

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Constantine 1
Faculté des Science de la nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention de Diplôme de Master
Domaine : Science de la nature et de la Vie
Filière : Biochimie
Option : Analyse Protéomique et Santé.

Intitulé :

**Extraction des lectines à partir des plantes médicinales :
(Aloès Vera, Rosmarinus officinalis L, Syzygium aromaticum) avec
des test biologiques**

Présentée et soutenu par :
MERAHI WAFA

Jury d'évaluation:

Président: Dr. NOUADRI. T

MC(A). Université Constantine 1

Rapporteur: Mr. NECIB. Y

Prof. Université Constantine 1

Examinatrice: Mme. BEN KAHOUL . M

MC(A). Université Constantine 1

Année Universitaire
2013/2014

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ma fleur de mes espérances, la source de la tendresse à la plus personne, à **ma mère**, je te dis
que tu resteras toujours la plus adorable dans ma vie

A celui qui a sert me donner l'espoir et le courage nécessaire pendant mon long trajet d'étude,
à **mon père** , je vous estime fort ainsi que je vous aime .

A **mon marie** plus chère de mon cœur **SABER**

A mes chers frères : **OMAIMA, ILYES, AYMEN, WASSIM**

A toute ma famille

A tous mes amis sur tout **SAMAH, NASSIMA, RABEH, ABDOU ,AMIR**. Pour leur fidélités et
encouragements

A toutes les personnes qui me connaissent de près ou de loin, seulement pour leur existence.

Wafa

Sommaire

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Revue bibliographique	
Chapitre I : Génialité sur les lectines	
1.définition.....	3
2.Historique.....	5
3.Distribution des lectines dans le monde vivant.....	5
3.1.Lectines de vertébrés.....	6
3.2Lectines des invertébrés.....	8
3.3Lectines de microorganismes.....	8
3.4Lectines de plantes.....	8
4. classification des lectines.....	10
5.Les caractéristiques physico-chimiques des lectines.....	11
6. Reconnaissance des ligands.....	11
7. Fonction des lectines	12
7.1 Fonction des lectines chez l'homme	12
7.2 Fonction des lectines chez les plantes	13
8. L'agglutination cellulaire.....	13
9.Lectines substances anti-nutritionnelles.....	14
10. Inhibition des lectines par les sucres.....	14
11. Application des lectine.....	16
Chapitre II : Etude générale sur les plantes médicinales	
1. Aloès Vera.....	17
1.1. Caractère botanique.....	18
1.2. Classification botanique	18
1.3. Intérêt d'Aloès Vera	19
2. Rosmarinus officinalis L	20
2.1. Caractères botanique	21
2.2. Classification botanique.....	21
2.3. Intérêt Rosmarinus officinalis L.....	22
3. Syzygium aromaticum.....	23
3.1. Caractères botanique	24
3.2. Classification botanique.....	24

3.3. Intérêt <i>Syzygium aromaticum</i>	25
---	----

Chapitre III : Les groupes sanguins

1. Historique.....	26
2. Le système ABO.....	26
3. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	27
4. Détermination du groupe sanguin.....	28
5. Lectines spécifiques des groupes sanguins.....	28

Matériels et méthodes

1 .Matériels.....	29
➤ Matériel végétal.....	29
➤ Matériel animal.....	29
2. Méthodes.....	30
2.1.Extraction.....	30
➤ Récoltes et triage des échantillons.....	30
➤ Extraction des lectines.....	30
2.2. Test d'agglutination.....	31
▪ collecte des hématies.....	31
▪ lavage des hématies.....	31
▪ Préparation des hématies à 3%	31
▪ Test d'agglutination	32
2.3. Test d'agglutination avec les hématies humaines ABO.....	33
2.4. Test d'inhibition par les monosaccharides.....	34
▪ Principe du test.....	34
▪ Test en tube.....	34
▪ Interprétation	34
2.5. Le traitement thermique.....	35
2.6. Extraction des extraits bruts positifs.....	36
❖ Préparation de la colonne de Séphadex.....	36
❖ Extraction des lectines.....	36

Résultat et discussion

1. les tests d'agglutination :Extraits bruts-hématies de lapin.....	37
2. les tests d'agglutination :Extraits bruts-hématies humains.....	40
3. Effet de température.....	42
4. Tests d'inhibitions par les monosaccharides.....	43
5. Extraction de lectine par chromatographie gel Séphadex G-75 à partir d'Aloès Vera et de	

