

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان

Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –

Faculté des sciences de la nature et de la vie,
et des sciences de la terre et de l'univers

Département de biologie

Département de biologie



MEMOIRE

Présenté Par : **ALI YACOUBA Soumaiya**

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**

En Sciences Biologiques

Option : **Biochimie Appliquée**

Thème :

**Screening moléculaire de quelques décomposants
du plastique**

Soutenu le 22 juin 2024 devant le jury :

Présidente : Mme Sari Lamia

Professeur

UABT

Examinatrice : Mme Brikci-Nigassa Amal

Maître de conférences B

UABT

Encadrante : Mme Benmansour Meriem

Maître de conférences A

UABT

Année Universitaire : 2023-2024

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant de m'avoir accordé la santé, le courage et la patience afin de réaliser ce travail qui représente l'aboutissement de mon parcours académique.

J'adresse par la suite mes sincères remerciements à mon encadrante **Mme BENMANSOUR Meriem** pour son attention, sa patience, sa disponibilité et ses encouragements qui m'ont illuminé pour mener à bien ce travail. Je la remercie également pour son aide, ses précieux conseils et orientations et surtout pour l'importance qu'elle a portée à l'égard de ma propre personne.

Je désire exprimer aussi toute ma reconnaissance à **Mr CHERRAK Sabri** pour sa guidance continue tout au long de l'accomplissement de ce travail. Sa disponibilité permanente et ses vastes connaissances en docking moléculaire qui ont été inestimables.

Je voudrais également témoigner ma profonde gratitude à Mme **SARI Lamia** pour l'honneur qu'elle m'accorde en acceptant de présider ce jury et à Mme **BRIKCI NIGASSA Amal** d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Mes remerciements s'adressent à toute l'équipe pédagogique du département de Biologie responsable de ma formation à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen.

Enfin, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude à ma famille, mes amis et connaissances pour leur confiance et leur soutien inestimable.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, dont le soutien inébranlable m'a toujours inspiré.

À mon père, qui n'est plus parmi nous, mais dont la mémoire et les enseignements continuent de guider chaque étape de ma vie.

Ta sagesse et ton amour sont gravés dans mon cœur à jamais.

À ma mère, cette brave femme, pour son amour infini, sa patience et son encouragement constant.

Vous êtes ma source de force et de motivation.

À ma défunte grand-mère maternelle, meilleure amie et conseillère.

À mes frères et sœurs.

À mes tantes, oncles et à toute ma famille.

À ma promotion de Master 2022-2024.



Ali Yacouba Soumaiya

Résumé

Le plastique utilisé dans la vie de tous les jours, est un polymère synthétique non biodégradable, ce qui conduit à son accumulation dans l'environnement à l'origine de la pollution plastique à laquelle nous sommes confrontés aujourd'hui. En ce sens, l'utilisation des insectes et de leurs enzymes apparaît comme la méthode de décontamination la plus écologique et la plus efficace. Ce travail a pour but de comprendre le mécanisme moléculaire de dégradation du polyéthylène par l'enzyme Demetra, identifiée dans la salive de *Galleria mellonella*, en utilisant des approches de modélisation moléculaire.

L'amarrage moléculaire utilisant Autodock Vina a été appliqué pour l'analyse des interactions entre l'enzyme et quatre types de plastiques qui sont le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP), le polystyrène (PS) et le polychlorure de vinyle (PVC).

Les résultats montrent que le PS possède la meilleure affinité pour Demetra, suivi du PP, puis du PE et du PVC. Une analyse plus approfondie des interactions protéine-ligand a révélé que Demetra interagit principalement avec ces plastiques via des interactions hydrophobes de type Alkyl et Pi-Alkyl, impliquant des acides aminés spécifiques dans les différentes poches de l'enzyme. Cette étude constitue le premier rapport *in silico* sur la dégradation de ces composés plastiques par l'enzyme Demetra, offrant une meilleure compréhension de leurs interactions moléculaires avec cette dernière.

Mots clés : Pollution plastique, Demetra, *Galleria mellonella*, docking moléculaire, biodégradation.

Summary

The plastic used in everyday life, is a non-biodegradable synthetic polymer, which leads to its accumulation in the environment causing the plastic pollution we are facing today. In this sense, the use of insects and their enzymes appears to be the most ecological and effective method of decontamination. This work aims to understand the molecular mechanism of polyethylene degradation by the enzyme Demetra, identified in the saliva of *Galleria mellonella*, using molecular modeling approaches.

Molecular docking using Autodock Vina was applied for the analysis of the interactions between the enzyme and four types of plastics which are polyethylene (PE), polypropylene (PP), polystyrene (PS) and polyvinyl chloride (PVC).

The results show that PS has the best affinity for Demetra, followed by PP, then PE and PVC. Further analysis of the protein-ligand interactions revealed that Demetra interacts mainly with these plastics via hydrophobic interactions such as Alkyl and Pi-Alkyl, involving specific amino acids in the different pockets of the enzyme. This study is the first *in silico* report on the degradation of these plastic compounds by the Demetra enzyme, providing a better understanding of their molecular interactions with the latter.

Keywords : Plastic pollution, Demetra, *Galleria mellonella*, molecular docking, biodegradation.

ملخص

البلاستيك المستخدم في الحياة اليومية، هو بوليمر اصطناعي غير قابل للتحلل، مما يؤدي إلى تراكمه في البيئة مما يتسبب في التلوث البلاستيكي الذي نواجهه اليوم. وبهذا المعنى، يبدو أن استخدام الحشرات وإنزيماتها هو الطريقة الأكثر بواسطة إنزيم (PE) إيكولوجية وفعالية لإزالة التلوث. يهدف هذا العمل إلى فهم الآلية الجزيئية لتحلل البولي إيثيلين ديميثرا، الذي تم تحديده في لعاب غاليريا ميلونيلا، باستخدام أساليب النمذجة الجزيئية

لتحليل التفاعلات بين الإنزيم وأربعة أنواع من البلاستيك Autodock Vina تم تطبيق الالتحام الجزيئي باستخدام (PVC) وكلوريد البولي فينيل (PS) والبوليسترين (PP) والبولي بروبيلين (PE) وهي البولي إيثيلين

كشفت تحليل إضافي لتفاعلات PVC و PE ، ثم PP ، يليها Demetra لديها أفضل تقارب لـ PS تظهر النتائج أن البروتين والليجاندا أن ديميثرا يتفاعل بشكل أساسي مع هذه المواد البلاستيكية من خلال التفاعلات الكارهة للماء مثل ، والتي تتضمن أحماضًا أمينية محددة في الجيوب المختلفة للإنزيم. هذه الدراسة هي الأولى في Alkyl و Pi-Alkyl تقرير السيليكو حول تحلل هذه المركبات البلاستيكية بواسطة إنزيم ديميثرا، مما يوفر فهمًا أفضل لتفاعلاتها الجزيئية مع الأخير.

. الكلمات الرئيسية: التلوث البلاستيكي، ديميثرا، غاليريا ميلونيلا، الالتحام الجزيئي، التحلل البيولوجي

Liste des tableaux

Tableau 01 : Certaines applications de types de plastique (Sperling, 2005).....	6
Tableau 02 : Les données PDB de l'enzyme cible.	31
Tableau 03 : Les structures des ligands utilisés dans cette étude.	33
Tableau 04 : Taille et position du centre de la grille en fonction des poches.	35
Tableau 05 : Volume et Surface des 5 premières cavités détectées via CASTp.	37
Tableau 06 : Identifiant des 5 poches proposées par POCASA.	37
Tableau 07 : Résultats du docking moléculaire pour les 4 ligands dans chaque poche.	38
Tableau 08 : Résultats de l'analyse des interactions protéine-ligand dans les trois (3) poches sélectionnées.	40

Liste des figures

Figure 1: Le nombre d'articles publiés pendant la période de 2000 à 2023 (a) ; la carte de la coopération des pays dans le traitement de la pollution plastique de WoS (b)	4
Figure 2 : Structures moléculaires du PET, PU, PE, PVC, PP et du PS	5
Figure 3: Illustration des sources de déchets dans les milieux marins.....	9
Figure 4: Sources potentielles de plastiques et de MP dans le sol.....	10
Figure 5 : Comment les additifs, les colorants et les polluants organiques contenus dans les plastiques peuvent avoir des effets négatifs sur l'homme et sur l'environnement	15
Figure 6: Paradigme actuel de la dégradation microbienne des polymères plastiques.....	18
Figure 7: Enzymes identifiées pour la dégradation du plastique provenant de différents micro-organismes.....	19
Figure 8: Les enzymes impliquées dans la dégradation du PET sécrétées par <i>Ideonella sakaiensis</i>	20
Figure 9: Paradigmes complet de dégradation du plastique. (A) Le devenir des plastiques dans l'environnement. (B) Le paradigme métabolique de la dégradation microbienne des plastiques. (C) La vision actuelle de la dégradation du plastique par les insectes. (D) Le nouveau paradigme de dégradation des plastiques par les insectes.....	22
Figure 10: Interface du logiciel UCSF Chimera.....	24
Figure 11: Interface d'accès à l'AutoDock Vina via UCSF Chimera.....	25
Figure 12: Interface du logiciel Avogadro.....	26
Figure 13: Interface du logiciel Discovery Studio.....	26
Figure 14: Page d'accueil de la base de données RCSB.....	27
Figure 15: Page d'accueil du serveur CASTp.....	28
Figure 16: Interface de l'outil Web POCASA.....	29
Figure 17 : Méthodologie de calcul	Error! Bookmark not defined.
Figure 18: La structure 3D de l'hétérocomplexe 3 : 3 Cibeles-Demetra.....	31
Figure 19: Chemin pour accéder à l'outil Dock Prep dans UCSF Chimera.....	32
Figure 20: Interaction entre le ligand PE et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	43
Figure 21: Interaction entre le ligand PP et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	44
Figure 22: Interaction entre le ligand PS et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	44

Figure 23: Interaction entre le ligand PVC et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	45
Figure 24: Interaction entre le ligand PE et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	46
Figure 25: Interaction entre le ligand PP et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	47
Figure 26: Interaction entre le ligand PS et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	47
Figure 27: Interaction entre le ligand PVC et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	48
Figure 28: Interaction entre le ligand PE et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	49
Figure 29: Interaction entre le ligand PP et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	49
Figure 30: Interaction entre le ligand PS et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	50
Figure 31: Interaction entre le ligand PVC et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).....	51

Liste des abréviations

PE : Polyéthylène

PP : Polypropylène

PS : Polystyrène

PVC : Polychlorure de vinyle

PET : Polyéthylène téréphtalate

MP : Microplastique

UV : Rayonnement ultraviolet

CO₂ : Dioxyde de carbone

CH₄ : Méthane

N₂ : Azote

PETase : Hydrolase du polyéthylène téréphtalate

G. mellonella : *Galleria mellonella*

DSV : Discovery studio visualizer

PDB : Protéine data bank

3D : Tridimensionnel

2D : Bidimensionnel

CASTp : Computed Atlas of Surface Topography of Proteins

Phe : Phénylalanine

Trp : Tryptophane

Leu : Leucine

Ile : Isoleucine

Lys : Lysine

Tyr : Tyrosine

His : Histidine

Ala : Alanine

Pro : Proline

Table des matières

Introduction générale	1
Partie I Partie bibliographique	2
Chapitre I Effets potentiels de la pollution plastique sur l'environnement et la bioremédiation	2
1 La pollution plastique :	3
1.1 Définition :	3
1.2 Principaux polymères, composition et utilisation :.....	4
1.3 Sources de la pollution plastique :	6
1.3.1 Sources océaniques :	7
1.3.2 Sources terrestres :	9
1.3.3 Sources de plastique dans l'air :	10
1.4 Impacts de la pollution plastique :	11
1.4.1 Impacts sur la faune :	11
1.4.2 Impacts sur la flore :	12
1.4.3 Impacts socio-économiques :	12
a- Impacts sociaux :	12
b- Impacts économiques :	13
1.4.4 Effets sur la santé humaine :	14
a- Principales voies d'exposition :	14
b- Potentiels effets :	14
1.5 Techniques actuelles d'élimination de déchets plastiques :	15
2 La dégradation des matières plastiques :	16
2.1 Dégradation abiotique :	16
2.2 Dégradation biotique ou Biodégradation :	17
2.2.1 Enzymes impliquées dans la biodégradation du plastique :	18
2.3 Dégradation du plastique par les insectes :	20

2.3.1	Dégradation du plastique par <i>Galleria mellonella</i> :	20
2.3.2	<i>Galleria mellonella</i> :	21
2.3.3	Paradigme et enzyme de <i>Galleria mellonella</i> :	21
Partie II Partie expérimentale		23
Matériel et méthodes		23
1	Matériels :	24
1.1	Logiciels utilisés :	24
1.1.1	UCSF Chimera 1.17.3	24
1.1.2	AutoDock Vina 1.1.2 :	24
1.1.3	Avogadro 1.2.0:	25
1.1.4	Discovery Studio Visualizer 2024 :	26
1.2	Banque de donnée protéique (PDB) :	27
1.3	Les serveurs en ligne :	27
1.3.1	CASTp 3.0:	27
1.3.2	POCASA :	28
2	Méthodes : la figure ci-dessous résume la méthodologie appliquée dans cette expérience (Figure 17)	30
2.1	Identification et préparation de l'enzyme :	31
2.2	Préparation des ligands :	32
2.3	Prédiction et détermination du site actif :	34
2.4	Simulation de l'amarrage moléculaire :	34
2.5	Analyse des interactions protéine-ligand :	36
Résultats et discussion		37
1	Résultats de la prédiction du site actif	37
2	Résultats du docking moléculaire	38
3	Etude des interactions moléculaires	40
3.1	Diagramme 3D et 2D :	42

3.1.1 Poche n°02 :.....	42
3.1.2 Poche n°03 :.....	45
3.1.3 Poche n°05 :.....	48
Conclusion générale	52
Références bibliographiques	52



Introduction générale

De nos jours, les produits en plastique occupent une place importante dans notre vie quotidienne en raison de leurs multiples fonctions et de leur faible coût. Cependant, depuis la seconde moitié du XXe siècle, la production et l'utilisation massive de plastique a généré des millions de tonnes de résidus, envahissant les océans, les sols et l'air. Parmi les plastiques les plus produits et résistants, on retrouve le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP), le polystyrène (PS) et le polychlorure de vinyle (PVC), qui représentent 70 % de la production mondiale totale de plastique. Cette présence accrue de plastique non biodégradable dans l'environnement constitue une menace majeure pour la biodiversité et la santé humaine (**Danopoulos et al., 2022; Spínola-Amilibia et al., 2023**).

Face à cette crise environnementale, la bioremédiation émerge comme une solution potentielle et prometteuse, car les méthodes actuelles d'élimination des déchets plastiques semblent inefficaces et inaccessibles pour tous (**Suzuki et al., 2022**). La bioremédiation implique l'utilisation de microorganismes, d'enzymes ou de plantes pour décomposer, transformer ou neutraliser les contaminants présents dans l'environnement. Récemment, certaines larves de coléoptères et de lépidoptères ont montré une capacité remarquable à dégrader certains types de plastique, ouvrant ainsi la voie à l'utilisation potentielle des insectes dans la lutte contre la pollution plastique (**Hazen, 2018**).

De plus, des enzymes présentes dans la salive des larves du lépidoptère *Galleria mellonella* se sont avérées capables d'oxyder et de fragmenter le PE non traité à température ambiante et dans des conditions physiologiques en seulement quelques heures d'exposition, faisant d'elles les premières enzymes animales dotées de cette capacité extraordinaire (**Sanluis-Verdes et al., 2022**). Cependant, le processus moléculaire responsable de cette oxydation enzymatique reste toujours méconnu, et plusieurs questions sur le fonctionnement, l'emplacement du site catalytique et l'évolution de ces enzymes restent sans réponse (**Bertocchini & Arias, 2023**).

La modélisation moléculaire est actuellement l'une des techniques révolutionnaires pour surmonter les obstacles dans la recherche de découverte de médicaments et la compréhension des phénomènes chimiques (**Hu et al., 2021**). Bien que ce soit un domaine vaste, deux composantes majeures se distinguent : le docking moléculaire et la simulation de dynamique moléculaire (MD). Ces outils de modélisation computationnelle facilitent largement l'identification de pistes pour des tests expérimentaux *in vitro* et *in vivo*. Le criblage virtuel basé sur le docking moléculaire permet d'identifier des composés ayant la plus forte affinité

de liaison, tandis que la simulation de dynamique moléculaire évalue les dynamiques temporelles des interactions protéine-ligand (Glaab, 2016; Cheng et al., 2013).

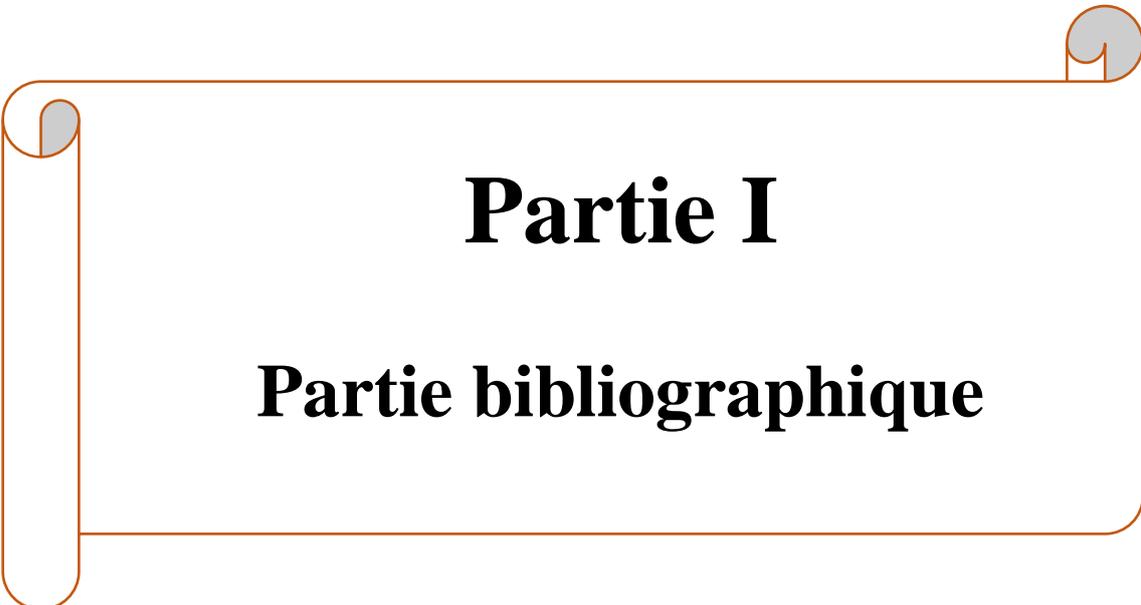
L'objectif de notre travail est de mettre en lumière le processus de dégradation du PE par Demetra au niveau moléculaire, en utilisant les méthodes de docking moléculaire pour rechercher *in silico* le mode d'interaction le plus opportun entre la protéine et le ligand.

Ce travail débute par une introduction et comporte deux parties structurées comme suit :

La première partie est une étude bibliographique, présentée en un seul chapitre divisé en deux grands titres. Le premier titre donne un aperçu de la pollution causée par le plastique non biodégradable et de ses potentiels effets sur l'environnement et la santé humaine. Le deuxième titre couvre les différents processus intervenant dans la dégradation du plastique dans l'environnement ainsi qu'une vue d'ensemble sur les enzymes impliquées dans cette dégradation.

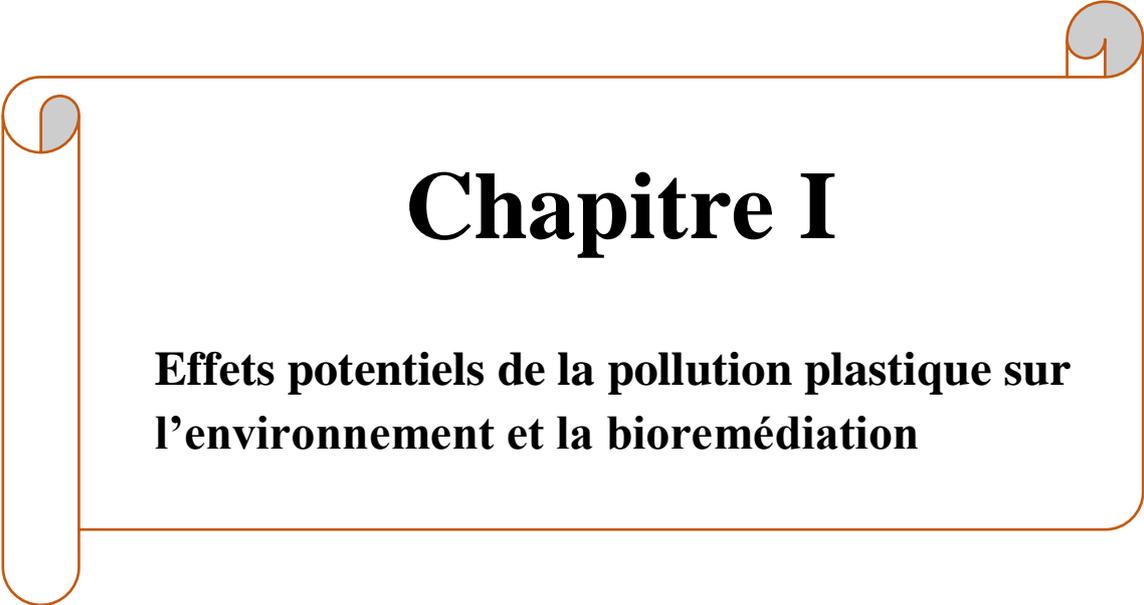
La deuxième partie, partie expérimentale, est composée de deux chapitres. Le premier chapitre décrit en détail le matériel utilisé et les méthodes bio-informatiques appliquées dans cette recherche. Le deuxième chapitre présente les résultats des diverses expériences réalisées, suivis d'une discussion approfondie.

Enfin, cette étude se conclut par une conclusion générale.



Partie I

Partie bibliographique

A decorative border resembling a scroll, with a brown outline and grey circular accents at the corners, framing the text.

