). الكيتين عبارة عن مكون أساسي للجدار الخلوي للفطريات و كذلك قشرة الحشرات و الكائنات المائية القشرية ، مما يفسر تواجد مجموعة كبيرة من إنزيمات الكيتيناز، تمتلك هذه الإنزيمات القدرة على اختزال الكيتين المعقد GlcNAc بإمالة الرابطة السكرية β (1-4). هذه الإنزيمات عبارة عن نواتج منتجة طبيعيا من طرف بعض الكائنات الحية الدقيقة المزروعة في ظروف ملائمة من درجة حرارة و رقم هيدروجيني و مصدر الكربون و النتروجين. يظهر إنزيم الكيتيناز فعالية مثلى في ظروف فيزيائية وكيميائية مختلفة اعتمادا على الكائن المجهرى المنتج له. يمكن استخدام إنزيم الكيتيناز في مجالات متعددة منها الصيدلية، الطب، المكافحة الحيوية للحشرات و كذلك في الهندسة الوراثية من أجل الحصول على البروتوبلاست.

Mot clés : Chitinase. chitine. Chitosane. Microorganismes.