Syzygium aromaticum 45

Conclusion et perspectives..... 46

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ConA : Concavaline A lectin

ConBol : Canavalia boliavan a lectin

ConBr : Canavalia brasiliensis lectin

ConM : Canavalia maritima lectin

E-selectine : sélectine endothéliale

Fuc : fucose

Gal :Galactose

GalNAc : N-Acétyl-D-galactosamine

Glc : Glucose

GlcNAc : N-Acétylglucosamine

Man : Mannose

MBL : mannose binding lectin

NaCl : Chlore de Sodium

PBS : phosphate buffer solution

Rip: Ribosom Inactivating Proteine

SBA :Soybean agglutinin

WGA : Wheat germ agglutinin

3-D : tridimensionnelle

α -ME-L-fucoside : Alpha- Methanocaldococcusinfernus-L-Fucoside

B-Gall-4GlcNc : Beta-Galactose1-N-acétylglucosamine

B-Gall-4Glc : beta-Galactose1-4glucose

μ l : micro litre

Liste des figures

Liste des figures :

Figure 1 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides.

Figure 2 : Représentation graphique de la structure de l'E-selectine humaine en complexe Avec le Sialyl Lewis X. Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

Figure 3 : Tétramère de la protéine ConM de *Canavalia maritima* complexée avec le tréhalose .Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets.

Figure 4 : A. Classification des sucres selon Mäkelä basée sur la position des groupements

hydroxyles en C-3 et C-4 du cycle pyranose

B. Structures des sucres reconnus par les lectines des cinq principales classes.

Figure 5 : La plante d'Aloès Vera

Figure 6 : Les racines d'Aloès Vera

Figure 7 : plante de *Rosmarinus officinalis L*

Figure 8 : les racines de plante de *Rosmarinus officinalis L*

Figure 9 : la plante de *Syzygium aromaticum*.

Figure 10 : *Syzygium aromaticum*.

Figure 11 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Figure 12 : Les trois extraits bruts de lectine dans un bain Marie.

Figure 13 : observation microscopique d'agglutination d'extrait de *Rosmarinus officinalis L* avec hématies de lapin. (G x40)

Figure 14 : observation microscopique d'agglutination d'extrait d'Aloès Vera avec hématies de lapin. (G x40)

Figure 15 : observation microscopique d'agglutination d'extrait de *Syzygium aromaticum* avec hématies de lapin. (G x40)

Figure 16 : réparation graphique des tubes contient de *Syzygium aromaticum*

selon l'absorbance à 280 nm.

Figure17 : réparation graphique des tubes contient d'Aloès Vera selon l'absorbance à 280

nm.

Liste des tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Exemple des lectines dont les structures tridimensionnelles sont connues

Tableau 2 : exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins.

Tableau 3 : Résultats des tests d'agglutination réalisés avec les extraits bruts et les hématies de lapin

Tableau 4 : Résultats des tests d'agglutination réalisés avec les extraits bruts et les hématies humains.

Tableau 5 : l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits

Tableau 6 : L'inhibition des lectines par les monosaccharides.

Introduction

Introduction :

Les interactions protéines-glucides jouent un rôle essentiel dans de nombreux phénomènes de reconnaissance et d'adhésion cellulaire. Ces interactions intercellulaires sont notamment assurées par des protéines particulières, d'origine non immunitaire, appelées lectines (LIS and SHARON., 1998). Elles ont la capacité de reconnaître et de fixer spécifiquement de manière non covalente et réversible, des structures oligosaccharidiques sans les transformer. Ces protéines sont présentes dans tout le règne vivant avec une très grande diversité structurale et jouent des rôles variés dans la vie sociale des cellules et les interactions avec l'environnement . (SHARON and LIS., 2004)

Elles possèdent plusieurs propriétés biologiques notamment: l'agglutination des cellules, l'activité mitogène (stimulation lymphocytaire), l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses, les actions antivirales et les effets immunitaires. Ces diverses propriétés sont à la base de l'utilisation des lectines dans le domaine biomédical (hématologie, immunologie, oncologie, biologie cellulaire et agronomie «défense des plantes contre les agents pathogènes »). (MEITE *et al.*, 2006)

Les premières lectines furent identifiées chez les plantes au début du vingtième siècle mais la communauté scientifique ne commença à s'intéresser à cette classe de protéines qu'à partir des années soixante, en concomitance de la glycobiologie.

En 1970, les lectines sont devenues des outils extrêmes utiles pour l'étude des hydrates de carbone sur la surface des cellules. Dans les années suivantes de nombreux lectines ont été isolés à partir des plantes ainsi que des micro-organismes et des animaux, au cours des deux dernières décennies, les structures de certaines d'entre eux ont été mises en place. En même temps, il a été montré que les lectines fonctionnent comme des molécules de reconnaissance dans les interactions cellule-molécule et la cellule-cellule.