Chapitre I

**Effets potentiels de la pollution plastique sur
l'environnement et la bioremédiation**

1 La pollution plastique

1.1 Définition

La pollution plastique est un terme qui renvoie aux dommages environnementaux causés par les produits en plastique mis au rebut, tels que les sacs d'emballage, les films de paillage agricole, la vaisselle jetable et les bouteilles en plastique fabriquées à partir de matériaux tels que le PS, le PP et le PVC. Ce phénomène entraîne une pollution écologique et paysagère due à l'accumulation de plastiques non biodégradables dans l'environnement (**Shen et al., 2020**).

Durant ces années antérieures, la pollution plastique est devenue un problème environnemental majeur, des preuves de la présence de déchets plastiques ayant été découvertes dans les écosystèmes du monde entier. En un laps de temps relativement court, les objets en plastique se sont accumulés dans les environnements terrestres et aquatiques, atteignant même des endroits éloignés tels que les régions polaires et glaciers. L'ampleur de ce problème a conduit les Nations Unies à reconnaître la pollution plastique comme l'un des défis environnementaux les plus urgents de notre époque (**Binelli et al., 2024**). Ce qui explique l'augmentation exponentielle des travaux visant à résoudre ce problème (**Figure 1a**) avec les principaux pays participants (**Figure 1b**).

En plus, la résilience et la solidité des plastiques posent un double défi. Si ces qualités améliorent les performances du plastique, elles entravent également sa dégradation naturelle, ce qui constitue une menace environnementale importante. À l'échelle mondiale, de grandes quantités de déchets plastiques sont rejetées dans l'environnement, contribuant ainsi au problème omniprésent de cette pollution plastique (**Shen et al., 2020**).

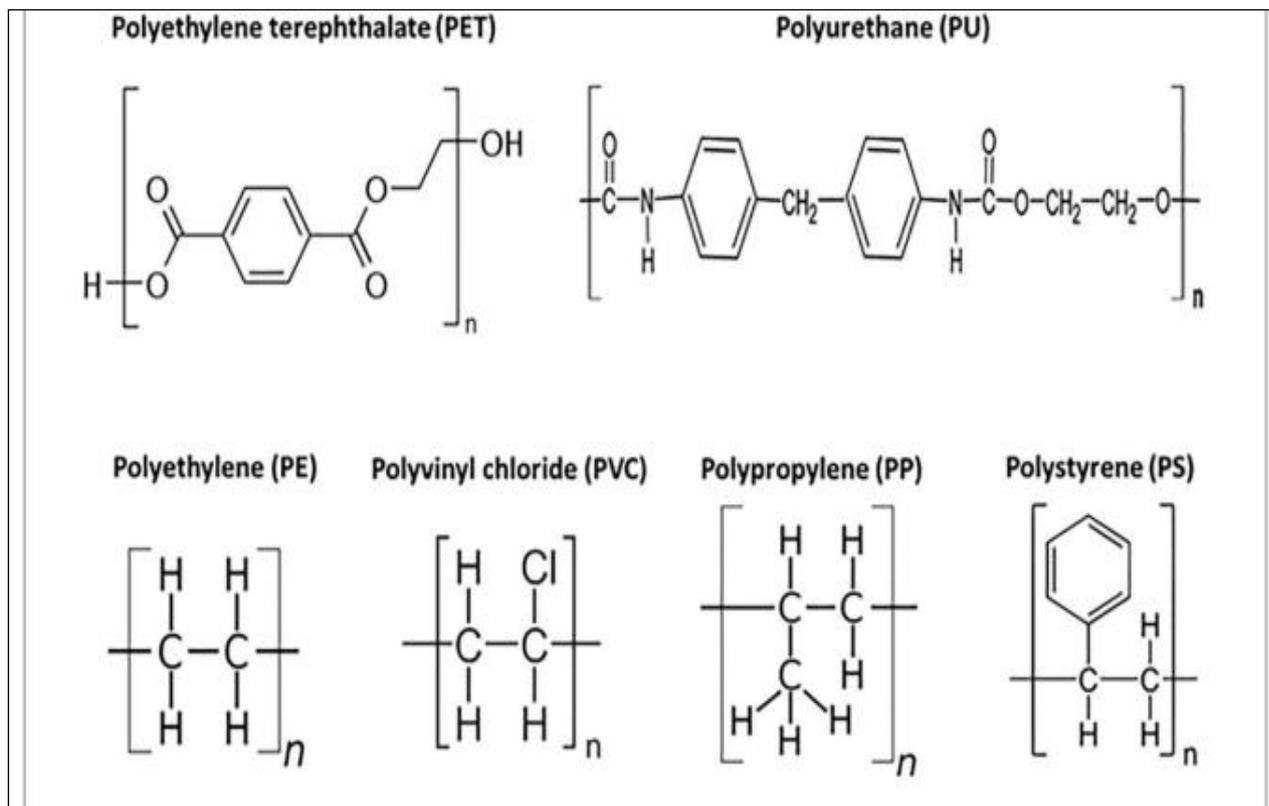


Figure 2. Structures moléculaires du PET, PU, PE, PVC, PP et du PS (Kaushal et al., 2021).

De plus, des additifs ou d'autres substances peuvent être incorporés aux polymères plastiques les rendant capables de constituer la structure principale de divers matériaux et objets finis. Ils offrent une grande variété de structures, tailles, propriétés et applications. Environ 95 % des plastiques sont constitués de polymères, également appelés résines, auxquels s'ajoutent environ 5 % d'additifs tels que des charges et des plastifiants. Ces additifs, très divers, sont mélangés aux polymères pour altérer leurs caractéristiques mécaniques, optiques et chimiques, comme la rigidité, la transparence ou la perméabilité (DE CE et al., 2020).

Enfin, la plupart des plastiques sont employés dans les domaines de l'emballage et de la construction, avec d'autres secteurs importants comme l'automobile, l'équipement électrique et électronique, les textiles et l'agriculture. Le **tableau 01** illustre des exemples d'utilisations de quelques polymères.

Tableau 01 : Certaines applications de types de plastique (Sperling, 2005).

Acronyme	Nom	Principale applications
PE	Polyéthylène	Emballage rigide, semi-rigide et souple Pellicule pour l'agriculture Articles ménagers Isolation électrique Construction Produits personnels
PP	Polypropylène	Emballage rigide, semi-rigide et souple Automobile, Articles ménagers et Isolation électrique
PS	Polystyrène	Emballage et Mousses
PLA	Poly lactide	Emballage rigide, semi-rigide et souple
PET	Polyéthylène téréphtalate	Emballage rigide, semi-rigide et souple Fibres textiles synthétiques
PVC	Polychlorure	Feuilles et tissus enduits Construction Isolation électrique

1.3 Sources de la pollution plastique

La pollution plastique se manifeste de différentes manières :

- Accumulation de déchets terrestre et marins ;
- Les animaux sont tués par l'ingestion d'objets en plastique ;
- Introduction dans les écosystèmes de microplastiques (MP) et de microbilles provenant de produits cosmétiques et de soins personnels.

En effet, le plastique est devenu omniprésent dans divers secteurs de l'activité humaine, si son utilisation généralisée a facilité les choses, le problème de son élimination en toute sécurité est devenu une préoccupation environnementale majeure. La surabondance d'articles en

plastique a entraîné une grave pollution du sol, de la terre, de l'air et des écosystèmes marins, car la majorité de ces plastiques sont jetables et à usage unique ce qui conduit à leur accumulation dans l'environnement et constitue la principale source de pollution plastique (**Mukheed & Alisha, 2020**).

Selon une étude, en moyenne chaque personne jette 52 kg de plastique par an. En raison, d'une mauvaise gestion des déchets accumulés dans l'environnement, en 2022, ces déchets plastiques mondiaux ont atteint une valeur de 380 millions de tonnes dont environ 8 millions de tonnes se sont retrouvés dans l'océan (**Lv et al., 2024 ; Zhang et al., 2022**). Seulement 9% de ces déchets sont recyclés, tandis que 12% sont incinérés, laissant le reste être enfoui dans des décharges, où ils finissent par se retrouver dans l'environnement naturel (**Geyer, 2017**).

En plus, les produits en plastique sont généralement conçus pour durer longtemps et peuvent persister dans l'environnement pendant de nombreuses années. Sans oublier qu'ils peuvent se dégrader en microplastiques (MP), voire en nanoplastiques, sous l'effet de divers mécanismes tels que l'exposition aux rayons UV, la dégradation thermique, les forces mécaniques et les activités humaines. Ces minuscules particules ont un effet profond sur l'environnement, en particulier dans les systèmes d'eau, où elles ont la capacité de rassembler et de libérer des substances organiques et inorganiques nocives, y compris des polluants organiques persistants et des métaux lourds, exerçant ainsi un rôle significatif dans cette pollution plastique (**Lv et al., 2024**).

1.3.1 Sources océaniques

Les écosystèmes marins peuvent être contaminés par des plastiques primaires et secondaires. Les MP primaires sont des débris plastiques fabriqués dans une plage de taille microscopique et sont utilisés dans la formulation de certains produits personnels, tandis que les plastiques secondaires se forment lorsque des débris plastiques plus importants sont exposés à différentes forces et se décomposent en de minuscules débris plastiques (**Hartmann et al., 2019**).

Au niveau des écosystèmes aquatiques, l'accumulation de déchets plastiques dérivent de diverses sources tant terrestres que marines (**Figure 3**), ce qui constitue une menace majeure pour leur santé et leur équilibre.

Ainsi, les principales sources de pollution plastique d'origine terrestre incluent les apports d'eau douce, les activités résidentielles et domestiques, le tourisme, ainsi que d'autres actions

économiques, comme les opérations portuaires. Et on estime que plus de 75% des déchets plastiques en mer proviennent de ces sources terrestres (**Andrady, 2011**).

Les zones côtières qui sont fortement peuplées, urbanisées et industrialisées, attirent ainsi la plupart des communautés locales. Par conséquent, les activités résidentielles et industrielles sont largement concentrées dans ces zones de transition, ce qui entraîne une accumulation de déchets plastiques et MP. Ces derniers proviennent des produits cosmétiques et de nettoyage qui sont directement rejetés dans les systèmes de traitement des eaux usées ou les systèmes de drainage, où ils peuvent s'échapper pour s'accumuler en suite dans les écosystèmes naturels d'eau douce tels que les rivières et les cours d'eau, ou se retrouvent dans les eaux souterraines par lixiviation, pour finalement aboutir dans l'océan (**Browne et al., 2007**).

Enfin les conditions climatiques extrêmes telles que les tempêtes, les ouragans et les inondations favorisent également l'augmentation du taux d'accumulation de plastique en conduisant les déchets plastiques terrestres dans l'océan (**Thushari et al., 2020**).

En ce qui concerne les sources marines, les activités en mer telles que la pêche commerciale, la navigation, l'élimination des déchets, et l'élevage de coquillages/poissons sont des sources clés de pollution plastique de cet écosystème (**Cole et al., 2011**).

Selon de nombreuses études, les opérations de pêche en mer et d'aquaculture ont été identifiées comme une source importante de pollution plastique dans les bassins océaniques et les écosystèmes côtiers car des filets de pêche endommagés, abandonnés, perdus ou jetés peuvent se retrouver en mer lors des opérations de pêche et nuire à la biodiversité marine (**Derraik, 2002; Thushari et al., 2017**).

Cependant, les activités maritimes et de navigation contribuent également à l'accumulation de plastique en mer. En effet, les navires marins déversent intentionnellement ou non des déchets plastiques dans l'océan avec un taux d'accumulation d'environ de 6,5 millions de tonnes par an dans les fonds marins dès le début des années 1990 (**Derraik, 2002**). Ce qui permet d'affirmer qu'actuellement ce taux a sans doute triplé ou quadruplé en raison de l'augmentation de la production et de la consommation de plastiques ces 20 dernières années.

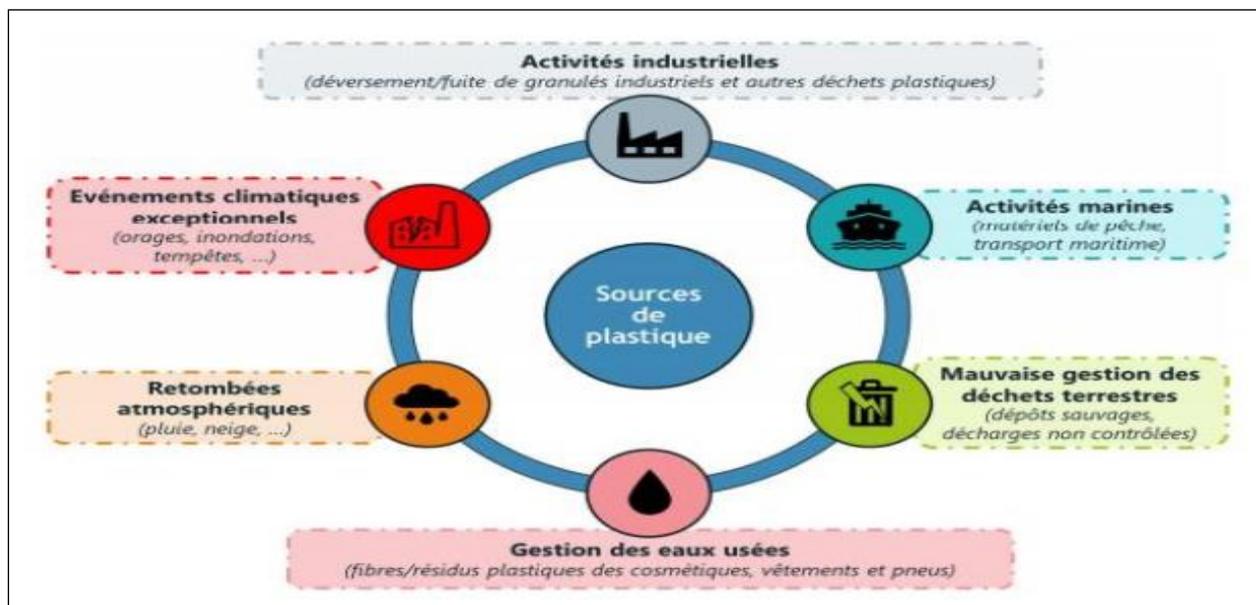


Figure 3 : Illustration des sources de déchets dans les milieux marins (ADEME et al., 2020).

1.3.2 Sources terrestres

Les déchets plastiques rejetés dans l'environnement génèrent de MP (débris plastique de taille <5mm) (Wang et al., 2018) qui représente le principal vecteur de pollution plastique dans les environnements terrestres (Figure 4). Il provient de diverses sources notamment les plastiques utilisés dans l'agriculture (paillis), les produits pharmaceutiques et cosmétiques, l'abrasion des pneus, les industries de textiles (microfibres), les boues d'épuration et l'élimination inadéquate des déchets plastiques (Rai et al., 2023).

Étant donné que la majeure partie de la production, de l'utilisation et du rejet des plastiques a lieu sur terre, ce qui entraîne l'accumulation de déchets plastiques dans les écosystèmes terrestres. Les macroplastiques ont tendance à s'accumuler dans les zones à forte densité de population ou à activité humaine importante, telles que les zones urbaines, les bords de route et à proximité des installations de traitement des déchets (BARNES et al., 2009).

Concernant les régions rurales, l'utilisation et l'élimination du plastique sont principalement influencées par les pratiques agricoles, connues sous le nom de "plasticulture". Les plastiques durs servent également d'emballage pour divers produits agricoles, ce qui risque d'accroître les déchets macroplastiques en raison de pratiques de gestion des déchets inadéquates. En outre, les plastiques agricoles sont susceptibles de générer de minuscules particules de plastique par le biais de processus tels que la nanotechnologie agricole et la décomposition des enrobages de semences polymères (Briassoulis et al., 2013).

En plus, les activités humaines impliquant la réutilisation et l'élimination des déchets facilitent le mouvement des particules de plastique et déclenchent leur libération dans l'environnement. Par exemple, l'utilisation des boues d'épuration comme conditionneur de sol ou comme engrais dans l'agriculture entraîne la libération de petites particules de plastique contenues dans les boues. Les recherches indiquent que les boues d'épuration contiennent des MP à des niveaux nettement plus élevés que les concentrations naturelles des sols sur lesquels elles sont épandues, et que ces sols peuvent retenir les MP pendant une période pouvant aller jusqu'à 15 ans (Accinelli *et al.*, 2019).

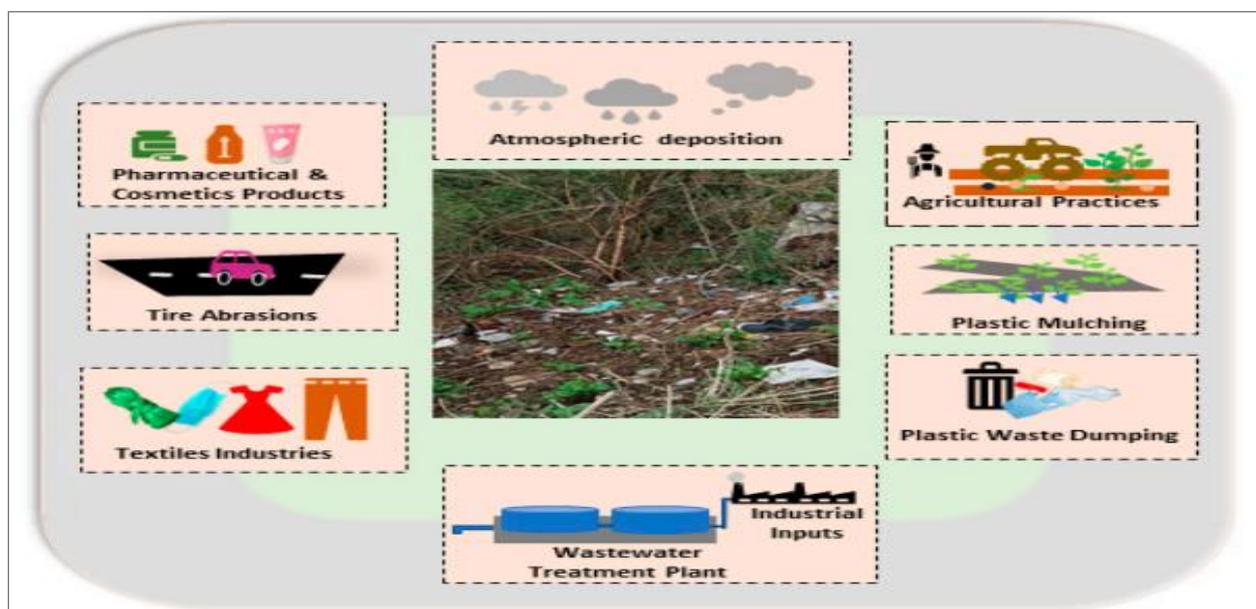


Figure 4: Sources potentielles de plastiques et de MP dans le sol (Rai *et al.*, 2023).

1.3.3 Sources de plastique dans l'air

Quant aux sources de plastiques dans l'air, l'incinération en plein champ de déchets plastiques constitue une menace importante pour la qualité de l'air. En général, les déchets solides municipaux, qui contiennent environ 12 % de plastique, sont brûlés dans de tels cas. Ce processus libère dans l'air des gaz nocifs tels que les dioxines, les furanes, le mercure et les biphényles polychlorés. En outre, la combustion du PVC émet des halogènes dangereux, contribuant à la pollution de l'air et exacerbant le changement climatique. Le rejet de ces substances toxiques présente des risques pour la végétation, la santé humaine et animale, ainsi que pour l'environnement dans son ensemble (Verma *et al.*, 2016).

Dans les zones urbaines, les particules MP s'accumulent dans le sol et la poussière des routes. Les matériaux polymères légers peuvent être facilement soulevés dans l'air par le vent et les mouvements de la circulation, en particulier ceux des véhicules (Abbasi *et al.*, 2018). De ce

fait, l'usure des pneus de voiture contribue de manière significative à la pollution atmosphérique par les MP en raison de l'abrasion mécanique. Aux Pays-Bas, environ 17 000 tonnes de caoutchouc usé pénètrent chaque année dans l'environnement (**Verschoor, 2014**), tandis qu'en Allemagne, les émissions peuvent atteindre 92 594 tonnes par an. À l'échelle mondiale, les émissions moyennes par habitant dues à l'usure des pneus s'élèvent à 0,81 kilogramme par an (**Kole et al., 2017**).

De plus, les textiles synthétiques contribuent également aux MP en suspension dans l'air. Lors du port ou du séchage des vêtements, de petites fibres peuvent être émises dans l'atmosphère. De même, les fibres provenant d'articles tels que les tapis et les rideaux peuvent également pénétrer dans l'air lors de leur utilisation. On estime qu'un seul vêtement peut libérer environ 1900 fibres par lavage (**Browne et al., 2011**).

Les imprimantes 3D, en particulier celles qui utilisent le modèle de dépôt par fusion (FDM), représentent une autre source importante de particules MP en suspension dans l'air. Ces imprimantes utilisent généralement des filaments tels que l'acrylonitrile butadiène styrène (ABS), l'acide polylactique (PLA), le polyamide (nylon) et le PET (**Amato-Lourenço et al., 2020**). L'émission se produit au cours du processus d'impression, selon une étude les concentrations de particules peuvent atteindre jusqu'à 106 particules/cm³ avec des tailles moyennes de particules allant de 20 à 40 nm, lorsqu'une imprimante 3D FDM utilisant des filaments ABS fonctionnait dans une chambre d'essai contrôlée (**Zhang et al., 2017**).

Finalement, diverses autres sources de MP dans l'air extérieur ont été identifiées, notamment les pneus d'avions, les surfaces de gazon artificiel, l'usure des freins, les marquages en thermoplastique sur les routes, les activités de construction, les décharges, les émissions industrielles et les échappements des sècheuses à tambour. Cependant, leur contribution relative à la pollution MP n'a pas encore été clairement définie (**Dris et al., 2017**).

1.4 Impacts de la pollution plastique

1.4.1 Impacts sur la faune

Les débris plastiques constituent une menace importante pour les écosystèmes terrestres et marins, et ont un impact sur la faune par le biais de trois voies principales : l'enchevêtrement, l'ingestion et l'interaction (**Watts et al., 2023**).