Introduction

Les lectines comportent généralement plusieurs sites de liaisons, par conséquent,

Leur interaction avec les glucides à la surface des érythrocytes cause l'agrégation d'un grand nombre de ces cellules. Ce phénomène, qui est appelé **hémagglutination**. Il est possible d'inhiber les réactions d'agglutination et de précipitation des lectines par les glucides spécifiques pour ces protéines. Les lectines sont présentes dans tous les organismes vivants.

L'intérêt était motivé surtout par l'utilisation des lectines dans la détection, l'isolation et la caractérisation d'oligosaccharides, tels que les déterminants des groupes sanguins et de glycoconjugués, surtout des glycoprotéines. La découverte majeure que certains états physiologiques et pathologiques étaient associés à un changement de l'état de glycosylation des cellules fut possible Grâce à l'utilisation des lectines (SHARON et Lis., 2004)

L'objectif principal de ce travail est de chercher la présence de lectine dans les racines de trois plantes médicinales, l'extraction des lectines à partir des plantes médicinales et leur étude biologique. Ce travail a été réalisé d'une part au niveau du laboratoire d'immunologie de l'université Constantine 1 sous la direction du Dr. NECIB Y., la chromatographie sur colonne et d'autre part dans le laboratoire de biochimie de l'université Constantine 1 sous la Pr. MECHAKRA A.

Revue Bibliographique

Chapitre I : lectine

Chapitre 1 : Généralités sur les lectine

1. Définition

Les lectines sont des protéines ou glycoprotéines capable de reconnaître des oligosaccharides ou polysaccharides. La caractéristique première de ces protéines est la présence d'un domaine de reconnaissance des hydrates de carbone nommé CRD (Carbohydrate recognition Domain). Les rôles physiologiques des polysaccharides sont nombreux, ils peuvent avoir un rôle structural qui permet des interactions cellule-cellule mais aussi des interactions cellule matrice extracellulaire. Au-delà de site d'ancrage, ces hydrates de carbones complexes jouent des rôles importants dans des aspects de signalisation. Ceux-ci nécessitent la participation des lectines. (WEIS *et al.*, 1998)

Le mot lectine est dérivé du verbe latin *léger* qui veut dire «sélectionner» ou «choisir», un nom bien approprié pour cette très importante classe de protéines.

Les Lectines ont été définies comme des protéines d'origine non-immune qui se lient Spécifiquement et de façon réversible aux sucres et ne montrent aucune activité Enzymatique pour ces substrats.(KOCOUREK et HOREJSI., 1981)

Les lectines sont des molécules ubiquitaires, car elles se retrouvent dans toutes les Classes d'organismes, chez les microorganismes (virus, bactéries), les plantes, les insectes et les animaux. Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont généralement capable d'agglutiner avec les cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Cette caractéristique très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes. La découverte majeure que certains états physiologique set pathologiques étaient associés à un changement de l'état de glycosylations des cellules fut possible grâce à l'utilisation des lectines. Le nombre de travaux publiés sur les lectines a montré une grande croissance principalement grâce à l'abondance des lectines dans tous les organismes vivants, accompagné d'une certaine facilité de purification.(GIANLUCA CIOCI., 2006).