- L'enchevêtrement se produit lorsque les animaux marins sont pris au piège, coincés ou restreints par des débris plastiques, qui proviennent souvent d'articles tels que des cordes en plastique, des filets et des engins de pêche mis au rebut. Ce phénomène a

touché un large éventail d'espèces, dont environ 89 espèces de poissons, plus des deux tiers des espèces de phoques, 92 espèces d'invertébrés, soit un total de 344 espèces à ce jour.

- L'ingestion englobe la consommation accidentelle, délibérée ou indirecte de plastique par les espèces proies, ce qui affecte considérablement leur bien-être. L'ingestion de plastique entraîne de graves problèmes de santé tels que la perforation de l'intestin, des lésions ulcéreuses et la rupture de l'estomac, ce qui peut entraîner la mort. Ce fait a été observé chez au moins 233 espèces marines, dont six espèces de vertébrés et 92 espèces de poissons.
- L'interaction implique l'entrave, la collision, le grattage ou l'utilisation du plastique en tant que surface, ce qui a un impact à la fois sur l'organisme lui-même et sur son habitat ou ses écosystèmes environnants (**Watts et al., 2023**).

1.4.2 Impacts sur la flore

Les plastiques et MP sont considérés comme des contaminants émergents suscitant un intérêt croissant à travers le monde. Si leur présence et leur potentielle toxicité dans les écosystèmes aquatiques ont fait l'objet de recherches et d'études intensives au cours de la dernière décennie, les écosystèmes du sol ont reçu comparativement moins d'attention (**Zhu et al., 2019**).

Néanmoins, quelques études ont montré que les débris plastiques ont la capacité d'être absorbés par les racines des plantes et de se déplacer ensuite vers d'autres tissus par transpiration. Cette interaction entre les particules de plastique et les plantes ne déclenche pas seulement un stress oxydatif, mais affecte également divers aspects de la physiologie des plantes (photosynthèse ...).

De plus, les premières observations indiquent que la contamination par les MP et nanoplastiques peut affecter les plantes aquatiques, en influençant des paramètres tels que la longueur des pousses et des racines (**Chen et al., 2022**).

1.4.3 Impacts socio-économiques

a- Impacts sociaux

Les océans jouent un rôle crucial en fournissant des services écosystémiques essentiels à l'humanité. Par conséquent, la diminution de ces services peut avoir des répercussions néfastes sur la prospérité des sociétés humaines, en particulier celles vivant sur les côtes. Parmi les divers impacts des déchets plastiques sur les milieux marins, les auteurs identifient

plusieurs services socio-culturels principaux affectés, notamment leur contribution à la production alimentaire, leur importance en tant qu'héritage culturel et leur utilisation physique pour des activités telles que les loisirs et le tourisme.

Pour le premier, les déchets plastiques impactent surtout la pêche et l'aquaculture qui sont exposées à des risques majeurs en termes de productivité, de durabilité, de rentabilité et de sécurité. Ce qui rend vulnérable une grande partie de la population mondiale qui en dépendent.

Quant au second, l'impact de la pollution plastique sur l'héritage renvoie aux effets négatifs sur les animaux marins charismatiques tels que les baleines, les tortues, les dauphins et les oiseaux marins qui revêtent une importance culturelle et émotionnelle pour des individus.

Finalement, les déchets plastiques en mer peuvent directement affecter les activités de loisirs et de tourisme ce qui peut se traduire par l'évitement de certains sites ou par une réduction du temps passé par les visiteurs sur ces sites (**Beaumont et al., 2019; ADEME et al., 2020**).

b-Impacts économiques

Les conséquences économiques de la pollution des environnements aquatiques par les débris plastiques restent largement méconnues. Le Programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE) estime l'impact sur les océans à 8 milliards de dollars par an, mais cette estimation pourrait être au-dessous de la réalité étant donné le niveau de pollution actuel. Les recherches identifient des impacts économiques liés à :

- La diminution du tourisme, due à la pollution visuelle causée par la présence de débris plastiques sur les plages, les cours d'eau, les estuaires, etc.
- La pêche qui subit une baisse de rendement due à la diminution de la demande et de l'offre causée par la pollution plastique.
- L'impact sur la navigation maritime comprend les risques de collisions entre les navires et les débris plastiques, mettant en danger les équipages et endommageant les équipements. La Coopération économique pour l'Asie-Pacifique (APEC) estime que les dommages causés à la navigation commerciale par les déchets plastiques s'élèvent à 297 millions de dollars (US) par an (**ADEME et al., 2020**).

1.4.4 Effets sur la santé humaine

a-Principales voies d'exposition

Les MP pénètrent dans le corps humain par exposition directe dans l'environnement, soit par ingestion, soit par inhalation. Selon une étude réalisée en 2017 qui constitue le premier examen complet de la contamination de l'eau potable par les plastiques à l'échelle mondiale, 83 % des échantillons d'eau du robinet prélevés dans le monde contenaient des polluants plastiques (**Obebe & Adamu, 2020**). En 2018, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a publié des conclusions alarmantes révélant que 90 % des échantillons d'eau en bouteille testés contenaient des MP. Sur 259 échantillons examinés, seuls 17 se sont révélés exempts de contamination plastique. En outre, notre exposition aux plastiques ne se limite pas à l'eau potable, ils sont également présents dans nos vêtements, 70 % des tissus étant synthétiques, ce qui présente des risques pour la santé de notre peau. De plus, notre consommation de produits de la mer n'est pas épargnée, puisque des chercheurs ont détecté des MP dans 114 espèces marines. Environ un tiers de ces espèces contaminées finissent par se retrouver dans nos assiettes, ce qui souligne l'omniprésence des plastiques dans notre environnement et notre chaîne alimentaire. Enfin les substances chimiques nocives émises lors de l'incinération de plastique en plein air sont susceptibles d'être inhaler et provoquer de graves problèmes respiratoires, tant pour les humains que pour les animaux (**Almroth & Eggert, 2019**).

b-Potentiels effets

Actuellement, il existe encore peu de connaissances sur l'impact des MP sur la santé des consommateurs, et plusieurs questions demeurent en suspens. Ces questions portent sur divers aspects : la composition des microplastiques, comprenant principalement des polymères et des additifs comme les phtalates, le bisphénol A, les retardateurs de flamme bromés et les nonylphénols, qui sont connus pour leur toxicité ; le transport de contaminants chimiques et biologiques par les MP en raison de leurs propriétés d'adsorption ; la possibilité de translocation en fonction de la taille des particules, notamment pour les nanoplastiques qui pourraient se retrouver dans tous les organes ; et enfin, les interactions des plastiques dans le système digestif (**Galgani et al., 2020**).

Néanmoins, le plastique est reconnu pour sa capacité à perturber la croissance hormonale et pour contenir des substances cancérigènes. Les produits chimiques utilisés dans la production de matières premières plastiques sont associés à divers effets néfastes sur la santé humaine, notamment des troubles neurologiques, des cancers, des problèmes de reproduction, une

toxicité pour le développement, une suppression du système immunitaire et des malformations congénitales.

De plus, l'exposition aux substances toxiques libérées au cours du processus de conversion des combustibles fossiles en résines plastiques peut entraîner divers problèmes de santé car, une fois que les petites particules de plastique pénètrent dans notre organisme Il peut en résulter divers effets sur la santé, tels que le stress oxydatif, l'inflammation, la génotoxicité, l'apoptose, la nécrose, les vertiges et la perte de conscience. Ces effets sont associés à une série de conséquences négatives pour la santé, notamment le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'inflammation chronique, les maladies inflammatoires de l'intestin, l'arthrite rhumatoïde, les maladies auto-immunes, les maladies neurodégénératives et les accidents vasculaires cérébraux (Obebe & Adamu, 2020). La **figure 5** illustre globalement comment le plastique peut agir sur l'homme et l'environnement.

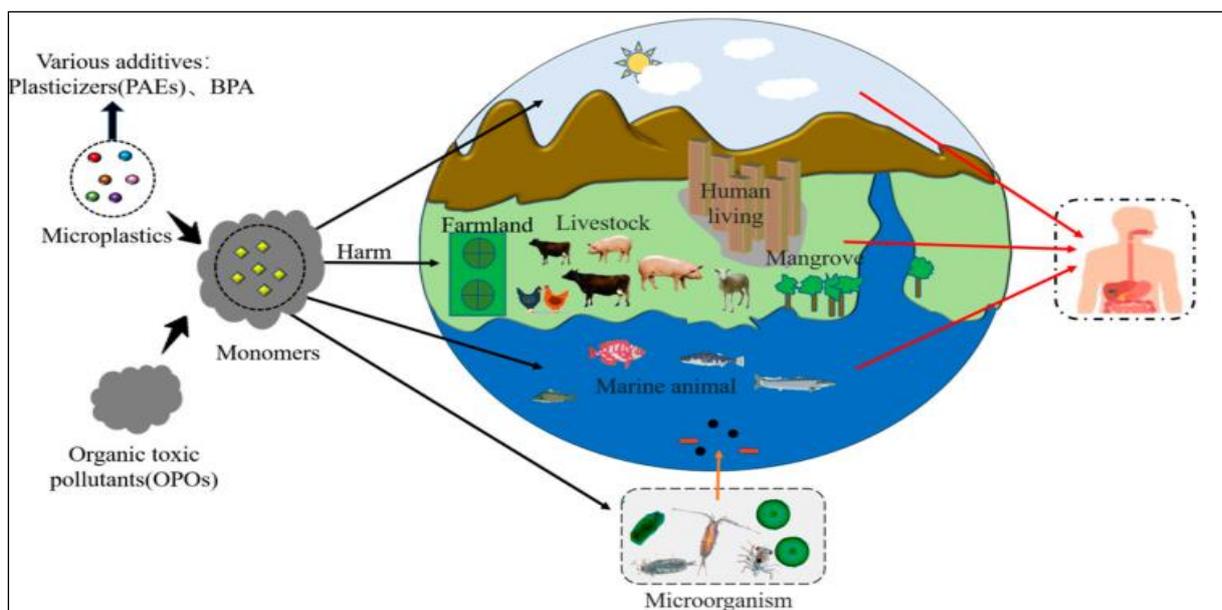


Figure 5. Comment les additifs, les colorants et les polluants organiques contenus dans les plastiques peuvent avoir des effets négatifs sur l'homme et sur l'environnement (Cai et al., 2023).

1.5 Techniques actuelles d'élimination de déchets plastiques

De nos jours, les techniques les plus utilisées pour éliminer les déchets plastiques sont entre autres la mise en décharge, l'incinération et le recyclage mécanique et chimique (Peng et al., 2018; Ru et al., 2020).

- **La mise en décharge** ; Elle représente la technique prépondérante pour l'élimination des déchets plastiques dans la plupart des pays, notamment les pays pauvres car elle est très simple et moins coûteuse. En revanche, la surface occupée par ces déchets plastiques est non négligeable.
- **L'incinération** ; permet l'élimination des déchets plastiques tout en diminuant la demande de mise en décharge et en fournissant de l'énergie thermique. Cependant, cette technique génère des polluants secondaires tout au long du processus à savoir la dioxine, le monoxyde de carbone et l'oxyde d'azote qui ont un impact néfaste sur l'environnement.
- **Le recyclage mécanique** ; au cours de cette technique, un nombre important de matériaux sont abimés au bout de plusieurs cycles de traitement, ce qui diminue leur intérêt économique. Malgré tout il demeure la technique dominante pour la valorisation des déchets thermoplastiques.
- **Le recyclage chimique** ; le recyclage chimique permet d'obtenir des monomères et quelques composés provenant des déchets plastiques mais avec un rendement en relation avec les caractéristiques des procédures ainsi que l'efficacité des catalyseurs (**Enyoh et al., 2022**).

2 La dégradation des matières plastiques

2.1 Dégradation abiotique

La dégradation abiotique précède et facilite la biodégradation des plastiques dans l'environnement. Elle englobe plusieurs processus clés, principalement la photodégradation, la dégradation thermique et la dégradation mécanique (**Zhang et al., 2021**).

La photodégradation représente la principale voie de décomposition des plastiques dans les environnements naturels. En effet, l'énergie fournie par la lumière du soleil qui contient des rayons UV est capable de provoquer diverses réactions au sein de la structure du polymère, notamment la scission des chaînes, la réticulation et des réactions d'oxydation secondaires, facilitées par la génération et le transfert de radicaux libres (**Bracco et al., 2018**).

La dégradation thermique est la détérioration des polymères due à l'exposition à des températures élevées, généralement en présence d'oxygène. Dans de telles conditions, la chaleur absorbée par le polymère peut conduire à la rupture de longues chaînes de polymère

grâce à des réactions thermo-oxydantes qui entraîne la génération de radicaux capables de franchir la barrière énergétique des polymères (**Pirsaheb et al., 2020**).

La dégradation mécanique décrit la dégradation des polymères causée par les forces mécaniques de l'environnement. Il s'agit notamment des cas où les plastiques sont soumis à l'abrasion des rochers et du sable sous l'effet du vent et des vagues. En outre, le processus cyclique de congélation et de décongélation dans des conditions sous-marines peut contribuer à la dégradation mécanique des polymères (**Pal et al., 2018**).

2.2 Dégradation biotique ou Biodégradation

L'accumulation de déchets plastiques au sein de nos écosystèmes durant ces 100 dernières années a poussé les scientifiques à explorer le monde des microorganismes qui s'avèrent avoir développé des capacités pour décomposer les déchets plastiques. Ces investigations ont permis la découverte de nombreux micro-organismes, tels que des champignons et des bactéries qui possèdent des enzymes capables de dégrader le polyester. Ces organismes utilisent le plastique comme principale source de carbone pour survivre, ce qui leur permet de se développer sur les déchets plastiques dans des conditions optimales propices à leur croissance rapide (**Pal et al., 2018 ; Kaushal et al., 2021**).

Cependant, il est largement reconnu que dans les conditions environnementales, la biodégradation des plastiques par les micro-organismes est particulièrement lente, pouvant prendre des mois ou plus, sauf dans le cas du PET amorphe. De plus, l'activité microbienne peut être physiquement limitée par le substrat plastique en raison de son insolubilité dans les environnements aqueux, de son poids moléculaire élevé et de la libération potentielle de produits chimiques dangereux lors de la dégradation (**Howard et al., 2023**).

Le paradigme dominant de la biodégradation tourne autour du concept de l'activité microbienne comme moteur de la dégradation dans l'environnement. Par conséquent, la voie de la biodégradation des plastiques, principalement médiée par les micro-organismes, est généralement classée en quatre processus : biodétérioration, biofragmentation, absorption microbiologique et biominéralisation (**Figure 6**) (**Sharma & Neelam, 2023**).

Selon cette théorie, les enzymes microbiennes sont d'abord libérées dans l'environnement, initiant la biodétérioration en interagissant directement avec les surfaces en plastique. Ensuite, la biofragmentation se produit, entraînant la libération d'oligomères par dépolymérisation du plastique. Les micro-organismes absorbent ces oligomères plastiques à travers leurs parois cellulaires et leurs membranes, où des enzymes intracellulaires les

dégradent en monomères. Les microbes utilisent ensuite ces monomères pour produire de la biomasse cellulaire. Finalement, la biomasse est entièrement métabolisée par les microbes, se biominéralisant en dioxyde de carbone (CO₂), en méthane (CH₄) et en eau (H₂O) en fonction de la disponibilité de l'oxygène (Kjeldsen *et al.*, 2019; Montazer *et al.*, 2020 ; Montazer *et al.*, 2021).

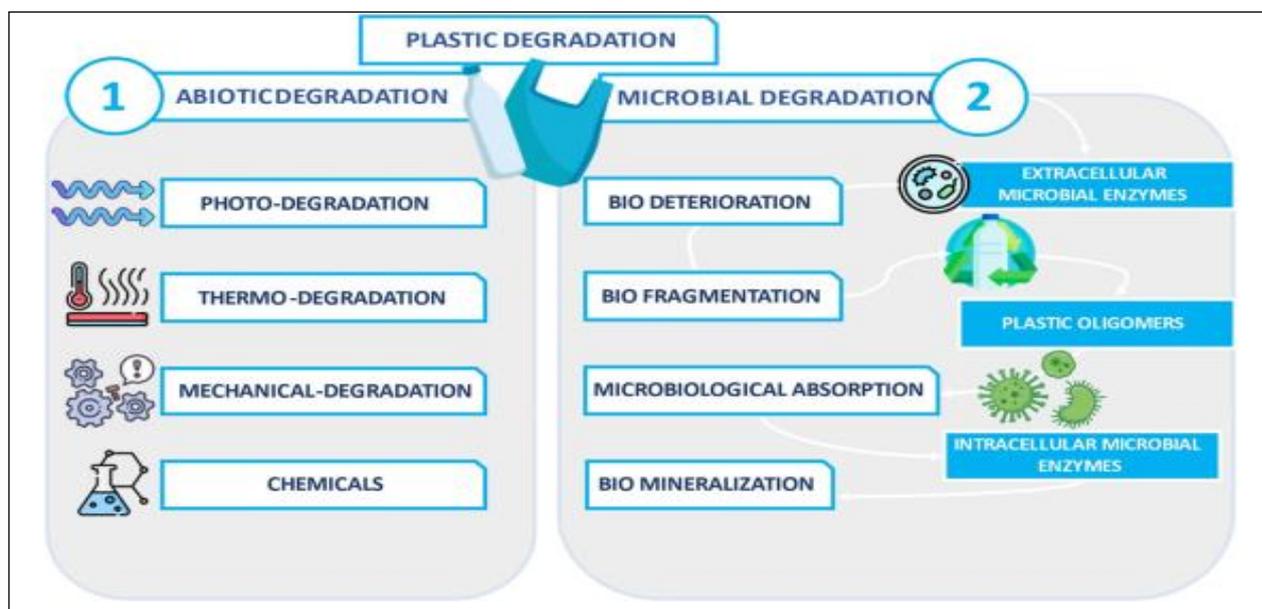


Figure 6. Paradigme actuel de la dégradation microbienne des polymères plastiques (Bochi *et al.*, 2023).

2.2.1 Enzymes impliquées dans la biodégradation du plastique

Les enzymes servent de catalyseurs biologiques, stimulant les réactions en agissant sur des substrats spécifiques et en accélérant la conversion de ces substrats en produits de valeur. L'inquiétude croissante suscitée par la pollution plastique a amené à s'intéresser à la manière dont les micro-organismes dégradent ces polymères durables (Kaushal *et al.*, 2021). Les microbes utilisent principalement des enzymes, extracellulaires ou intracellulaires, pour décomposer les chaînes de polymères, les assimilant finalement dans leurs cellules et libérant des sous-produits métaboliques tels que le CO₂, le H₂O, le CH₄ et le N₂. Ce processus de dégradation enzymatique est au cœur de la décomposition microbienne des plastiques et offre des solutions potentielles pour atténuer la pollution de l'environnement (Amobonye *et al.*, 2021).

De nombreuses enzymes provenant de divers organismes, notamment des algues, des actinomycètes, des bactéries et des champignons, ont été identifiées pour leur capacité à catalyser la dégradation de divers types de matériaux plastiques (**Figure 7**).

Toutes les enzymes responsables de la dégradation des polymères plastiques entrent dans la catégorie des "hydrolases". Ces enzymes catalysent des réactions où les liaisons chimiques du substrat sont rompues en présence d'eau.

La cutinase, la lipase et la PETase font partie des principales enzymes identifiées dans les recherches récentes pour leur rôle dans la dégradation des plastiques. Ces enzymes fonctionnent de manière similaire en catalysant le clivage hydrolytique des longues chaînes de carbone dans les polymères plastiques. Ensuite, les sous-unités plus petites qui en résultent sont assimilées dans les cellules microbiennes pour une dégradation enzymatique plus poussée, libérant finalement des produits métaboliques (**Tokiwa et al., 1976; Tokiwa et al., 1977**).

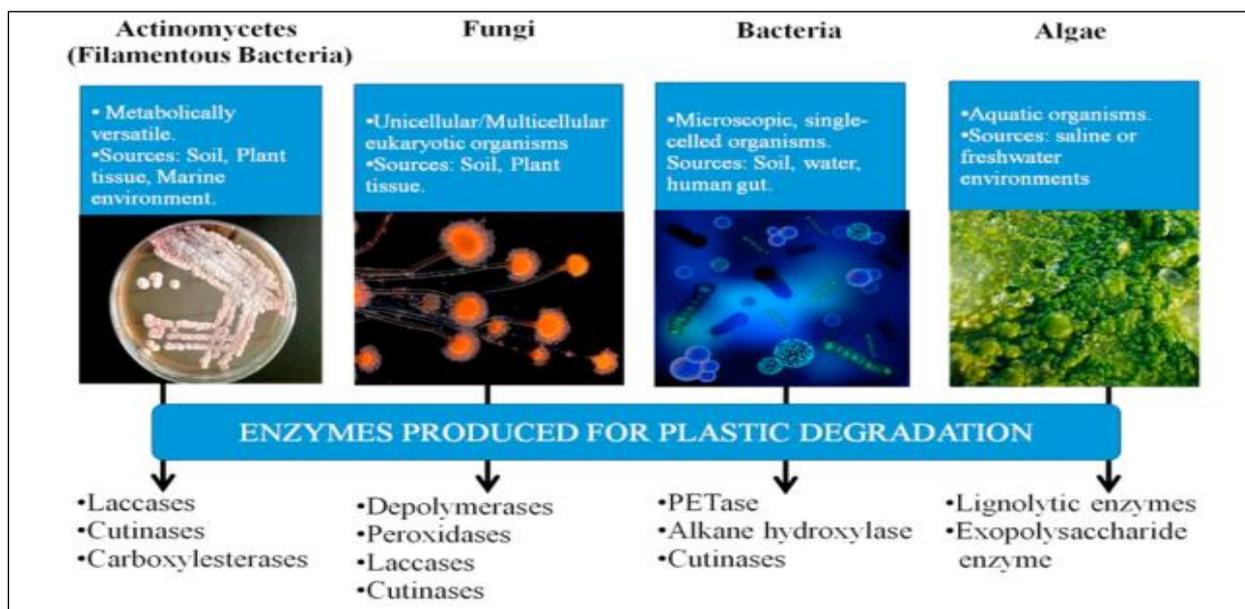


Figure 7. Enzymes identifiées pour la dégradation du plastique provenant de différents micro-organismes (**Kaushal et al., 2021**).