Chapitre I : lectine

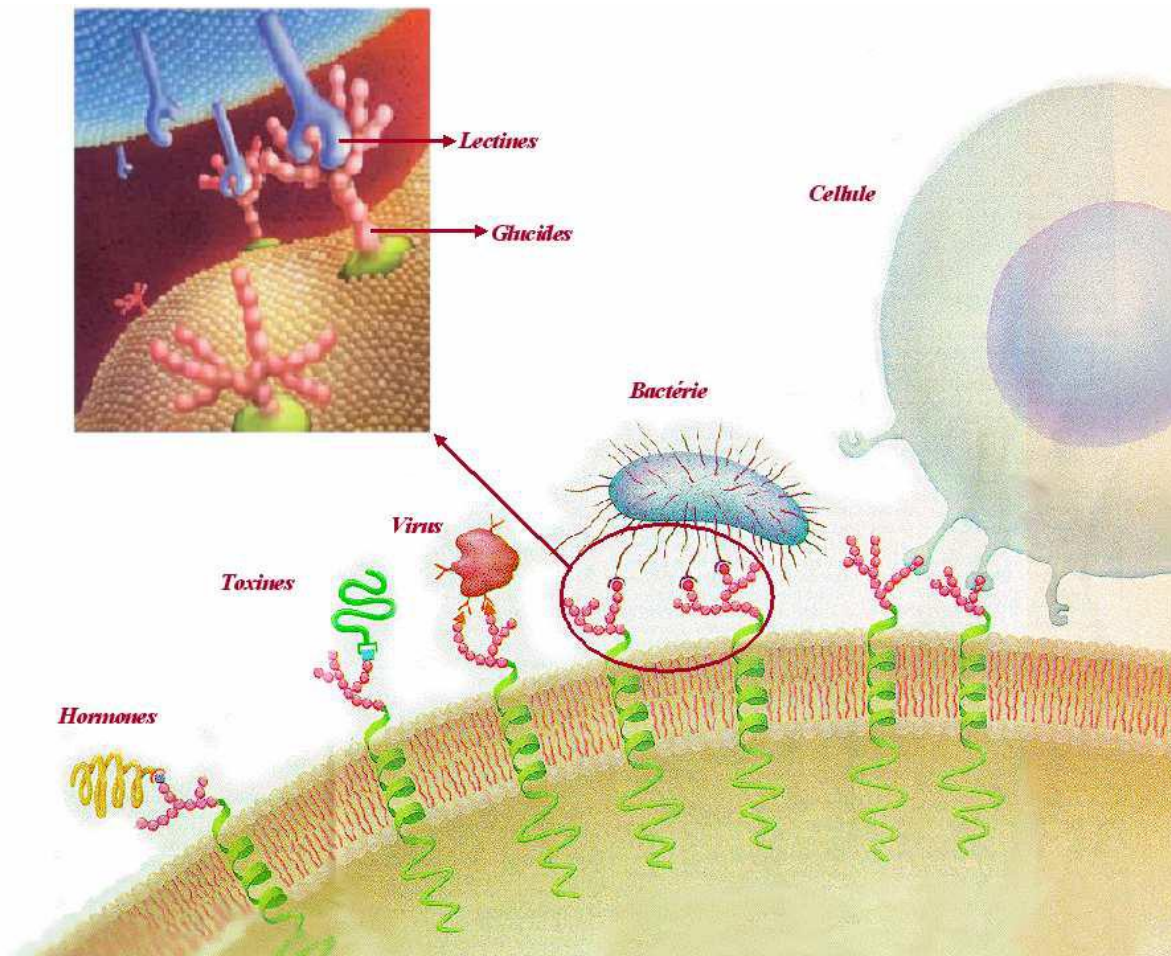


Figure 1 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides.

(KAROLINE SABÓIA ARGÃO., 2009)

Chapitre I : lectine

2. Historique

A la fin du XIX^{ème} siècle, plusieurs études mettent en évidence l'existence de protéines capables d'agglutiner naturellement des hématies ou érythrocytes, d'où leur nom d'hémagglutinines. La première description de l'une de ces protéines a été réalisée à l'université de Dorpat où il a présenté une hémagglutinine très toxique extraite des graines du ricin (*Ricin uscommunis*), appelée ricine. (STILMARK., 1888)

En 1919, à l'université Cornell (Ithaca, New York), isola à partir du pois (*Canavalia ensiformis*) la première hémagglutinine pure, la concanavaleine A (SUMNER, 1996). Ils ont trouvé la spécificité de ces protéines envers les sucres, soit la mise en évidence de l'inhibition de l'activité de l'activité de l'hémagglutination de la concanavaleine A par le saccharose. (SUMNER et HOWELL., 1936)

En 1940, après la découverte des groupes sanguins A, B et O, ils ont démontrés la spécificité de ces hémagglutinines avec les différents groupes sanguins humains. Cette découverte a conduit de proposer pour ces protéines le nom de lectines par (BOYD et SHAPLEIGH. 1954) reporté par (SHARON et LIS. 2004). Avec l'utilisation de la chromatographie d'affinité pour la purification de lectines, Le nombre des lectines caractérisées a augmenté durant ces dernières années. (SOPHIE MATHIEU., 2011)

3. La distribution des lectines dans le monde vivant

Les lectines sont des protéines ubiquitaires, présentes dans tous les organismes vivants. Il existe une grande variété de lectines qui présentent une très grande diversité structurale. Le nombre de structures cristallographiques de lectines est toujours en croissance, et on connaît aujourd'hui la structure tridimensionnelle d'environ 770 lectines. La banque de lectines comprend ainsi 48 familles structurales différentes dont 6 d'origine végétale, 10 d'origine bactérienne, 18 d'origine animale, 5 familles d'origine virale, 8 d'origine fongique et 1 famille d'algues, (Tableau 1). (<http://www.cermav.cnrs.fr/lectines>)

Chapitre I : lectine

Tableau 1 : Exemple des lectines dont les structures tridimensionnelles sont connues

(<http://www.cermav.cnrs.fr/lectines>)

Origine	Exemples de Lectines	Native	Complexé	Total
Plantes	ConA Ricine	106	201	307
Bactéries	PA-IL de Pseudomonas Toxine de cholera	37	79	116
Animaux	E-selectin Helix pomatia agglutinin	80	152	232
Virus	Hemagglutinin de virus Capside de rotavirus	43	25	68
Champignons	lectine de mousseron	17	23	40
Algues	Griffithsin	2	7	9
Total		285	487	772

3.1. Lectines de vertébrés

Les lectines animales sont réparties dans des familles très différentes. Les trois familles les plus étudiées sont les *galectines*, les lectines de *type C* et les *siglecs*.

Les structures de *galectines* sont relativement simples. Ces protéines sont spécifiques pour le β -galactose et plus précisément pour le lactose (β Gal1-4Glc) et le N-Acetyllactosamine (β Gal1-4GlcNAc) (Leffler, *et al.* 2004). La première structure tridimensionnelle d'une galectine humaine (la galectin-7 (hGal-7)) a été obtenue dans sa forme native et complexée avec le galactose, le galactosamine, le lactose, et le N-acetyllactosamine (Leonidas, *et al.*, 1998)

Les lectines du type C, présentent un CRD (*Carbohydrate Recognition Domain*) bien conservé qui implique un atome de calcium dans l'interaction protéine-sucre

Chapitre I : lectine

(DRICKAMER., 1993). Les lectines de type-C sont soit en circulation dans le plasma, soit attachées aux Surfaces cellulaires par la présence d'un segment transmembranaire. Un exemple de la structure 3-D d'une lectine du type C est l'E-selectine en complexe avec le Sialyl Lewis X (Figure 2.) (SOMERS, *et al.*, 2000)

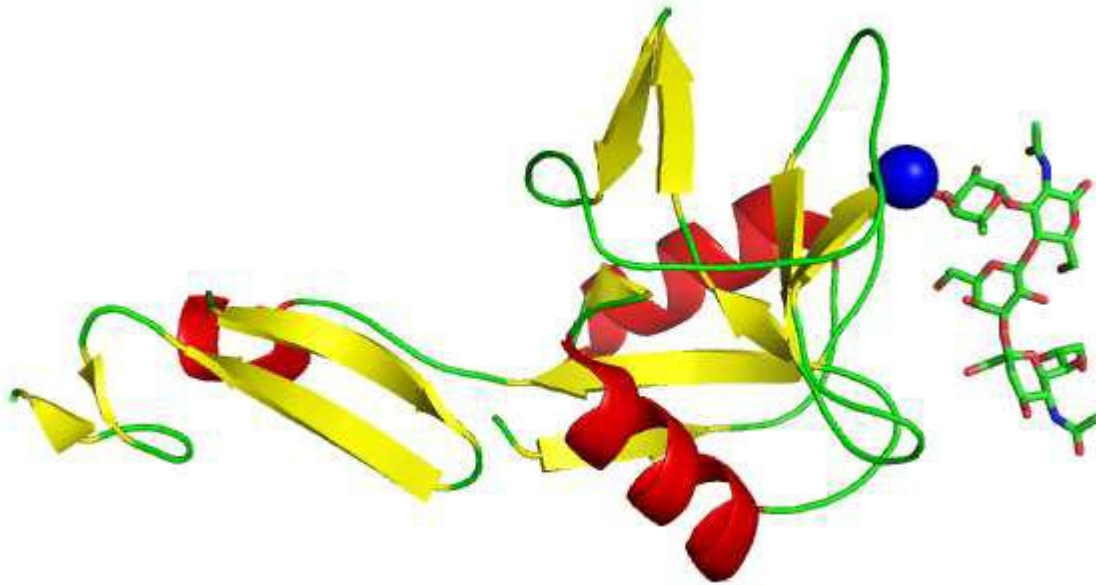


Figure 2 : Représentation graphique de la structure de l'E-selectine humaine en complexe Avec le Sialyl Lewis X (SOMERS, *et al.*, 2000). Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

Les Siglecs, ou lectines de type I, constituent une famille de lectines qui reconnaissent l'acide sialique (CROKER., 2002).

La plupart des lectines de vertébrés ont une localisation extracellulaire et sont capables de détecter les modifications de glycosylation sur les cellules environnantes. Elles jouent donc un rôle dans la vie sociale des cellules et sont impliquées dans des processus tels que la fécondation, la migration et le développement cellulaire. Par exemple, dans le processus de fécondation, un glycoconjugué de la surface de l'ovule interagit avec une lectine (spermadhésine) du spermatozoïde (TOPFER-PETERSEN, *et al.*, 1998).