Parmi ces enzymes, la PETase fait partie des enzymes les mieux étudiées car capable d'hydrolyser spécifiquement le PET qui est largement utilisé dans les produits en plastique au niveau mondial. 2016 fut l'année de découverte de la nouvelle bactérie appelée *Ideonella sakaiensis* 201-F6 par un groupe de chercheur japonais, cette bactérie présente la capacité remarquable d'utiliser le PET comme source principale d'énergie et de carbone (**Yoshida et**

al., 2016). En effet, lorsqu'elle est cultivée sur du PET, *Ideonella sakaiensis* 201-F6 sécrète deux enzymes essentielles à la dégradation du PET et qui agissent en synergie (Yoshida et *al.*, 2016). La première enzyme, la PETase, catalyse la dégradation du PET en acide mono (2-hydroxyéthyl) téréphtalique (MHET). La MHETase dégrade ensuite le MHET en téréphtalate (TPA) et en éthylène glycol (EG) (Figure 8). Ces sous-produits peuvent ensuite servir de sources de carbone pour d'autres métabolismes bactériens (Tomasello et *al.*, 2020).

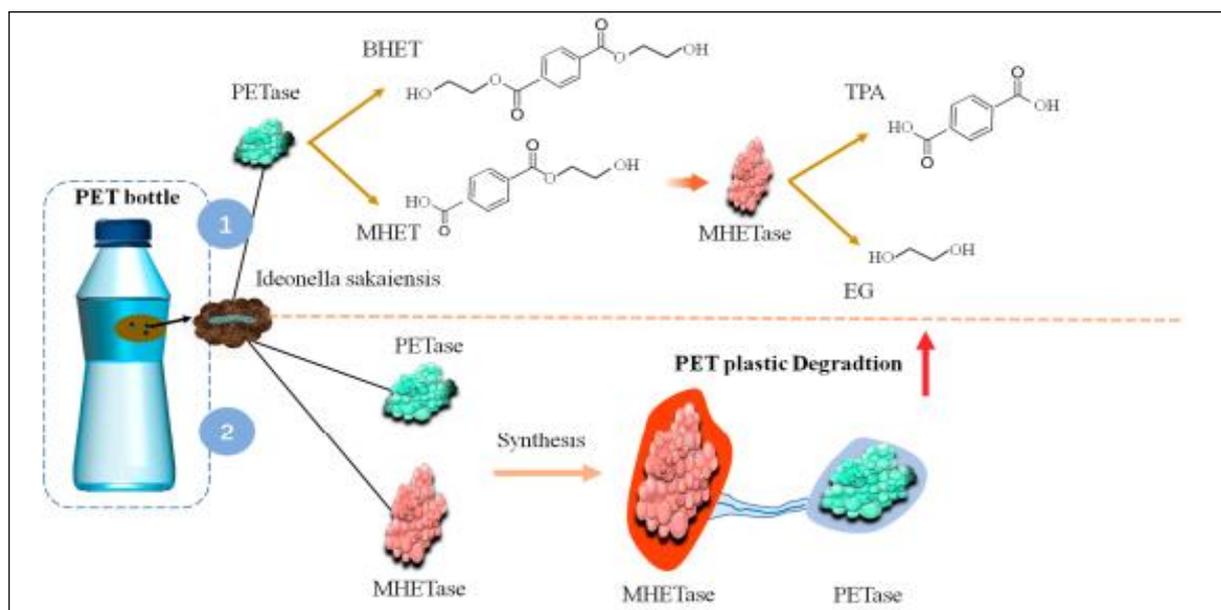


Figure 8. Les enzymes impliquées dans la dégradation du PET sécrétées par *Ideonella sakaiensis* (Cai et *al.*, 2023).

2.3 Dégradation du plastique par les insectes

Les insectes, réputés pour leur remarquable diversité, offrent une pléthore de possibilités que l'homme étudie activement. De nombreuses espèces telles que le ver à soie, la mouche soldat noire et *Galleria mellonella* (la grande teigne), parmi d'autres espèces importantes pour l'agriculture, sont largement utilisées dans les études biotechnologiques. L'exploration de la capacité des insectes à dégrader le plastique est particulièrement intéressante, car elle constitue une nouvelle voie pour relever les défis de la pollution plastique de l'environnement. Parmi les insectes, le lépidoptère *G. mellonella* est l'une des espèces les plus étudiées et les plus prometteuses à cet égard (Kesti & Shivasharana, 2018).

2.3.1 Dégradation du plastique par *Galleria mellonella*

En effet, Bombelli et al. (2017) ont été les premiers à confirmer la capacité des larves de *G. mellonella* à dégrader le plastique après avoir observé que les larves laissées en contact avec

un sac à provisions commercial étaient capables de créer des trous dans le matériau plastique PE. Dès lors, l'intérêt de la communauté scientifique pour cette espèce s'est de plus en plus accru, et de nombreux articles ont été publiés sur la dégradation des matières plastiques par *G. mellonella* (**Riudavets et al., 2007**).

2.3.2 *Galleria mellonella*

La fausse teigne *G. mellonella*, également connue sous le nom de fausse teigne des nids d'abeilles, est un invertébré appartenant à la famille des pyralidés dans l'ordre des lépidoptères. Connu comme un ravageur très répandu des colonies d'abeilles, *G. mellonella* s'est établie sur presque tous les continents, à l'exception de l'Antarctique. Suivant un cycle de vie holométabolique typique, *G. mellonella* passe par quatre stades de développement : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte. C'est au cours du stade larvaire, caractérisé par une consommation vorace des produits de la ruche, que les chercheurs ont observé la capacité de *G. mellonella* à ingérer et à dégrader les polymères plastiques (**Kwadha et al., 2017**).

2.3.3 Paradigme et enzyme de *Galleria mellonella*

Sur la base du paradigme (**Figure 9**) établi par la recherche sur les micro-organismes, la dégradation du plastique par les insectes a généralement été attribuée aux bactéries ou aux champignons résidant dans l'intestin de l'insecte. Par conséquent, alors que certaines recherches indiquent que l'inhibition du microbiote entraîne une réduction de la dégradation, d'autres démontre que les larves de *G. mellonella* peuvent dégrader les hydrocarbures à longue chaîne de la cire de manière autonome, mais que le microbiote intestinal sert de dégradeur secondaire après la production d'acides gras à longue chaîne (**Boschi et al., 2023**).

Récemment, des chercheurs ont identifié dans la salive des larves de la fausse teigne de la cire des enzymes capables de dégrader le PE sans aucun traitement au préalable, ce qui a constitué un tournant dans le domaine (**Sanluis-Verdes et al., 2022 ; Spinola-Amilibia et al., 2023**). Ces enzymes appartiennent à la famille des hexamérines qui fait partie de la superfamille des hémocyanines qui sont des transporteurs d'oxygène et des phénoloxydases. De manière intrigante, ces protéines remplissent généralement des fonctions non enzymatiques au cours des premiers stades de l'insecte, principalement en tant que protéines de stockage. L'activité enzymatique inattendue de ces protéines salivaires de *G. mellonella* implique une adaptation évolutive potentielle pour développer des capacités de dégradation des hydrocarbures à longue chaîne (**Tian et al., 2021**). Parmi ces protéines, Demetra, Ceres et Cora ont démontré leur capacité à oxyder le PE, tandis que Cibeles agit comme une protéine

partenaire de Demetra au sein d'un complexe hexamérique décrit comme un dimère de trimère Cibeles-Demetra, mais ne possède pas d'activité de dégradation du PE de manière indépendante. La richesse de ce hétérocomplexe en acides aminés aromatiques lui permet d'être classé comme un type particulier d'hexamérine appelée Arylphorine (Bertocchini & Arias, 2023). Cette découverte marque une avancée significative dans la biorestauration potentielle du PE, un plastique dont la production annuelle mondiale est la plus élevée depuis plusieurs décennies (Spinola-Amilibia et al., 2023; Young et al., 2024).

Cependant on ne sait toujours pas exactement quel processus moléculaire est responsable de cette oxydation enzymatique et plusieurs questions sur leur fonctionnement, l'emplacement de leur site catalytique, leur évolution restent sans réponse. Ce qui a attisé notre curiosité et nous a incités à mener cette étude dans ce domaine de recherche en explorant l'interaction entre l'enzyme Demetra et certains composés plastiques à l'aide des approches *in silico*.

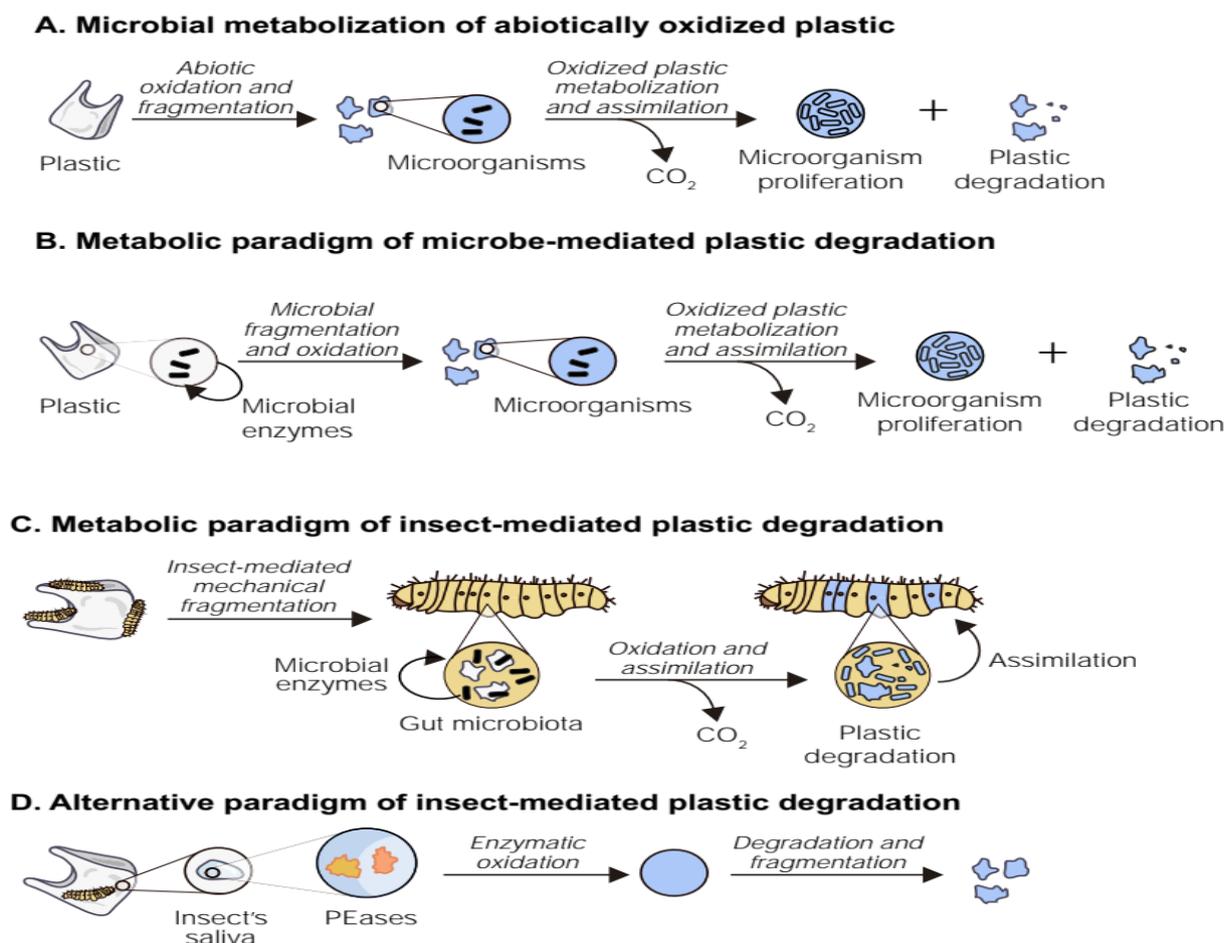


Figure 9. Paradigmes complet de dégradation du plastique. (A) Le devenir des plastiques dans l'environnement. (B) Le paradigme métabolique de la dégradation microbienne des plastiques. (C) La vision actuelle de la dégradation du plastique par les

insectes. (D) Le nouveau paradigme de dégradation des plastiques par les insectes (**Bertocchini & Arias, 2023**).

A decorative border resembling a scroll, with a brown outline and grey circular accents at the corners, framing the text.

Partie II

Partie expérimentale

A decorative border in a light brown color, resembling a scroll or a ribbon, frames the text. It has rounded corners and small circular details at the top and bottom edges.

Matériel et méthodes

1 Matériels

1.1 Logiciels utilisés

1.1.1 UCSF Chimera 1.17.3

UCSF Chimera est un programme de graphisme moléculaire conçu pour la visualisation et l'analyse de la structure moléculaire, ainsi que des données associées telles que les cartes de densité, les trajectoires et les alignements de séquences (**Figure 10**). Il est à la fois simple, puissant et est également doté d'une documentation complète. Ce logiciel est accessible gratuitement à des fins non commerciales et prend en charge plusieurs plateformes, notamment Microsoft Windows, Apple Mac OS X et Linux (**Trott & Olson, 2010**). Vous pouvez y accéder à l'adresse suivante : <http://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/>

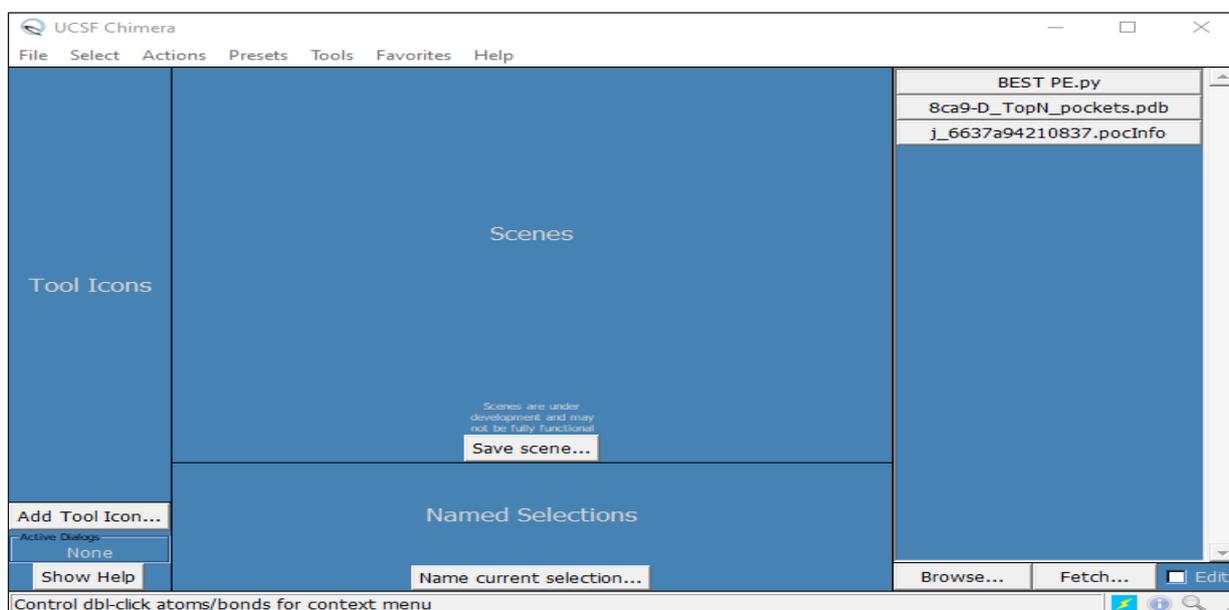


Figure 10. Interface du logiciel UCSF Chimera.

1.1.2 AutoDock Vina 1.1.2

Elaboré par l'Université de Californie à San Diego, AutoDock Vina version 1.1.2 est un programme de simulation de docking moléculaire qui vise à anticiper les interactions entre une petite molécule et une protéine cible (**Figure 11**) (**Trott & Olson, 2010**). C'est un logiciel open-source disponible gratuitement sur : <http://vina.scripps.edu>

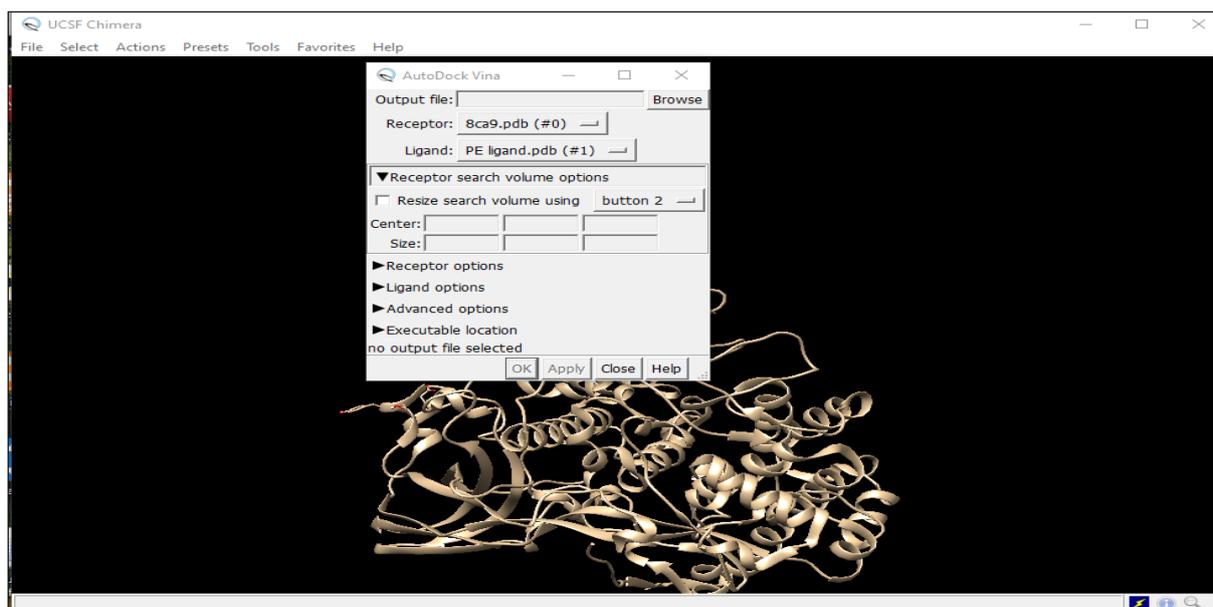


Figure 11. Interface d'accès à l'AutoDock Vina via UCSF Chimera.

1.1.3 Avogadro 1.2.0

Avogadro est une plateforme complète pour la construction, la visualisation et l'analyse sémantique des produits chimiques. Il offre aux utilisateurs un constructeur intuitif, une intégration transparente avec des bases de données telles que PubChem et la Protein Data Bank, ainsi que la possibilité d'extraire des données chimiques à partir de différents formats, y compris les résultats de la chimie computationnelle (**Figure 12**) (**Hanwell et al., 2012**). Il est accessible gratuitement sous une licence open-source via <http://avogadro.openmolecules.net>.

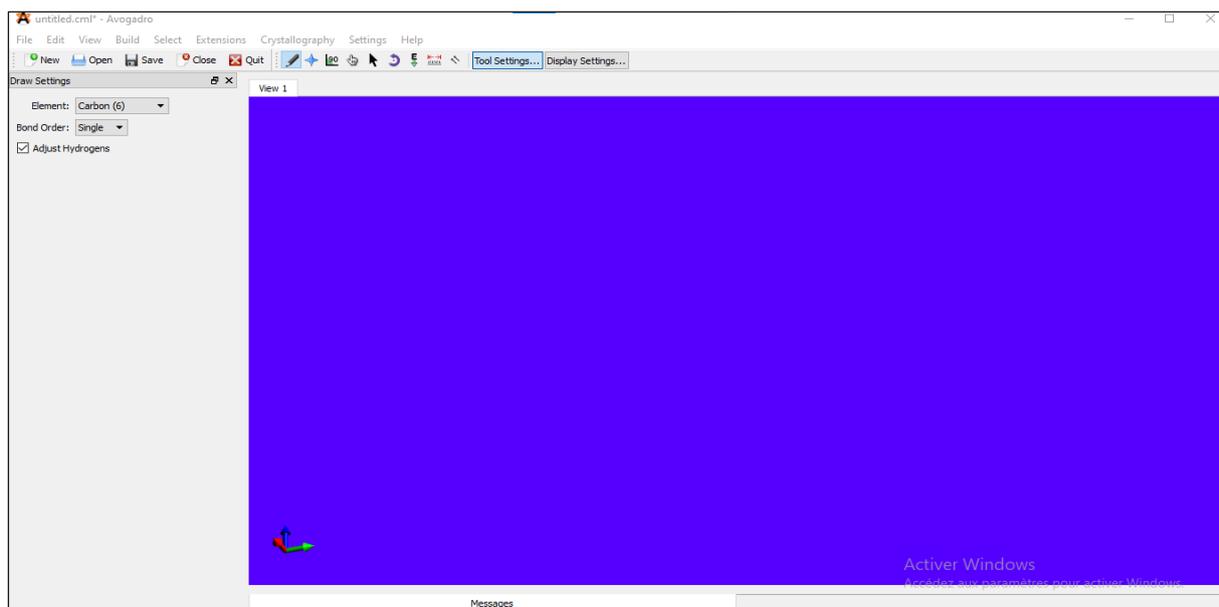


Figure 12. Interface du logiciel Avogadro.

1.1.4 Discovery Studio Visualizer 2024

Discovery Studio (DSV) est un logiciel complet conçu pour les chimistes et les biologistes computationnels dans le domaine des sciences de la vie. Il simplifie l'analyse des petites et grandes molécules, facilite l'exploration des propriétés moléculaires, permet l'étude de systèmes complexes, aide à l'identification des têtes de série et rationalise les processus d'optimisation des candidats (**Figure 13**) (Sahu, 2013). Il est également un logiciel open-source.