Chapitre I : lectine

3.2. Lectines des invertébrés

La présence de lectines a été démontrée chez les invertébrés terrestres ou marins. Ces protéines font souvent partie d'un système d'immunité innée et présentent donc des spécificités pour les glucides présents à la surface d'organismes pathogènes (VASTA. 1992). Chez les invertébrés, les lectines sont distribuées dans toutes les classes et sous-classes étudiées. Nous pouvons donner en exemple : les gastéropodes avec la lectine d'escargot de *Cepaea hortensis* (GERLACH, et al., 2002), et la structure de lectine extraite de l'escargot *helix pomatia* a permis de définir une nouvelle famille de lectine, de type H. (SANCHEZ, et al., 2006)

3.3. Lectines de microorganismes

Les microorganismes pathogènes, virus, bactéries, champignons ou parasites eucaryotes, utilisent fréquemment des lectines pour reconnaître les sucres présents sur la surface des cellules hôte. Ces interactions lectines-sucres jouent également un rôle dans l'adhésion sur les tissus richement glycosylés présents dans les voies respiratoires, digestives ou dans l'appareil urogénital (SHARON. 1996 ; IMBERTY et VARROT., 2008)

3.4. Lectines de plantes

Historiquement, les lectines de légumineuses telle que la concanavaleine A(ConA) ont été les premières à être caractérisées. La première structure cristallographique d'une lectine de légumineuses (ConA) a été déterminée en 1972 (EDELMAN, et al.,1972 ;HARDMAN et AINSWORTH., 1972). La Figure 3 représente un tétramère de la protéine ConM de *Canavalia maritima* complexée avec le tréhalose (DELATORRE, et al., 2006)

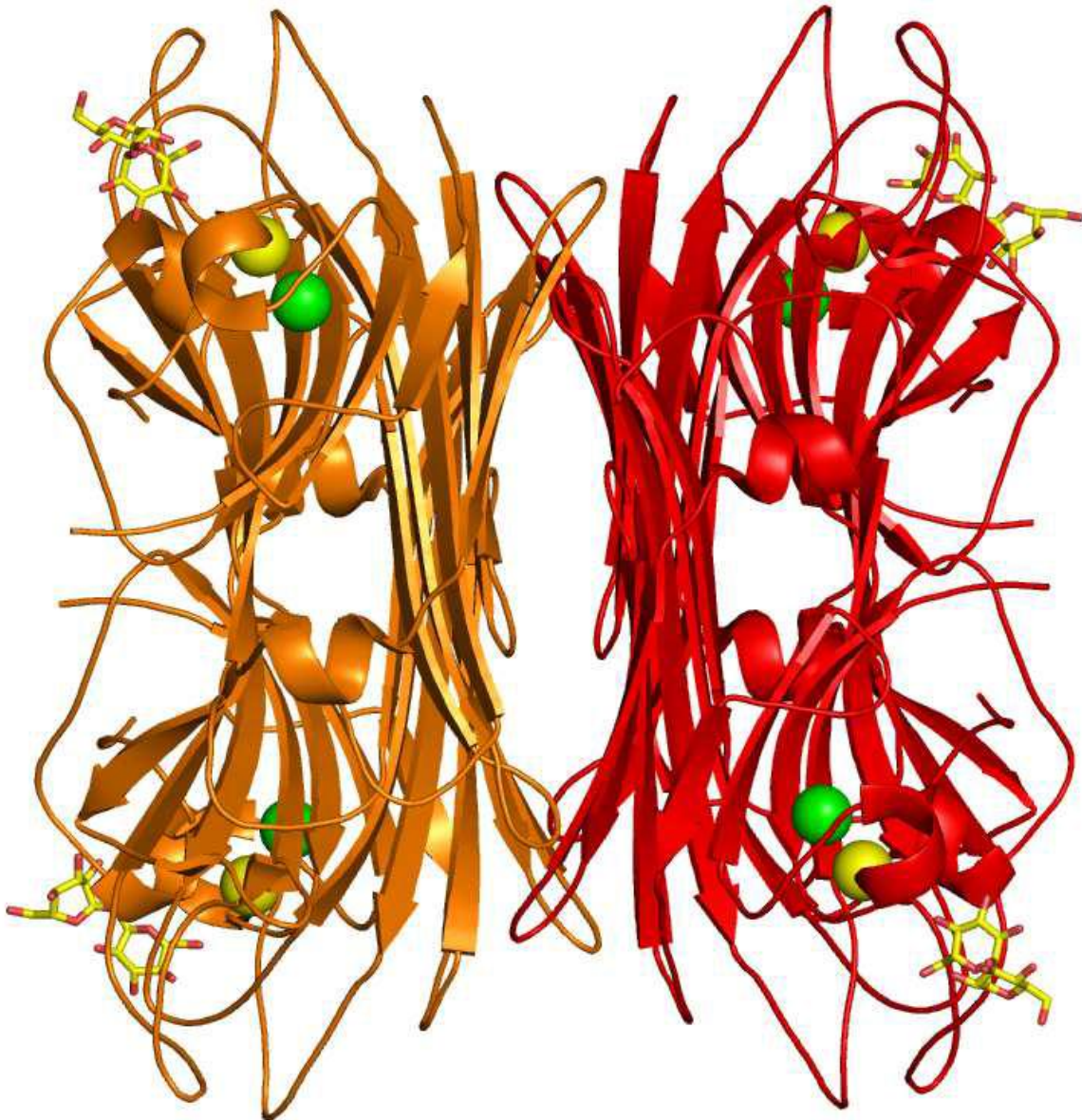


Figure 3 : Tétramère de la protéine ConM de *Canavalia maritima* complexée avec le tréhalose (DELATORRE, *et al.*, 2006). Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets.