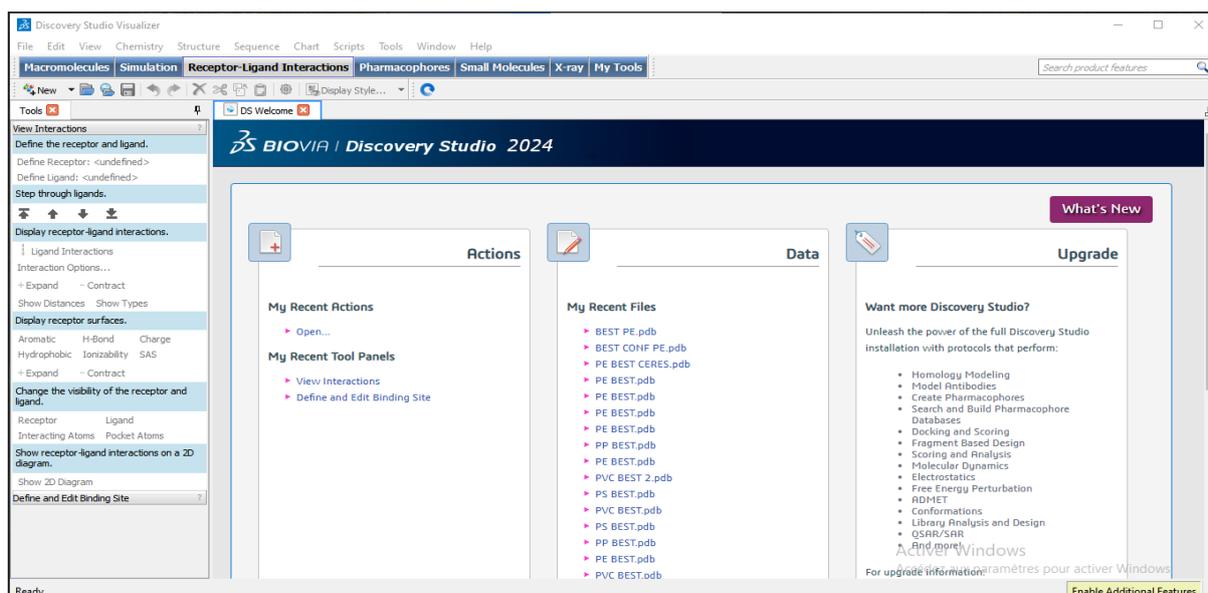


Figure 13. Interface du logiciel Discovery Studio.

1.2 Banque de donnée protéique (PDB)

La banque de données des protéines (PDB) du RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) disponible sur RCSB.org est un portail Web qui offre un accès libre à un référentiel méticuleusement conservé d'environ 200 000 structures 3D de macromolécules biologiques (Protéine, ADN, ARN) déterminées expérimentalement et hébergées dans les archives de la PDB. Cette ressource, largement utilisée par les chercheurs, les éducateurs et les étudiants du monde entier, répond à divers objectifs généraux et d'investigation. Les utilisateurs ont la possibilité d'accéder directement aux structures déposées ou d'utiliser une suite logicielle complète intégrée de manière transparente au portail, facilitant l'interrogation, la visualisation et l'analyse des structures protéiques en 3D (**Figure 14**) (**Bittrich et al., 2023**).

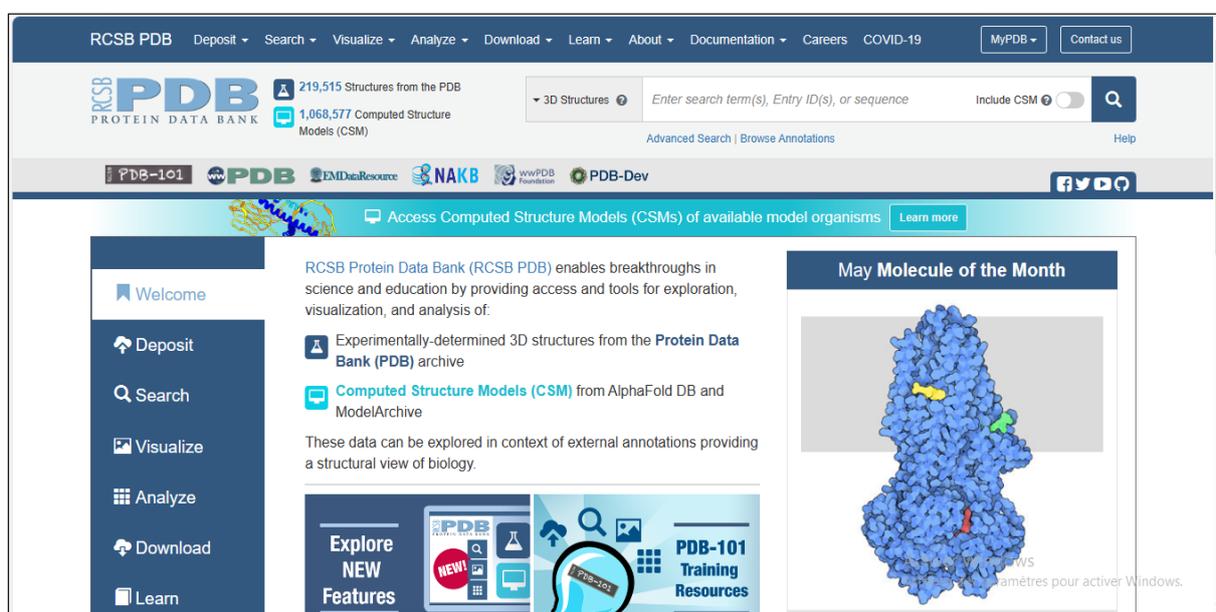


Figure 14. Page d'accueil de la base de données RCSB.

1.3 Les serveurs en ligne

1.3.1 CASTp 3.0

Depuis son lancement en 2003, le serveur Web CASTp (Computed Atlas of Surface Topography of Proteins) offre des outils en ligne pour identifier, tracer et quantifier les caractéristiques géométriques et topologiques des structures protéiques. Utilisant la méthode des formes alpha en géométrie informatique, le serveur identifie les caractéristiques topographiques, mesure la surface et le volume, et calcule les empreintes pour enfin prédire les différents sites de liaison des protéines (**Figure 15**) (**Tian et al., 2018**).

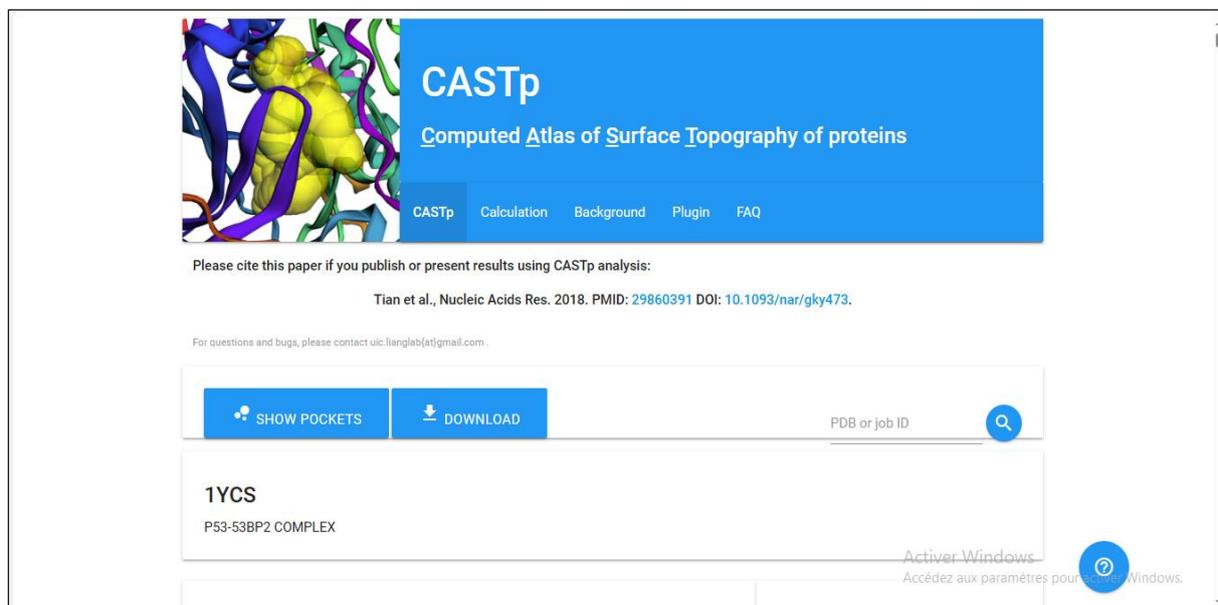


Figure 15. Page d'accueil du serveur CASTp.

1.3.2 POCASA

POCASA est un programme utilisant l'algorithme Roll pour identifier et prédire systématiquement les poches de liaisons des ligands des protéines. Il y parvient grâce à la récente fonctionnalité de détection des poches à l'aide de différentes tailles de sphères de sonde, ce qui rend POCASA adaptable à une variété de ligands et de protéines (**Figure 16**) (**Yu et al., 2010**). Il est accessible gratuitement sous une licence open-source via <https://g6altair.sci.hokudai.ac.jp/g6/service/pocasa/>

POCASA 1.1

It is recommended to read the [manual](#) before trying the web POCASA.

Input as file Aucun fichier n'a été sélectionné
 PDB ID

pdb file which contains protein coordinates

Chain ID
"NULL" (means the first chain) or like:"A", "a,b", "1 2" or "ABC"

Probe radius
The radius (Å) of probe sphere (positive integer)

SPF
Single Point Flag (nonnegative integer less than 28)

PDF
Protein Depth Flag (nonnegative integer less than 28)

Top N
The number of results to show, specify 0 to show all candidates.

grid size 1Å 0.5Å
The size of unit grid.

atom type protein all
The type of atom.

[\[Back\]](#) [\[Laboratory of X-ray structural biology\]](#)

Figure 16. Interface de l'outil Web POCASA.

2 Méthodes :

La figure ci-dessous résume la méthodologie appliquée dans cette expérience (**Figure 17**).

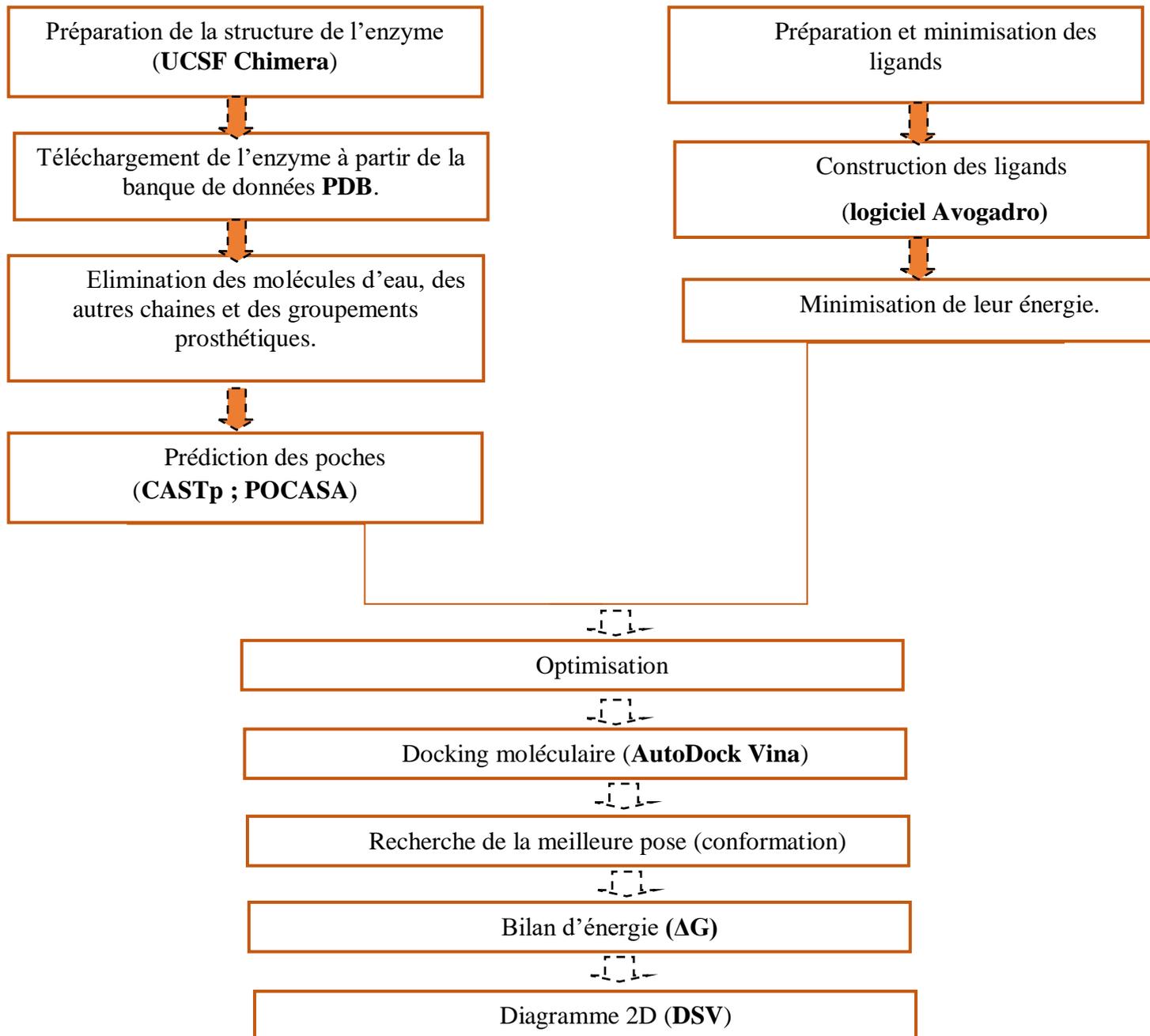


Figure 17. Méthodologie de calcul.

2.1 Identification et préparation de l'enzyme

L'hétérocomplexe Cibeles-Demetra 3:3 de la salive de *Galleria mellonella* constitue l'enzyme cible utilisée dans ce travail et a été identifiée à partir de la littérature. Extraite de la Protein Data Bank (PDB) par le biais du code d'accès (8CA9) (**Tableau 02**), l'enzyme comprend six chaînes organisées en dimères (identiques) de trimère Cibeles-Demetra étiquetées A, B et C (pour Cibeles) et D, E et F (pour Demetra), trois molécules de cuivre ainsi que des glycosylations (**Figure 18**).

Tableau 02 : Les données PDB de l'enzyme cible.

ID PDB	Poids total (KDa)	Résolution (Å)	Méthode
8CA9	513,36	2,29	Microscope Electronique

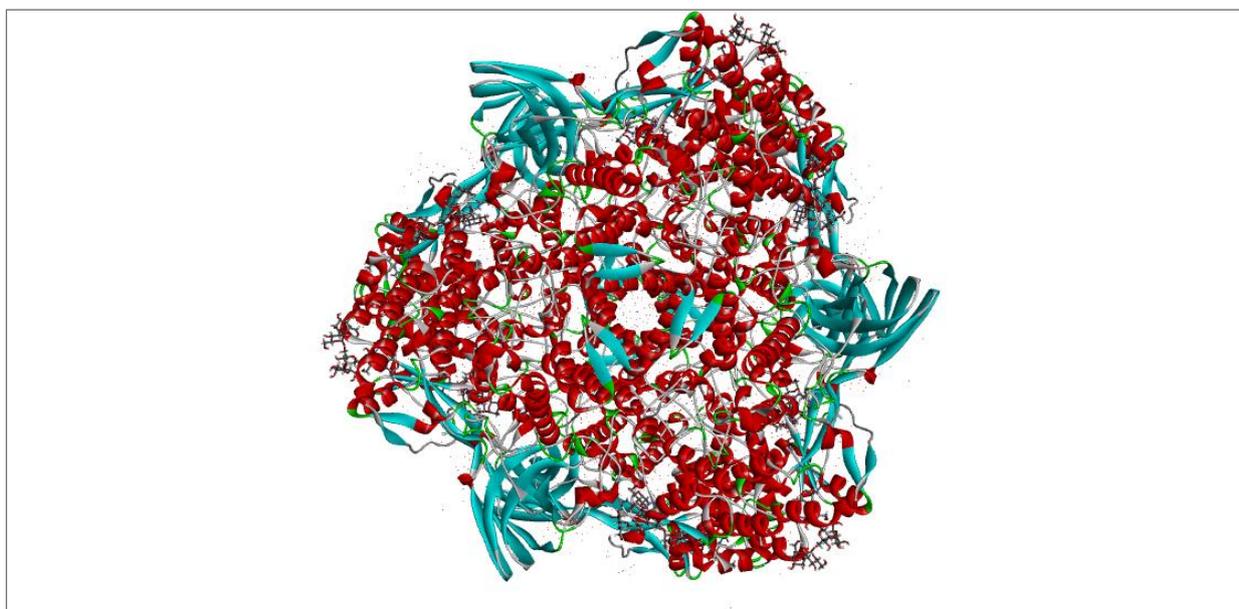


Figure 17. La structure 3D de l'hétérocomplexe 3:3 Cibeles-Demetra.

Après le téléchargement, seule la chaîne D a été spécifiquement gardée et utilisée pour les études d'amarrage moléculaire afin d'améliorer la précision de la liaison du ligand d'une part et du fait de l'absence d'activité du trimère Cibeles d'autre part. Les molécules d'eau cristallographiques et les parties prosthétiques ont été supprimées à l'aide d'UCSF Chimera par l'intermédiaire des étapes suivantes :

- Ouvrir le fichier pdb de la protéine téléchargée ;
- Cliquer sur Select > Residue > All non standard puis Actions > Atoms/Bonds > Delete;

- Cliquer sur Select> Chain> D ensuite Select> Invert (all models) puis Actions> Atoms/Bonds> Delete.

Avant d'entamer le processus d'amarrage, la chaîne D a subi une optimisation par le biais du module Dock prep (**Figure 19**) qui fait partie des outils du logiciel UCSF Chimera et permet de préparer les structures moléculaires pour le docking moléculaire. Pour y parvenir les étapes suivantes ont été suivies :

- Cliquer sur Tools> Surface/ Binding Analysis> Dock Prep ;
- Décocher « write Mol2 file » puis OK pour l'ajout des atomes d'hydrogènes et OK pour l'attribution des charges partielles.
- Enregistrer le fichier sous format PDB.

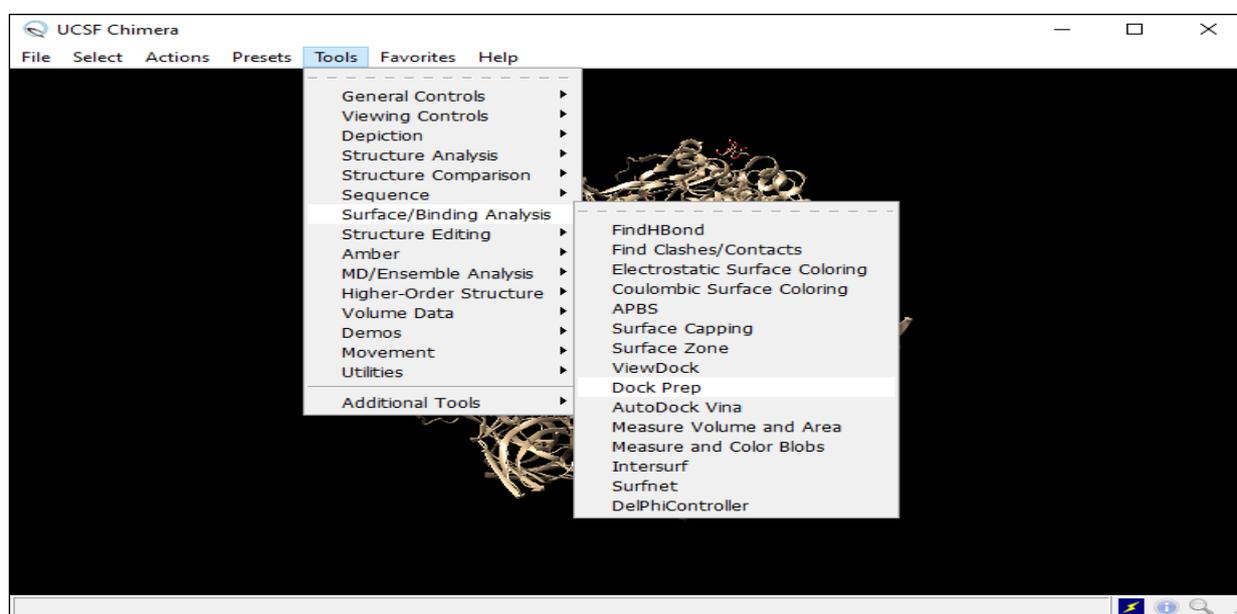
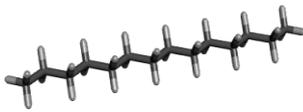
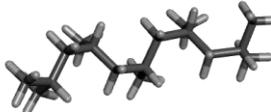
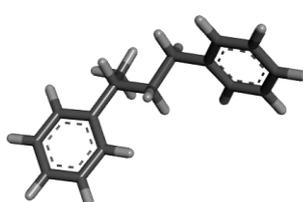


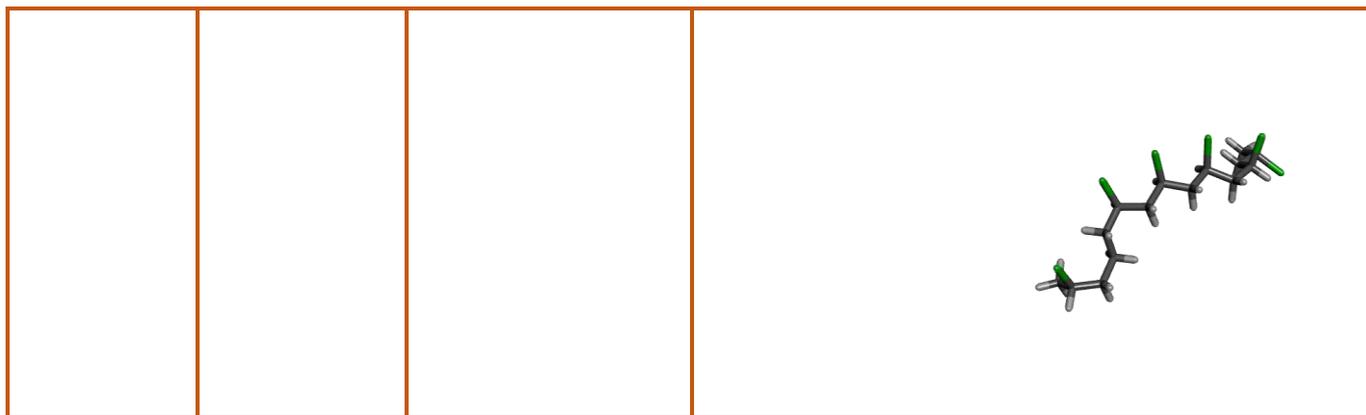
Figure 18. Chemin pour accéder à l'outil Dock Prep dans UCSF Chimera.

2.2 Préparation des ligands

Les structures de quatre composés plastiques à savoir le PE, le PP, le PVC et le PS ont été utilisés dans ce travail. Selon les rapports, l'activité enzymatique se produit lorsque la taille des molécules de plastique diminue jusqu'à une plage appropriée, généralement entre 10 et 50 carbones (**Restrepo-Florez et al., 2014**). C'est pourquoi, les structures tridimensionnelles (structure 3D) des ligands comptant plus de 12 carbones ont été construites et optimisées en utilisant le logiciel « Avogadro ». Les fichiers ont été enregistrés sous le format PBD (**Tableau 03**).

Tableau 03. Les structures des ligands utilisés dans cette étude.

Ligand	Formule brute	Masse moléculaire (g/mol)	Structure 3D
PE	C ₁₄ H ₃₀	198	
PP	C ₁₆ H ₃₄	226	
PS	C ₁₆ H ₁₈	210	
PVC	C ₁₅ H ₂₅ Cl ₇	453,5	



2.3 Prédiction et détermination du site actif

La conversion d'un substrat en produit par une enzyme implique sa liaison dans une poche (site actif) précise au niveau de cette dernière. Ce qui nous a amené à faire une prédiction du site de liaison des ligands pour notre enzyme cible en utilisant deux serveurs Web à savoir CASTp et POCASA.

- En ce qui concerne POCASA l'utilisation est très simple, il suffit de cliquer sur le lien vers le portail du site Web et soumettre le fichier en format PDB de l'enzyme en cliquant sur « Choisir un fichier » et ensuite cliquer sur « Get pockets and cavities » sans rien modifier.
- CASTp quant à lui une fois sur la page d'accueil du site, il faut cliquer sur « Calculation » puis sur « FILE » pour charger le fichier PDB de la protéine ensuite taper votre adresse mail (facultatif) et enfin cliquer sur « SUBMIT ! ».

Les résultats ont été téléchargés puis ouvert par le logiciel Chimera.

Parmi ces différentes cavités, seul 220 (poche 01) et 503 (poche 03) de POCASA n'ont pas été testés avec les différents ligands afin de choisir la poche la plus probable (celle avec le meilleur résultat) qui pourra correspondre au site actif de l'enzyme car elles étaient très superficielles.

2.4 Simulation de l'amarrage moléculaire

L'amarrage moléculaire est une technique qui permet d'explorer les interactions moléculaires et a pour but de prévoir le mode de liaison ainsi que l'affinité qui existe entre un substrat et une enzyme ou un ligand et une protéine. Dans notre cas, l'ancrage de chaque composé microplastique (ligand) a été réalisé individuellement sur la cible enzymatique à l'aide du

logiciel AutoDock Vina dans la version 1.17.3 du logiciel UCSF Chimera. Les étapes suivies pour exécuter cette opération sont les suivantes :

- Ouvrir le fichier contenant l'enzyme préparée et optimisée puis celui du ligand en cliquant sur « File » puis sur « Open »
- Ensuite cliquer sur Tools> Surface/Binding Analysis> AutoDock Vina.
- Une interface apparaîtra où il faut sélectionner un fichier de sortie, le récepteur, le ligand tout en définissant les dimensions (centre et taille) de la grille et enfin cliquer sur OK.

Les différentes dimensions de la grille utilisées dans cette étude sont données dans le **tableau 04**.

Tableau 04. Taille et position du centre de la grille en fonction des poches.

N° de poche	Coordonnées cartésiennes		
CASTp			
01	Centre : 167.4	131.4	127
	Taille : 35	32.4	39
02	Centre : 150.7	108.5	129.8
	Taille : 33	34.5	43
03	Centre : 168.4	116.5	141
	Taille : 26.5	26.25	32.5
04	Centre : 142.3	127	119
	Taille : 23	27	29
05	Centre : 151.5	17	146
	Taille : 30	27.5	24.5
POCASA			
02	Centre : 167	100	138
	Taille : 33.5	18	20
4 et 5	Centre : 168	137	124.5
	Taille : 19	20	29

Les résultats de l'amarrage ont été enregistrés sous un fichier au format PY (python) ainsi qu'un fichier PBD pour une utilisation ultérieure. Ce dernier servira ultérieurement pour la visualisation en 3D des interactions moléculaires entre l'enzyme cible et les ligands par l'intermédiaire du logiciel Discovery Studio Visualizer.

2.5 Analyse des interactions protéine-ligand

Parmi les résultats obtenus lors de l'amarrage, seuls les fichiers PDB renfermant la meilleure conformation (pose) qui possède l'énergie libre de liaison (ΔG°) la plus faible de chaque ligand ont été utilisés pour analyser les interactions entre le complexe enzyme-ligand. Le logiciel « Discovery Studio Visualizer DSV » a permis de visualiser les acides aminés impliqués dans cette interaction ainsi que les types de liaison qu'ils forment avec le ligand qui peuvent être des liaisons hydrogènes, ioniques et même d'autres types d'interactions hydrophobes supplémentaires.

Les diagrammes 2D issus de cette analyse ont été sauvegardés sous forme d'image.



Résultats et discussion

Dans cette étude, nous avons examiné les interactions moléculaires entre la protéine Demetra et quatre ligands dans sept cavités différentes par l'intermédiaire de l'amarrage moléculaire en utilisant le logiciel UCSF Chimera d'une part et DSV (pour l'analyse visuelle) d'autre part. Le but était de déterminer la cavité la plus susceptible de représenter le site actif de l'enzyme, les résidus d'acides aminés qui interviennent dans l'interaction enzyme-substrat et le mécanisme catalytique de l'enzyme.

1 Résultats de la prédiction du site actif

Le volume et la surface des 5 meilleures poches provenant des résultats de CASTp sont données dans le **Tableau 05** et les identifiants des 5 poches proposer par POCASA dans le **Tableau 06** pour une visualisation et une définition des boxes autour des poches les plus probables.

Tableau 05. Volume et Surface des 5 premières cavités détectées via CASTp.

N° de poche	Volume (Å ³)	Surface (Å ²)
01	1066,369	1406,860
02	1010.239	1378.737
03	154.975	346.020
04	138,495	317,788
05	89 ,785	215,656

Tableau 06. Identifiant des 5 poches proposées par POCASA.

N° de poche	Identifiant dans Chimera
01	220
02	450
03	503
04	701
05	722

Parmi ces différentes cavités, seuls 220 (poche 01) et 503 (poche 03) de POCASA n'ont pas été testés avec les différents ligands car elles étaient très superficielles, et pourraient pas correspondre au site actif de l'enzyme.

2 Résultats du docking moléculaire

L'analyse des interactions moléculaires entre l'enzyme cible simplifié (la chaîne D) et les ligands dans les différentes poches proposées par POCASA et CASTp a permis d'obtenir des scores thermodynamiques (ΔG°) calculés par le logiciel Vina intégré dans Chimera. Les énergies de liaisons les plus faibles de chaque ligand et pour chaque poche qui correspondent aux meilleures conformations du complexe enzyme-ligand sont données dans le **tableau 07**.

Tableau 07. Résultats du docking moléculaire pour les 4 ligands dans chaque poche.

CASTp		
N° de poche	Polymère plastique	ΔG° (Kcal/mol)
01	PE	-6.4
	PP	-6.8
	PS	-9.2
	PVC	-6.2
02	PE	-6.2
	PP	-7.0
	PS	-8.5
	PVC	-6.5
03	PE	-6.5
	PP	-6.9
	PS	-9.3
	PVC	-6.6
04	PE	-5.6
	PP	-7.1
	PS	-8.2
	PVC	-6.5
05	PE	-4.8
	PP	-5.4

	PS	-6.0
	PVC	-4.0
POCASA		
01	PE	-4.2
	PP	-5.0
	PS	-6.0
	PVC	-5.2
02	PE	-4.6
	PP	-5.9
	PS	-7.1
	PVC	-6.2

L'énergie de liaison est inversement proportionnelle à l'affinité, par conséquent plus l'énergie de liaison est minime plus l'affinité est importante.

L'analyse des différents scores d'énergie de liaison présentés dans le tableau n°07 montre que le PS est le ligand ayant la meilleure affinité avec l'enzyme cible Demetra, indépendamment du numéro et de l'origine (serveur détecteur) de la poche. Les scores varient entre -6,0 et -9,3 Kcal/mol. Le PP le suit dans la majorité des poches, avec des valeurs de ΔG° comprises entre -5,0 et -7,1 Kcal/mol. La troisième position est alternativement occupée par le PE et le PVC, avec des scores d'énergie de liaison variant de -4,2 à -6,5 Kcal/mol pour le PE et de -4,0 à -6,6 Kcal/mol pour le PVC.

Ces résultats concordent avec les observations expérimentales de Burd et *al.* (2022) qui ont rapporté que les larves de *Galleria mellonella* exposées au PS et au PE ont montré une biodégradation plus notable du PS, avec une perte de masse de 56,12% contre 5,11% pour le PE. Cependant, Lou et *al.* (2020) ont constaté que la biodégradation du PE par ces larves était plus importante que celle du PS, avec des pertes de masse de 1,95 g pour le PE et de 0,88 g pour le PS. La différence entre ces résultats pourrait être attribuée à la co-alimentation des larves avec de la cire d'abeille ou du son de blé dans l'expérience de Lou et *al.* (2020), ainsi qu'à des variations des conditions expérimentales entre les deux études. Néanmoins, le nombre de larves utilisées différait, avec 150 dans l'expérience de Lou et *al.* (2020) et 25

dans celle de Burd *et al.* (2022).

3 Etude des interactions moléculaires

En fonction des énergies de liaisons et des acides aminés impliqués dans l'interaction protéine- PE ligand, seuls les résultats obtenus dans les poches 02, 03 et 05 de CASTp ont été présentés et seront considérés dans le reste de ce travail. Les résultats sont illustrés dans le **tableau 08** suivant.

Tableau 08. Résultats de l'analyse des interactions protéine-ligand dans les trois poches sélectionnées.

N° de poche	Ligand	Type d'interaction	Acides aminés
02	PE	Pi-Alkyl	Phe 575, Phe 645, Phe 652, Phe 268 et Trp 576
		Pi-Sigma	Phe 652
		Alkyl	Leu 606, Leu 605, Ile 265 et Ile 269
	PP	Pi-Alkyl	Phe 645, Phe 652, Phe 575 et Trp 576
		Pi-Sigma	Phe 652
		Alkyl	Leu 606, Ile 265 et Lys 244
	PS	Pi-Pi T-Shaped	Phe 645 et Phe 652
		Pi-Alkyl	Leu 606 et Ile 265
	PVC	Alkyl	Lys 244, Leu 606, Leu 605, Leu 245 et Ile 265
		Pi-Alkyl	Phe 241, Phe 268, Phe 652, Phe 645, et Trp 576
03	PE	Alkyl	Ile 99 et Lys 49
		Pi-Alkyl	Tyr419, Tyr239, Tyr142, Tyr169, Phe97, Trp166, Trp48, His309 et His242

	PP	Alkyl	Ile99	
		Pi-Alkyl	Tyr169, His309, Phe97, Trp166 et Phe418	
	PS	Pi-Alkyl	Ile99	
	PVC	Liaison carbone hydrogène	His309	
		Liaison halogène	Ala483	
		Pi-Sigma	His309	
		Pi-Alkyl	Phe418 et Tyr169	
		Alkyl	Ile96 et Leu176	
	05	PE	Alkyl	Leu224 et Pro686
			Pi-Alkyl	Tyr685, Tyr687 et Trp216
PP		Alkyl	Pro686	
		Pi-Alkyl	Tyr687	
PS		Pi-Pi T-Shaped	Tyr687	
		Pi-Alkyl	Leu224 et Pro686	
PVC		Liaison carbone hydrogène	Pro686 et Pro215	
		Alkyl	Leu305	
		Pi-Alkyl	Tyr685, Tyr687 et Trp216	

L'analyse des interactions des quatre ligands avec l'enzyme Demetra dans les trois poches sélectionnées révèle que l'enzyme interagit avec ces ligands principalement par des interactions hydrophobes, les plus dominantes étant les interactions Alkyl et Pi-Alkyl. Cependant, les acides aminés impliqués dans ces interactions varient d'une poche à l'autre. Ainsi, dans la poche n°2, les acides aminés qui interagissent avec tous les ligands sont la Phe652, la Phe645, la Leu606 et l'Ile265. Dans la poche n°3, ce sont la His309 et la Tyr169 qui interagissent avec ces ligands, à l'exception du PS. Enfin, dans la poche n°5, la Pro686 et la Tyr687 sont les acides aminés impliqués dans ces interactions hydrophobes.

Le rapport *in silico* de dégradation du PE par des enzymes fongiques réalisé par Santacruz-Juárez et al. (2021) montre que la peroxygénase non spécifique de *A. aegerita* et la laccase de

T. versicolor interagissent avec ce plastique principalement par des interactions hydrophobes. Les acides aminés impliqués dans ces interactions pour la peroxygénase sont principalement la Phe121, Phe191, Phe199 et Phe274, ainsi que la Val77 et l'Ala244. Pour la laccase, les acides aminés impliqués sont la His395 et His458, la Phe344 et Phe450, et la Leu112. Ces résultats se rapprochent des nôtres, car les modes d'interaction sont similaires et les acides aminés impliqués sont également apolaires pour ces deux enzymes fongiques.

Ces informations renforcent notre compréhension des mécanismes enzymatiques de dégradation du PE et nous permet d'affirmer que les interactions hydrophobes jouent un rôle crucial dans la dégradation du PE par les enzymes étudiées et que les acides aminés apolaires facilitent ces interactions.

3.1 Diagramme 3D et 2D

3.1.1 Poche n°02

➤ Interaction entre PE-Demetra :

Dans cette poche, le PE possède une énergie de liaison d'une valeur de -6.2 Kcal/mol. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PE est assez bien positionné dans cette deuxième poche proposée par CASTp où il est stabilisé par des multiples liaisons hydrophobes impliquant 9 acides aminés (**Figure 20**), parmi lesquels :

- Leu606, Leu605, Ile265 et Ile269 forment sept liaisons de type Alkyl avec une double interaction pour chacune sauf pour Ile269 qui interagi par l'intermédiaire d'une seule liaison.
- Phe652 présente une liaison de type Pi-Alkyl et Pi-Sigma tandis que la Phe575, Phe645, Phe268 et le Trp576 interagissent seulement par des liaisons Pi-Alkyl dont 3 pour la Phe645.

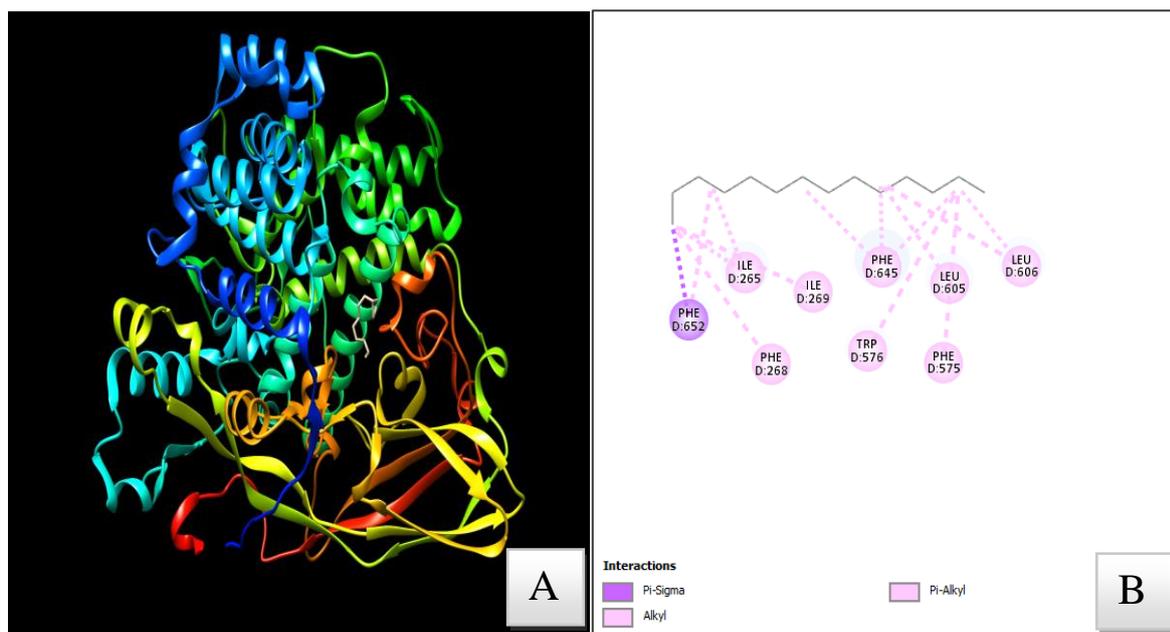


Figure 19. Interaction entre le ligand PE et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PP-Demetra :

Le PP lui affiche un score de liaison de -7.0 Kcal/mol dans cette poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PP est assez bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par des multiples liaisons hydrophobes impliquant 7 acides aminés (**Figure 21**), parmi lesquels :

- Leu606, Ile265 et Lys 244 établissent quatre liaisons Alkyl dont deux pour Lys244.
- Phe652 présente une liaison de type Pi-Alkyl et Pi-Sigma tandis que la Phe575, Phe645 et le Trp576 interagissent seulement par des liaisons Pi-Alkyl dont 2 pour le Trp576.

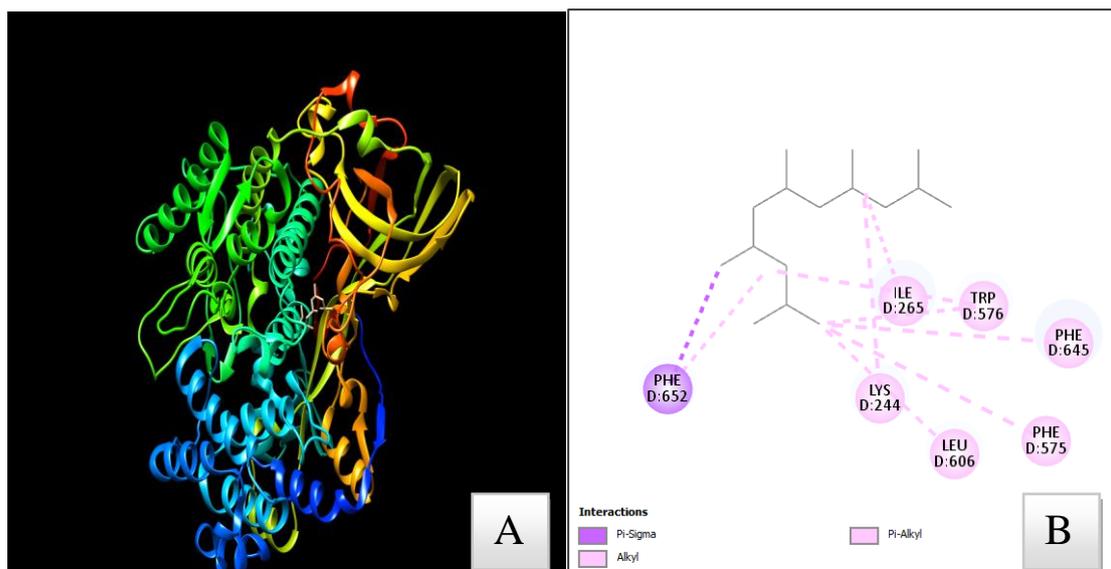


Figure 20. Interaction entre le ligand PP et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PS-Demetra :

En ce qui concerne le PS, il affiche un score de liaison de -8.5 Kcal/mol dans cette poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PS est bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par quatre liaisons hydrophobes impliquant 4 acides aminés (**Figure 22**), parmi lesquels :

- Phe645 et Phe652 forment une liaison Pi-Pi T-Shaped chacune.
- Leu606 et Ile265 quant à elles interagissent par une liaison Pi-Alkyl chacune.

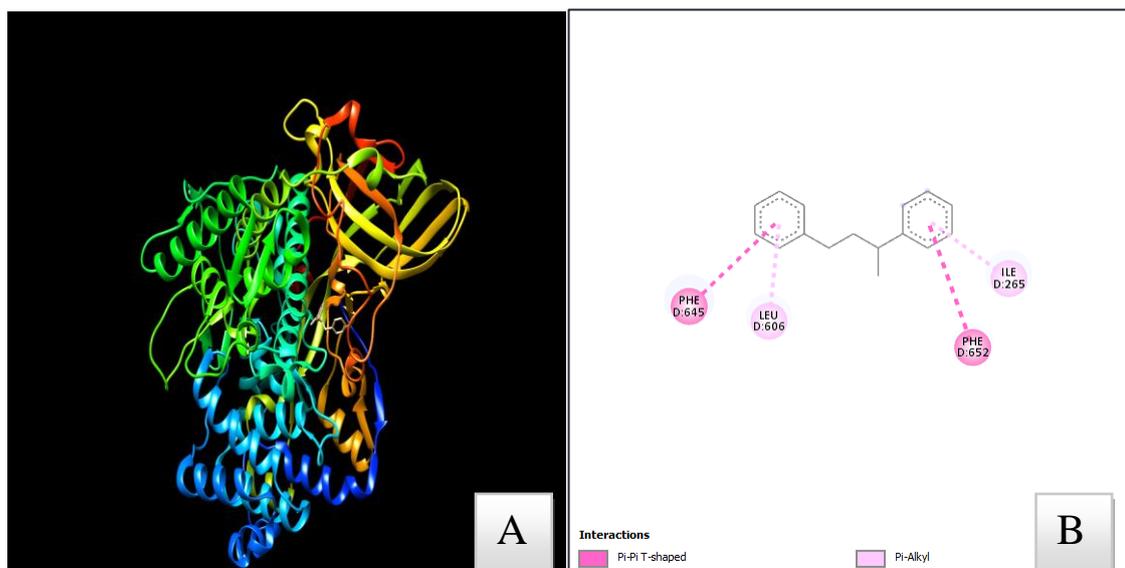


Figure 21. Interaction entre le ligand PS et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PVC-Demetra :

Enfin, Le PVC quant à lui affiche un score de liaison de -6.5 Kcal/mol dans cette même poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PVC est assez bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par des multiples liaisons hydrophobes impliquant 10 acides aminés (**Figure 23**), parmi lesquels :

- Lys244, Leu606, Leu605, Leu245 et Ile265 créent des interactions de type Alkyl par le biais d'une liaison chacune sauf la Leu605 qui en forme 2.
- Phe241, Phe268, Phe652, Phe645, et Trp576 forment quant à eux six liaisons de type Pi-Alkyl dont deux pour la Phe241.