Chapitre I : lectine

4. Classification des lectines

Selon la classification de Peumans et Van Damme (1995), trois types majeurs de lectines sont présentes chez les plantes :

4. 1. Les Mérolectines :

Les mérolectines sont de petits peptides, formés d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides. Les mérolectines sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules. (PEUMANS W. J. et V. DAMME J.M., 1995)

4.2. Les hololectines :

Les hololectines contiennent deux domaines (ou plus) de liaison aux glucides quasi identiques, ou du moins très homologues. Les hololectines peuvent précipiter les glycoconjugués ou agglutiner les cellules. La majorité des lectines de plantes connues sont des hololectines. (PEUMANS W. J. et V. DAMME J.M., 1995)

4.3. Les Chimérolectines :

Les chimérolectines possèdent un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides ainsi qu'un domaine ayant une activité catalytique bien définie et agissant indépendamment du site de liaison. Selon le nombre de liaisons aux glucides, les chimérolectines se conduisent comme des mérolectines (exemple : chitinase classe I) ou comme des hololectines (exemple : type 2-Ribosome Inactivating Protéine : Protéine Inactivant les Ribosomes comme la ricine) (PEUMANS W. J. et V. DAMME J.M., 1995)

Chapitre I : lectine

5. Les caractéristiques physico-chimiques des lectines

- ❖ Variété des lectines purifiés comprennent des sucres liés de façon covalente à la chaîne polypeptidique, et ils sont de ce fait des glycoprotéines. (PUSTZAI, 1991) Cependant, des lectines comme la ConA et la GNA (*Galanthus nivalis* agglutinine) ne sont pas glycosylés. (SHIBUYA et al., 1988)
- ❖ La **masse moléculaire** des lectines varie énormément d'une molécule à l'autre, L'agglutinine d'*Urticadioica* L. est une très petite à une masse moléculaire de l'ordre de 8 à 9 kDa (BROEKAERT et al., 1989), alors que celle de *Phaseolus lunatus* L. est de 245 kDa (SAUVIN., 1995).
- ❖ Lectines sont des protéines oligomériques formé de dimère ou tétramère avec forte conservation de la sous unité monomérique qui peut être oligomériser par différents méthodes. (REMY LORS et al., 1998).
- ❖ Pour certaines lectines, l'activité biologique est associée à la présence de **cations bivalents**. Ainsi, la ConM est une métalloprotéine, dont l'activité biologique nécessite obligatoirement la présence de manganèse (Mn^{2+}) et de calcium (Ca^{2+}) (DELATORRE, et al., 2006)

6. Reconnaissance des ligands

Une caractéristique prédominante des lectines est la faible affinité des CRD pour leurs ligands. En effet, chez les mammifères les lectines ont une affinité pour des monosaccharides de l'ordre du M. Cette faible affinité ne permet pas de fixer fortement leurs ligands pour induire un signal. Pour effectuer correctement leurs rôles, les lectines utilisent différents mécanismes permettant d'augmenter l'affinité par des phénomènes de multivalence. Cette multivalence peut être induite par l'oligomérisation de la protéine, par la présence de plusieurs CRDs, ou par la multivalence de surface pour les lectines membranaires qui ne possédant qu'un seul CRD etin capables de s'oligomériser (Figure5). On peut retrouver aussi une combinaison de plusieurs facteurs comme l'oligomérisation de la protéine ainsi que de la multivalence de surface. (ERICCHABROL., 2012)