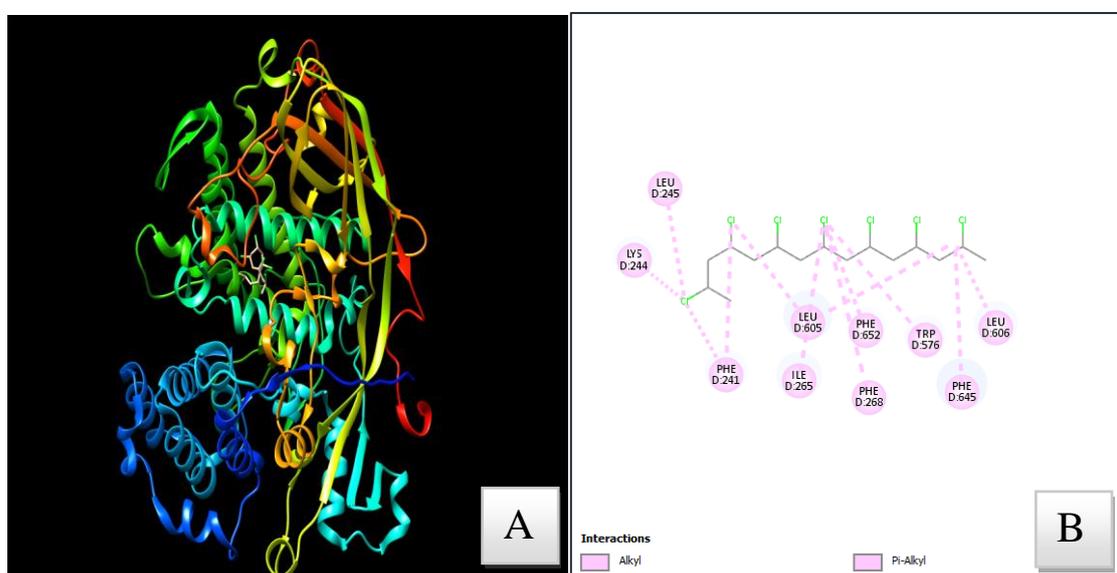


Figure 22. Interaction entre le ligand PVC et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°02 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

3.1.2 Poche n°03

➤ Interaction entre PE-Demetra

Dans cette poche, le PE possède une énergie de liaison de l'ordre de -6.5 Kcal/mol. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PE est assez bien positionné dans cette troisième poche proposée par CASTp où il est stabilisé par des multiples liaisons hydrophobes impliquant 11 acides aminés (**Figure 24**), parmi lesquels :

- L'Ile99 et la Lys49 interagissent chacune par une liaison de type Alkyl.
- Alors que la Tyr419, Tyr239, Tyr142, Tyr169, Phe97, Trp166, Trp48, His309 et His242 eux, établissent des interactions Pi-Alkyl où la Tyr142 en forme 3 et la Phe97, la His309 et le Trp166 en forment 2 liaisons chacun.

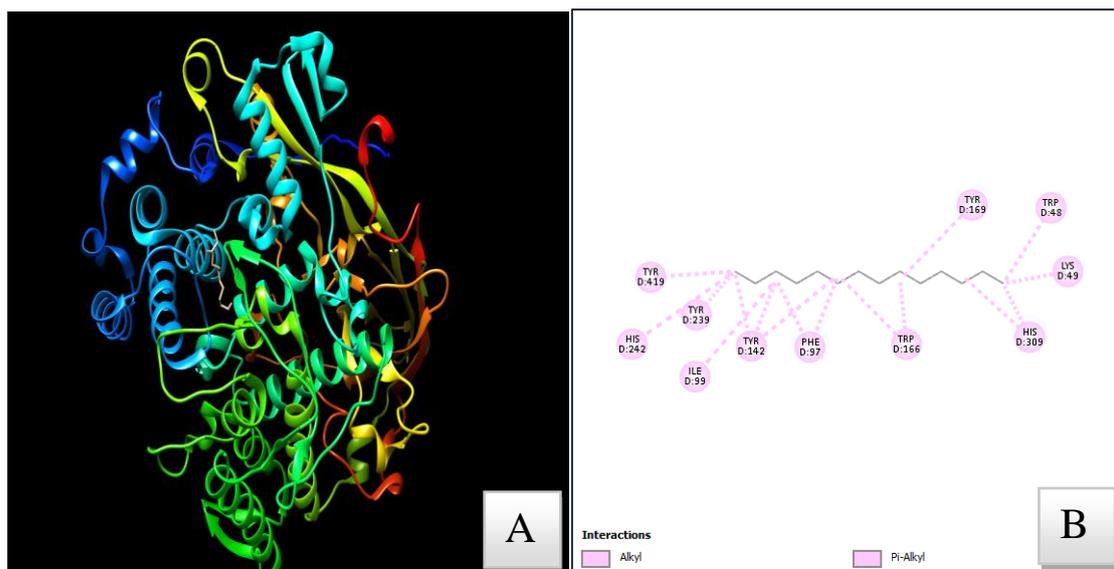


Figure 23. Interaction entre le ligand PE et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PP-Demetra

Le PP lui affiche un score de liaison de -6.9 Kcal/mol dans cette poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PP est assez bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par des multiples liaisons hydrophobes impliquant 6 acides aminés (**Figure 25**), parmi lesquels :

- Une liaison Alkyl établie par Ile99.
- Une interaction de type Pi-Alkyl formée par Tyr169, His309, Phe97, Trp166 et Phe418 sont également établies.

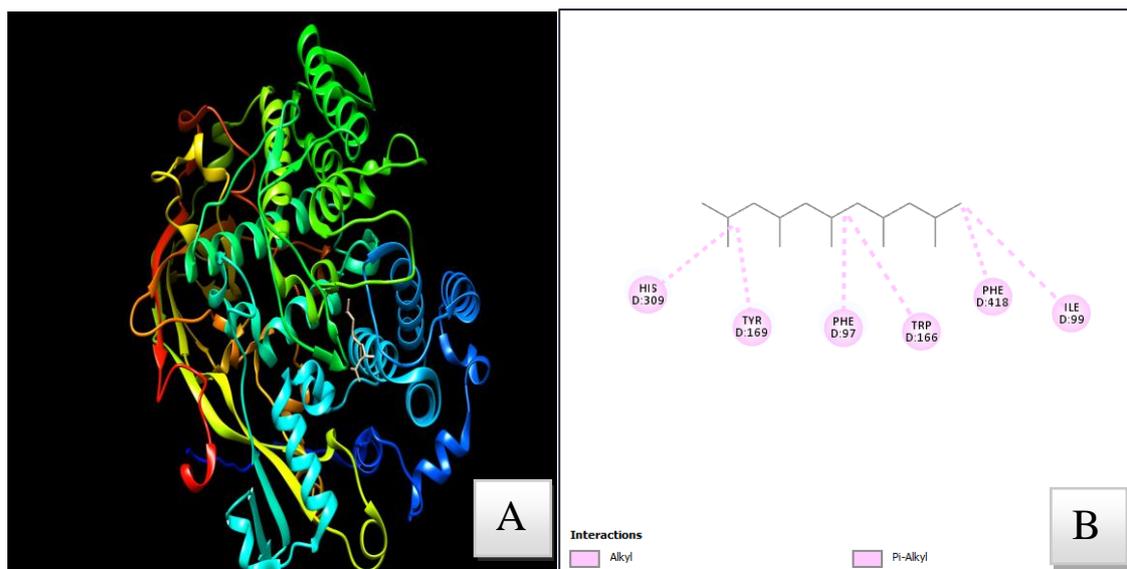


Figure 24. Interaction entre le ligand PP et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PS-Demetra

En ce qui concerne le PS, il affiche un score de liaison de -9.3 Kcal/mol dans cette poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PS est bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par une seule liaison hydrophobe de type Pi-Alkyl formé par Ile99 (Figure 26).

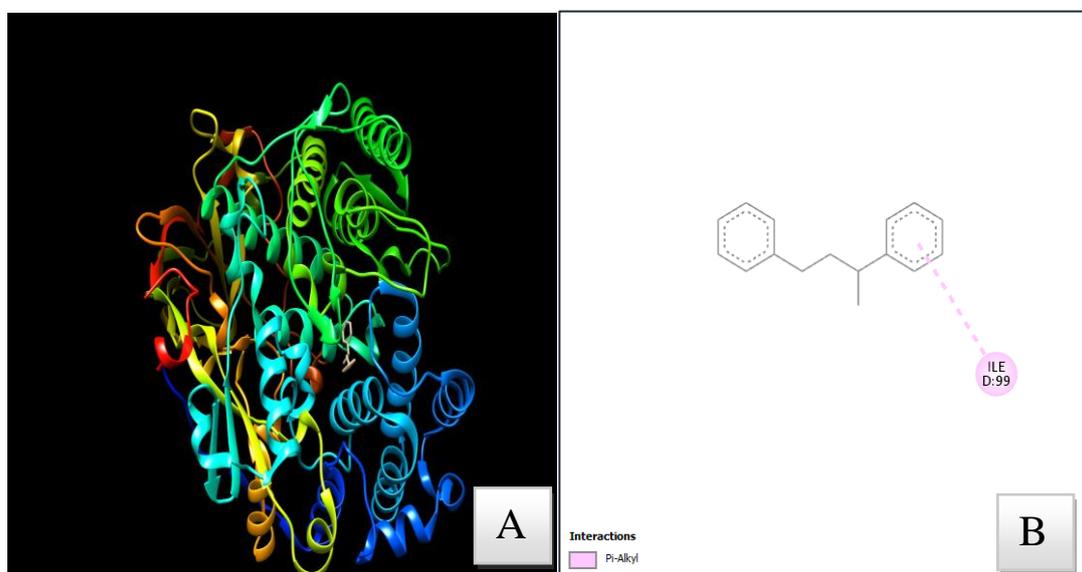


Figure 25. Interaction entre le ligand PS et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PVC-Demetra

Enfin, Le PVC quant à lui affiche un score de liaison de -6.6 Kcal/mol dans cette même poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PVC est assez bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par des multiples liaisons impliquant 6 acides aminés (**Figure 27**), parmi lesquels :

- L'His309 présente une interaction de type carbone hydrogène et également une liaison électrostatique de type Pi-Sigma.
- L'Ala483 forme une interaction halogène.
- La Leu176 et L'Ile96 quant à elles établissent une liaison de type Alkyl chacune.
- La Tyr169 et la Phe418 interagissent par l'intermédiaire d'une liaison Pi-Alkyl chacune.

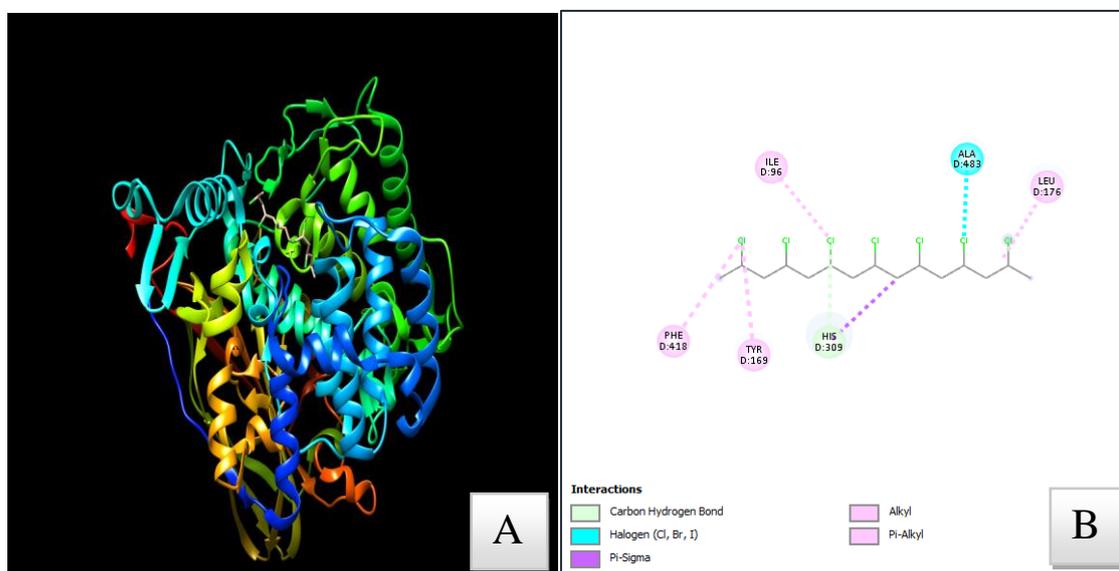


Figure 26. Interaction entre le ligand PVC et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°03 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

3.1.3 Poche n°05

➤ Interaction entre PE-Demetra

Dans cette poche, le PE présente un score de liaison égal à -4.8 Kcal/mol. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PE est moyennement bien positionné dans cette troisième poche proposée par CASTp où il est stabilisé par des liaisons hydrophobes impliquant 5 acides aminés (**Figure 28**), parmi lesquels :

- La Leu224 et La Pro686 forment une interaction de type Alkyl.
- Tandis que la Tyr685, la Tyr687 et le Trp216 établissent une liaison Pi-Alkyl chacun.

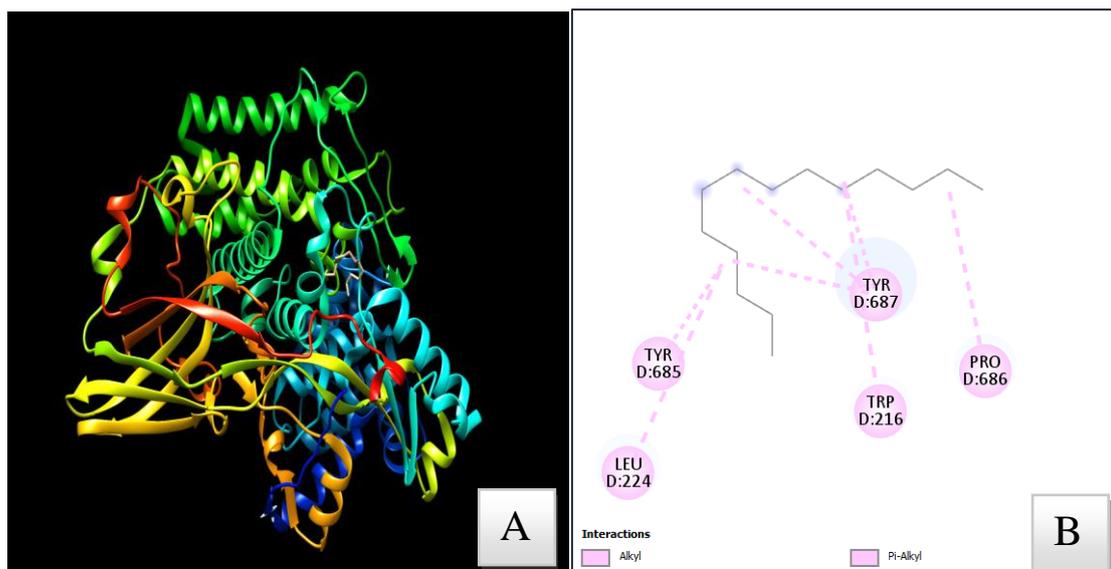


Figure 27. Interaction entre le ligand PE et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PP-Demetra

Le PP lui affiche un score de liaison de -5.4 Kcal/mol dans cette poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PP est moyennement bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par deux liaisons hydrophobes de type Alkyl avec la Pro686 et Pi-Alkyl avec la Tyr687 (**Figure 29**).

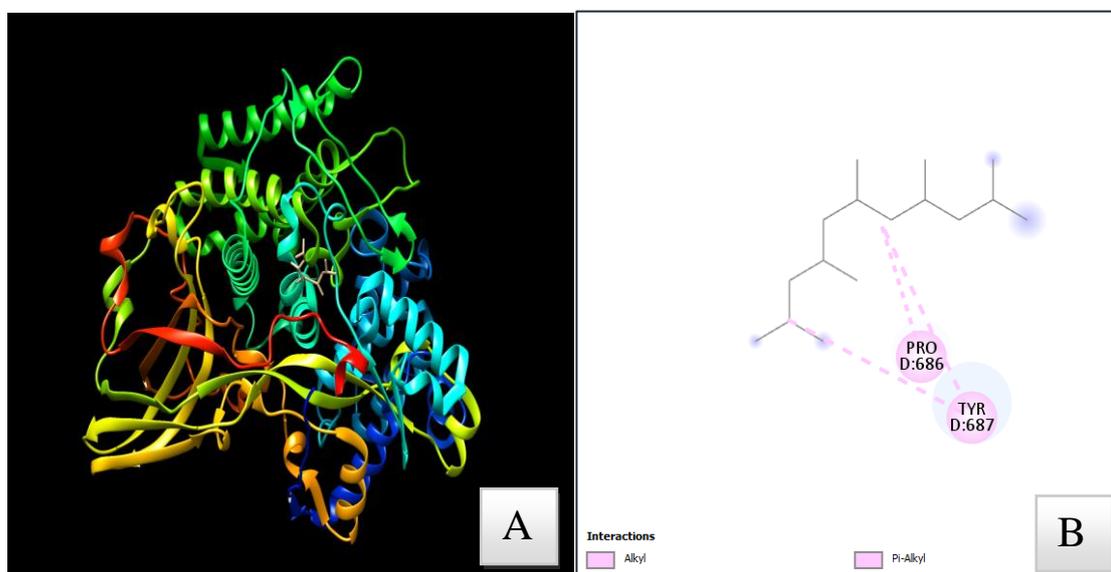


Figure 28 : Interaction entre le ligand PP et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PS-Demetra

En ce qui concerne le PS, il affiche un score de liaison de -6.0 Kcal/mol dans cette poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PS est assez bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par des liaisons hydrophobes impliquant 3 acides aminés (**Figure 30**), parmi lesquels :

- La Tyr687 forme une interaction Pi-Pi T-Shaped alors que la Pro686 et la Leu224 établissent quant à elles une liaison de type Pi-Alkyl chacune.

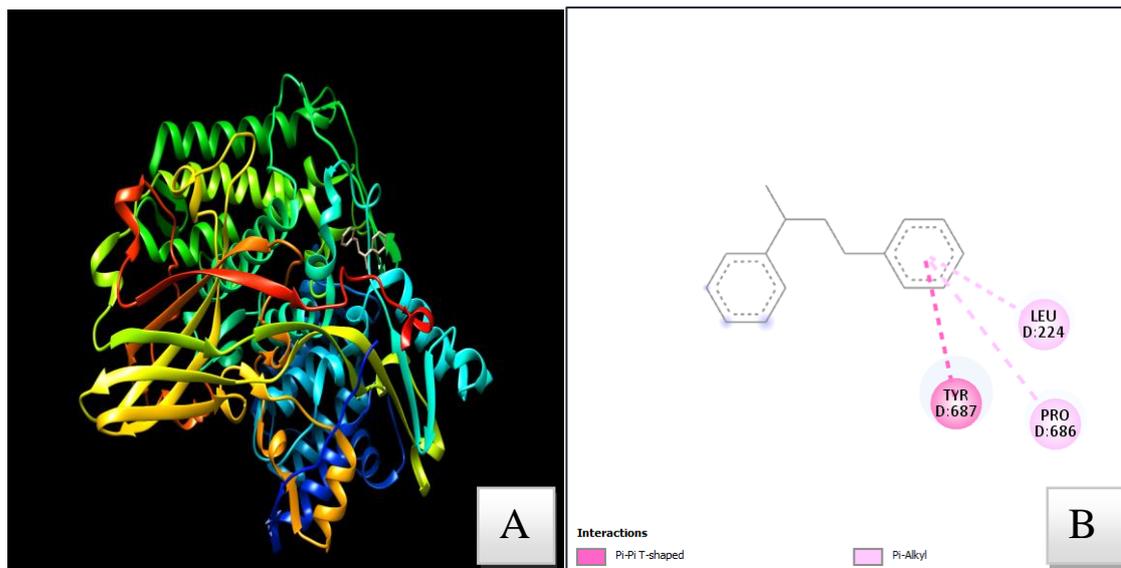


Figure 29. Interaction entre le ligand PS et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).

➤ Interaction entre PVC-Demetra

Enfin, Le PVC quant à lui affiche un score de liaison de -4.0 Kcal/mol dans cette même poche. L'analyse visuelle effectuée par DSV révèle que ce ligand-PVC est moyennement bien positionné dans cette dernière où il est stabilisé par des multiples liaisons impliquant 6 acides aminés (**Figure 31**), parmi lesquels :

- La P686 et la Pro215 interagissent par l'intermédiaire d'une liaison de type Carbone hydrogène.
- La Tyr685, Tyr687 et Trp216 forment sept liaisons Pi-Alkyl dont trois liaisons pour la Tyr685 et la Tyr687.
- La Leu305 quant à elle établie une interaction de type Alkyl.

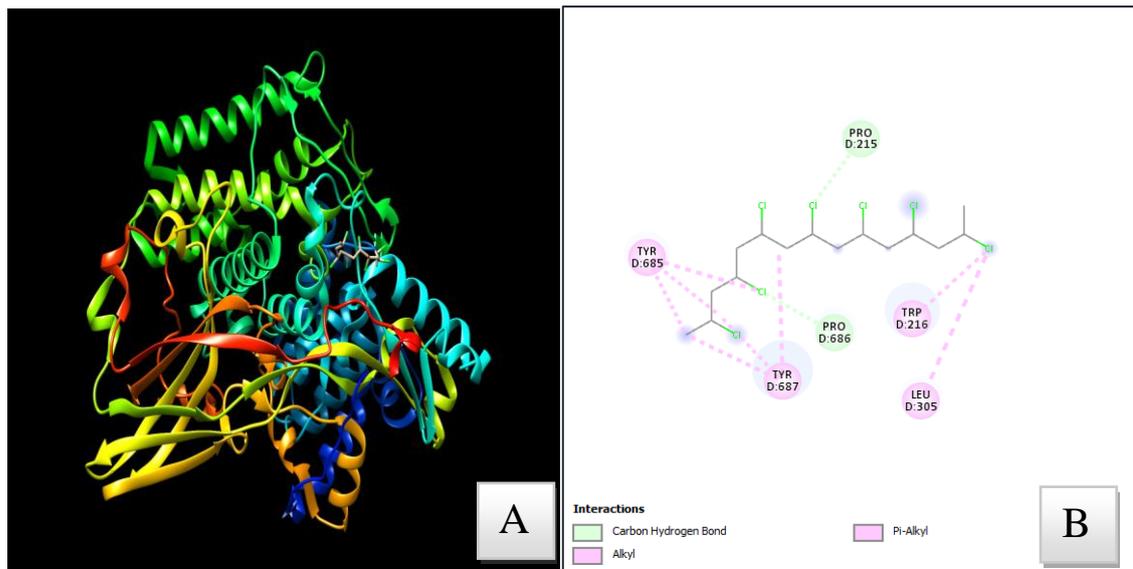


Figure 30. Interaction entre le ligand PVC et la chaîne-D de Demetra dans la poche n°05 (CASTp) par UCSF Chimera (A) et DSV (B).



Conclusion générale

À ce stade de pollution, l'utilisation des insectes et de leurs enzymes constitue l'approche de décontamination la plus écologique et efficace pour débarrasser notre planète des types de plastiques les plus produits et résistants, ainsi que d'autres contaminants émergents. La modélisation moléculaire pourrait être l'outil informatique idéal pour compléter les expérimentations réalisées *in vivo*, afin de déterminer le mécanisme moléculaire responsable de cette biodégradation du plastique chez les insectes.

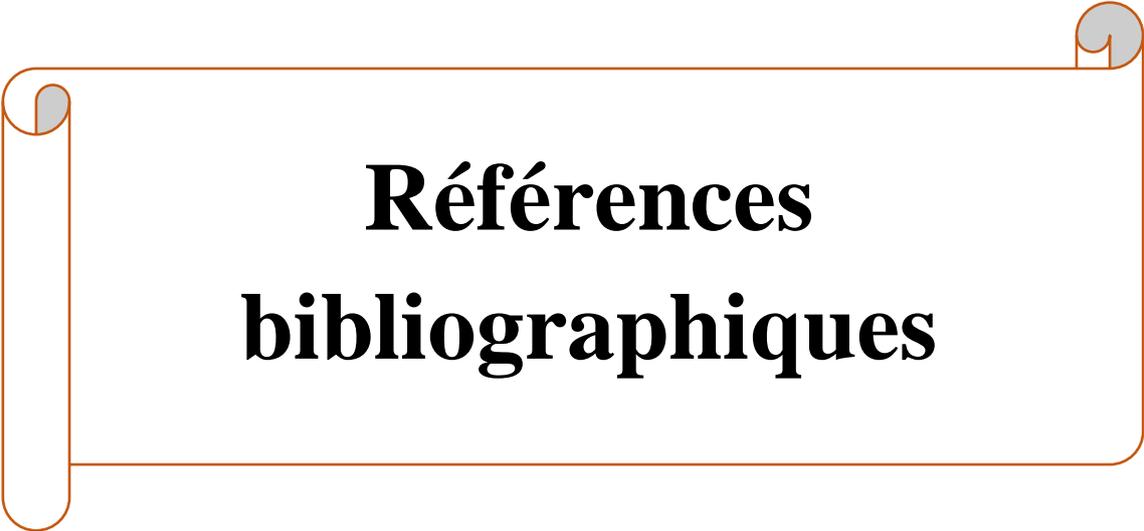
L'objectif de ce travail était de comprendre et de mettre en évidence le processus moléculaire responsable de la décomposition du PE par l'enzyme Demetra, présente dans la salive de *Galleria mellonella*, en utilisant une approche *in silico* par docking moléculaire à l'aide du logiciel UCSF Chimera pour l'amarrage moléculaire.

Tout d'abord, une prédiction des sites de liaison des ligands a été effectuée pour la chaîne-D de l'enzyme en utilisant les serveurs CASTp et POCASA. Ensuite, nous avons réalisé le docking de quatre composés plastiques, à savoir le PE, le PP, le PS et le PVC, dans sept poches différentes, dont cinq identifiées par CASTp et deux par POCASA. Les résultats montrent que le PS possède la meilleure affinité avec Demetra, suivi du PP, puis du PE et du PVC, qui présentent des affinités presque similaires. Les scores des énergies de liaison obtenus à partir de la poche n°3 de CASTp sont de -9,3 Kcal/mol pour le PS, -6,9 Kcal/mol pour le PP, -6,6 Kcal/mol pour le PVC et -6,5 Kcal/mol pour le PE.

De plus, une analyse des interactions protéine-ligand dans les poches n°2, 3 et 5 de CASTp a été réalisée à l'aide du logiciel DSV. Cette visualisation nous a révélé que l'enzyme interagit avec ces ligands principalement à travers des interactions hydrophobes de type Alkyl et Pi-Alkyl. Les acides aminés impliqués dans ces interactions sont les suivants : Phe652, Phe645, Leu606 et Ile265 dans la cavité n°2, His309 et Tyr169 dans la cavité n°3, et Pro686 et Tyr687 dans la cavité n°5.

Enfin, Il est important de noter qu'il s'agit du premier rapport *in silico* sur la dégradation du PE, PS, PP et PVC par l'enzyme Demetra, montrant l'interaction de ces composés plastiques avec cette enzyme au niveau moléculaire.

Comme perspective, il est souhaitable de continuer sur cette approche *in silico* afin de vérifier la stabilité du complexe Demetra-PE dans les trois poches par des simulations de dynamique moléculaire, et d'élucider le mécanisme de dégradation de PE adoptés par *G.mellonella*.

A decorative border in a light brown color, resembling a scroll or a ribbon, frames the central text. It has rounded corners and small circular details at the top and bottom edges, giving it a three-dimensional appearance.

Références bibliographiques

(A)

Abbasi, S., Keshavarzi, B., Moore, F., Turner, A., Kelly, F. J., Dominguez, A. O., & Jaafarzadeh, N. (2019). Distribution and potential health impacts of microplastics and microrubbers in air and street dusts from Asaluyeh County, Iran. *Environmental pollution*, 244, 153-164.

Accinelli, C., Abbas, H. K., Shier, W. T., Vicari, A., Little, N. S., Aloise, M. R., & Giacomini, S. (2019). Degradation of microplastic seed film-coating fragments in soil. *Chemosphere*, 226, 645-650.

ADEME, Marek C., Parisot F., ECOGEOS, Guyomard M. (2020) Lutte contre la pollution par les déchets plastiques en milieu marin. Synthèse. p9 ;68.

Almroth, B. C., & Eggert, H. (2019). Marine plastic pollution: sources, impacts, and policy issues. *Review of environmental economics and policy*.

Amato-Lourenço, L. F., dos Santos Galvão, L., de Weger, L. A., Hiemstra, P. S., Vijver, M. G., & Mauad, T. (2020). An emerging class of air pollutants: potential effects of microplastics to respiratory human health?. *Science of the total environment*, 749, 141676.

Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2021). Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Science of the Total Environment*, 759, 143536.

Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8), 1596-1605.

(B)

Barclay, A., & Acharya, K. R. (2023). Engineering Plastic Eating Enzymes Using Structural Biology. *Biomolecules*, 13(9), 1407.

Barnes, D. K., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences*, 364(1526), 1985-1998.

Beaumont, N. J., Aanesen, M., Austen, M. C., Börger, T., Clark, J. R., Cole, M., ... & Wyles, K. J. (2019). Global ecological, social and economic impacts of marine plastic. *Marine pollution bulletin*, 142, 189-195.

Bertocchini, F., & Arias, C. F. (2023). Why have we not yet solved the challenge of plastic degradation by biological means?. *Plos Biology*, *21*(3), e3001979.

Binelli, A., Magni, S., Della Torre, C., Sbarberi, R., Cremonesi, C., & Galafassi, S. (2024). Monthly variability of floating plastic contamination in Lake Maggiore (Northern Italy). *Science of the Total Environment*, 170740.

Bittrich, S., Bhikadiya, C., Bi, C., Chao, H., Duarte, J. M., Dutta, S., ... & Rose, Y. (2023). RCSB protein data bank: efficient searching and simultaneous access to one million computed structure models alongside the PDB structures enabled by architectural advances. *Journal of molecular biology*, *435*(14), 167994.

Boschi, A., Scieuzo, C., Salvia, R., Arias, C. F., Perez, R. P., Bertocchini, F., & Falabella, P. (2023). Beyond Microbial Biodegradation: Plastic Degradation by *Galleria mellonella*. *Journal of Polymers and the Environment*, 1-20.

Bracco, P., Costa, L., Luda, M. P., & Billingham, N. (2018). A review of experimental studies of the role of free-radicals in polyethylene oxidation. *Polymer degradation and stability*, *155*, 67-83.

Briassoulis, D., Babou, E., Hiskakis, M., Scarascia, G., Picuno, P., Guarde, D., & Dejean, C. (2013). Review, mapping and analysis of the agricultural plastic waste generation and consolidation in Europe. *Waste Management & Research*, *31*(12), 1262-1278.

Browne, M. A., Galloway, T., & Thompson, R. (2007). Microplastic--an emerging contaminant of potential concern?. *Integrated Environmental Assessment & Management*, *3*(4).

Burd, B. S., Mussagy, C. U., de Lacorte Singulani, J., Tanaka, J. L., Scontri, M., Brasil, G. S. A. P., ... & Herculano, R. D. (2023). *Galleria Mellonella* larvae as an alternative to low-density polyethylene and polystyrene biodegradation. *Journal of Polymers and the Environment*, *31*(3), 1232-1241.

(C)

Cai, Z., Li, M., Zhu, Z., Wang, X., Huang, Y., Li, T., ... & Yan, M. (2023). Biological degradation of plastics and microplastics: A recent perspective on associated mechanisms and influencing factors. *Microorganisms*, *11*(7), 1661.

Chen, G., Li, Y., Liu, S., Junaid, M., & Wang, J. (2022). Effects of micro (nano) plastics on higher plants and the rhizosphere environment. *Science of the Total Environment*, 807, 150841.

Cheng, F., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2013). In silico ADMET prediction: recent advances, current challenges and future trends. *Current topics in medicinal chemistry*, 13(11), 1273-1289.

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine pollution bulletin*, 62(12), 2588-2597.

(D)

Danopoulos, E., Twiddy, M., West, R., & Rotchell, J. M. (2022). A rapid review and meta-regression analyses of the toxicological impacts of microplastic exposure in human cells. *Journal of Hazardous Materials*, 427, 127861.

DE CE, R. A., Marek, C., Parisot, F., ECOGEOS, G. M., Marcoux, M., Rondel, M., & LEESU, T. R. (2020). Lutte contre la pollution par les déchets plastiques en milieu marin. Rapport final. 119 pages.

Derraik, J. G. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin*, 44(9), 842-852.

Dris, R., Gasperi, J., Mirande, C., Mandin, C., Guerrouache, M., Langlois, V., & Tassin, B. (2017). A first overview of textile fibers, including microplastics, in indoor and outdoor environments. *Environmental pollution*, 221, 453-458.

(E)

Enyoh, C. E., Maduka, T. O., Duru, C. E., Osigwe, S. C., Ikpa, C. B., & Wang, Q. (2022). In silico binding affinity studies of microbial enzymatic degradation of plastics. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 6, 100076

(G)

Galgani, F., Bruzard, S., Duflos, G., Fabre, P., Gastaldi, E., Ghiglione, J., ... & Ter Halle, A. (2020). Pollution des océans par les plastiques et les microplastiques. *Techniques de l'Ingénieur*.

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.

Glaab, E. (2016). Building a virtual ligand screening pipeline using free software: a survey. *Briefings in bioinformatics*, 17(2), 352-366.

(H)

Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of cheminformatics*, 4, 1-17.

Hartmann, N. B., Huffer, T., Thompson, R. C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A. E., ... & Wagner, M. (2019). Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris.

Hazen, T. C. (2018). Bioremediation. In *Microbiology of the terrestrial deep subsurface* (pp. 247-266). CRC Press.

Howard, S. A., Carr, C. M., Sbahtu, H. I., Onwukwe, U., López, M. J., Dobson, A. D., McCarthy, R. R. (2023). Enrichment of native plastic-associated biofilm communities to enhance polyester degrading activity. *Environmental Microbiology*, 25(12), 2698-2718.

Hu, X., Shrimp, J. H., Guo, H., Xu, M., Chen, C. Z., Zhu, W., ... & Shen, M. (2021). Discovery of TMPRSS2 inhibitors from virtual screening as a potential treatment of COVID-19. *ACS pharmacology & translational science*, 4(3), 1124-1135.

(K)

Kaushal, J., Khatri, M. et Arya, S. K. (2021). Aperçu récent de la dégradation enzymatique des plastiques répandus dans l'environnement : une mini-revue. *Ingénierie et technologie plus propres*, 2, 100083.

Kesti, S. S., & Shivasharana, C. (2018). The role of insects and microorganisms in plastic biodegradation: A comprehensive review. *Int. J. Sci. Res. Biol. Sci.*, 5, 6.

Kjeldsen, A., Price, M., Lilley, C., Guzniczak, E., & Archer, I. (2018). A review of standards for biodegradable plastics. *Ind. Biotechnol. Innov. Cent*, 33(1).

Kole, P. J., Löhr, A. J., Van Belleghem, F. G., & Ragas, A. M. (2017). Wear and tear of tyres: a stealthy source of microplastics in the environment. *International journal of environmental research and public health*, 14(10), 1265.

Kwadha, C. A., Ong'amo, G. O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K., & Fombong, A. T. (2017). The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Insects*, 8(2), 61.

(L)

Lou, Y., Ekaterina, P., Yang, S. S., Lu, B., Liu, B., Ren, N., ... & Xing, D. (2020). Biodegradation of polyethylene and polystyrene by greater wax moth larvae (*Galleria mellonella* L.) and the effect of co-diet supplementation on the core gut microbiome. *Environmental science & technology*, 54(5), 2821-2831.

Lv, S., Li, Y., Zhao, S., & Shao, Z. (2024). Biodegradation of Typical Plastics: From Microbial Diversity to Metabolic Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 593.

(M)

Montazer, Z., Habibi Najafi, M. B., & Levin, D. B. (2020). Challenges with verifying microbial degradation of polyethylene. *Polymers*, 12(1), 123.

Montazer, Z., Habibi Najafi, M. B., & Levin, D. B. (2021). In vitro degradation of low-density polyethylene by new bacteria from larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Canadian Journal of Microbiology*, 67(3), 249-258.

Mukheed, M., & Alisha, K. (2020). Plastic pollution in Pakistan: environmental and health Implications. *J. Pollut. Effects Contr*, 4, 251-258.

(O)

Obebe, S. B., & Adamu, A. A. (2020). Plastic pollution: causes, effects and preventions. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology*, 4(12), 85-95.

(P)

Pal, P., Pandey, J. P., & Sen, G. (2018). Synthesis and application as programmable water soluble adhesive of polyacrylamide grafted gum Tragacanth (GT-g-PAM). In *Biopolymer grafting* (pp. 153-203). Elsevier.

Peng, R., Xia, M., Ru, J., Huo, Y., & Yang, Y. (2018). Microbial degradation of polyurethane plastics. *Sheng wu Gong Cheng xue bao= Chinese Journal of Biotechnology*, 34(9), 1398-1409.

Pirsaheb, M., Hossini, H., & Makhdoumi, P. (2020). Review of microplastic occurrence and toxicological effects in marine environment: Experimental evidence of inflammation. *Process Safety and Environmental Protection*, 142, 1-14.

(R)

Rai, M., Pant, G., Pant, K., Aloo, B. N., Kumar, G., Singh, H. B., & Tripathi, V. (2023). Microplastic pollution in terrestrial ecosystems and its interaction with other soil pollutants: a potential threat to soil ecosystem sustainability. *Resources*, 12(6), 67.

Restrepo-Flórez, J. M., Bassi, A., & Thompson, M. R. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene—A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 83-90.

Riudavets, J., Salas, I., & Pons, M. J. (2007). Damage characteristics produced by insect pests in packaging film. *Journal of Stored Products Research*, 43(4), 564-570.

Ru, J., Huo, Y., & Yang, Y. (2020). Microbial degradation and valorization of plastic wastes. *Frontiers in Microbiology*, 11, 507487.

(S)

Sahu, K. (2013). QSAR and Pharmacophore Modeling based Drug Designing for Spleen Tyrosine Kinase (Syk) Protein For Human using Accelrys Discovery Studio Software in Linux Server. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(11), 4272.

Sanluis-Verdes, A., Colomer-Vidal, P., Rodriguez-Ventura, F., Bello-Villarino, M., Spínola-Amilibia, M., Ruiz-Lopez, E., ... & Bertocchini, F. (2022). Wax worm saliva and the enzymes therein are the key to polyethylene degradation by *Galleria mellonella*. *Nature Communications*, 13(1), 1-11.

Sharma, H., & Neelam, D. K. (2023). Understanding challenges associated with plastic and bacterial approach toward plastic degradation. *Journal of Basic Microbiology*, 63(3-4), 292-307.

Shen, M., Song, B., Zeng, G., Zhang, Y., Huang, W., Wen, X., et Tang, W. (2020). Les plastiques biodégradables sont-ils une solution prometteuse pour résoudre la pollution plastique mondiale ? *Pollution de l'environnement*, 263, 114469.

Sperling, L. H. (2005). *Introduction to physical polymer science*. 4th ed. Hoboken (NJ): John Wiley & Sons, Inc. p 845.

Spínola-Amilibia, M., Illanes-Vicioso, R., Ruiz-López, E., Colomer-Vidal, P., Rodriguez-Ventura, F., Peces Pérez, R., ... & Bertocchini, F. (2023). Plastic degradation by insect hexamerins: Near-atomic resolution structures of the polyethylene-degrading proteins from the wax worm saliva. *Science Advances*, 9(38), eadi6813.

Suzuki, G., Uchida, N., Tanaka, K., Matsukami, H., Kunisue, T., Takahashi, S., ... & Osako, M. (2022). Mechanical recycling of plastic waste as a point source of microplastic pollution. *Environmental Pollution*, 303, 119114.

(T)

Thushari, G. G. N., Chavanich, S., & Yakupitiyage, A. (2017). Coastal debris analysis in beaches of Chonburi Province, eastern of Thailand as implications for coastal conservation. *Marine Pollution Bulletin*, 116(1-2), 121-129.

Thushari, G. G. N., & Senevirathna, J. D. M. (2020). Plastic pollution in the marine environment. *Heliyon*, 6(8).

Tian, W., Chen, C., Lei, X., Zhao, J., & Liang, J. (2018). CASTp 3.0: computed atlas of surface topography of proteins. *Nucleic acids research*, 46(W1), W363-W367.

Tian, Y., Qu, Y., Dong, K., He, S., Jie, W., & Huang, J. (2021). Characterization and developmental expression patterns of four hexamerin genes in the bumble bee, *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Science*, 21(5), 13.

Tokiwa, Y., & Suzuki, T. (1977a). Hydrolysis of polyesters by lipases. *Nature*, 270(5632), 76-78.

Tokiwa, Y., & Suzuki, T. (1977b). Purification and some properties of polyethylene adipate-degrading enzyme produced by *Penicillium* sp. Strain 14-3. *Agricultural and Biological Chemistry*, 41(2), 265-274.

Tokiwa, Y., Suzuki, T., & Ando, T. (1976). Degradation of polycaprolactone by a fungus. *Journal of Fermentation Technology*, 54.

Tomasello, G., Armenia, I., & Molla, G. (2020). The Protein Imager: a full-featured online molecular viewer interface with server-side HQ-rendering capabilities. *Bioinformatics*, 36(9), 2909-2911.

Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina : Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>

(V)

Verma, R., Vinoda, K. S., Papireddy, M., & Gowda, A. N. S. (2016). Toxic pollutants from plastic waste-a review. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 701-708.

Verschoor, A., De Poorter, L., Roex, E., & Bellert, B. (2014). Quick scan and prioritization of microplastic sources and emissions. *RIVM Letter report*, 156, 1-41.

(W)

Wang, J., Zheng, L., & Li, J. (2018). A critical review on the sources and instruments of marine microplastics and prospects on the relevant management in China. *Waste Management & Research*, 36(10), 898-911.

Watts, T., Khoba, K., & Purty, R. S. (2023). In silico approach for evaluating the degradation efficiency of plastic degrading enzyme mono (2-hydroxyethyl) terephthalic acid hydrolase (MHETase) of selected bacteria. *Bioremediation Journal*, 1-12.

(Y)

Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., ... & Oda, K. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). *Science*, 351(6278), 1196-1199.

Young, R., Ahmed, K. A., Court, L., Castro-Vargas, C., Marcora, A., Boctor, J., ... & Pandey, G. (2024). Improved, reference quality genome sequence of the plastic-degrading greater wax moth, *Galleria mellonella*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, jkae070.

Yu, J., Zhou, Y., Tanaka, I., & Yao, M. (2010). Roll: a new algorithm for the detection of protein pockets and cavities with a rolling probe sphere. *Bioinformatics*, 26(1), 46-52.

(Z)

Zhang, H., Hou, Y., Zhao, W., & Na, H. (2022). Control Strategies of Plastic Biodegradation through Adjusting Additives Ratios Using In Silico Approaches Associated with Proportional Factorial Experimental Design. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(9), 5670.

Zhang, Q., Wong, J. P., Davis, A. Y., Black, M. S., & Weber, R. J. (2017). Characterization of particle emissions from consumer fused deposition modeling 3D printers. *Aerosol Science and Technology*, 51(11), 1275-1286.

Zhu, F., Zhu, C., Wang, C., & Gu, C. (2019). Occurrence and ecological impacts of microplastics in soil systems: a review. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 102, 741-749.