7. Fonction des lectines

7.1. Fonction des lectines chez l'homme

- ❖ Les lectines immobilisés sur colonne peuvent être utilisés pour l'identification et la purification de glycoconjugués par spécificité, amènent aussi à leur caractérisation. (HIRABAYASHI., 2004)
- ❖ Certains lectines reconnaissent spécifiquement les antigènes des groupes sanguins humains. (BOYD et SHAPLEIGH., 1954)
- ❖ Des lectines purifiées à partir des graines de légumineuses tropicales ont des propriétés anti-inflammatoires. (ALENCAR et al., 2005)
- ❖ Lectine extraite à partir de *S. littoralis* a des activités antimicrobiennes. (SEUFIAM. et al., 2012)
- ❖ Certaines lectines purifiées à partir d'invertébrées terrestres ou marines sont employées comme marqueurs histochimiques dans des cas de maladies tel que le cancer qui sont associées à une modification des glycanes présents sur les cellules (GUILLOT et al., 2004); c'est le cas de HPA est une protéine actuellement largement utilisée en histopathologie comme marqueur spécifique de certains cancers.(DENNIS, et al., 1999)
- ❖ Les CBAs (Carbohydrate-binding agent) interagissent avec les glycanes portés sur l'enveloppe virale de HIV et bloquer l'entrée virale aux cellules cibles. Lectines d'algues peuvent être considérées comme CBAs avec la majorité des anti-HIV(DANA H. et DOMINIQUE S., 2012); Comme un exemple l'OAA (Oscillatoria Agardhii agglutinin) isolé par il a un poids moléculaire de 13,9 kDa. (SATO et al., 2000 ; 2007)

Chapitre I : lectine

7.2. Fonction de lectines dans les plantes

- ❖ Les premiers travaux sur les lectines sont principalement dirigés vers les protéines des graines, mais leur distribution ne se limite pas seulement à cet organe de réserve. Des lectines sont détectées aussi bien dans les feuilles, que dans les tiges ou les racines. (SAUVION., 1995)
- ❖ des nombreuses fonctions ont été proposées pour les lectines végétales tel que la protection contre les pathogènes et les insectes, le transport et le stockage des glucides et la reconnaissance cellulaire (dans la cellule, entre les cellules ou entre organismes). (PUSTZAI., 1991)
- ❖ Elles ont été également considérées comme des protéines de réserve ou comme des régulateurs de croissance. (PUSTZAI., 1991)

8. L'agglutination cellulaire

Beaucoup de lectines sont déjà décrites dans la littérature scientifique. Des nombreuses lectines sont capables de se fixer aux cellules sanguines et provoquer leur agglutination. On parle alors de phyto-agglutination et plusieurs d'entre elles le font avec une spécificité de groupe. C'est pourquoi celles-ci sont utilisées comme réactif de groupage ; c'est le cas de la lectine de *dolichos biflorus* qui agglutine spécifiquement les hématies A1. (BIRD., 1951)

La mesure d'activité hémagglutinante est le test le plus simple et le plus largement utilisé pour la détection des lectines et leur caractérisation (GOLDSTEIN, et al. 1980 ; RUDIGER, 1993), il est basé sur la propriété de ces protéines de lier des glycoconjugués de la surface des érythrocytes. Ce test repose sur l'observation de l'agglutination (ou agrégation) des érythrocytes par les lectines visible à l'œil nu sous forme d'une phase gélatineuse et sur la détermination du point d'équivalence qui est la concentration minimale de lectine montrant une agglutination évidente. Les érythrocytes de plusieurs mammifères sont parmi les plus utilisées (humain, lapin, mouton, porc, etc...). (KAROLINE SABOIA ARAGAO., 2009).

Chapitre I : lectine

9. Lectines substances anti-nutritionnelles

Les produits alimentaires d'origine végétale contiennent des substances naturelles qui à cause de leurs propriétés toxiques, peuvent limiter le potentiel nutritionnel des protéines végétales. Parmi ces substances dites anti-nutritionnelles se retrouvent les lectines ou phyto-hémagglutinines. (JAFFE, 1980 ; GRANT., 1991)

La majorité des travaux concernant l'étude des lectines a été consacrée aux graines de légumineuses (haricot, soja, pois). (VALDEBOUZE et al., 1980 ; THORN et al., 1983). Et indique que les lectines de ces graines ont des effets négatifs sur l'utilisation digestive dont il peut provoquer des troubles digestives et métabolique manifeste par mal absorption des protéines et des carbohydrates. (GREER et al., 1985) et des effets toxiques sur les animaux qui les consomment. (ROUANET et al., 1985)

10 .Inhibition des lectines par les sucres

À l'heure actuelle, il existe plusieurs techniques expérimentales qui permettent d'évaluer les interactions lectine-sucre. Certaines mesurent la capacité des lectines à inhiber, à réticuler ou à agréger les sucres. D'autres mesurent la spécificité et/ ou l'affinité de ces protéines pour leurs ligands et permettent de comprendre les forces d'interaction mises en jeu. (KAROLINE SABOIA ARAGAO., 2009)

La spécificité osidique des lectines se définit en termes de **concentration minimale de monosaccharides** nécessaire pour inhiber l'agglutination ou la réaction de précipitation des cellules animales induite par ces molécules (Goldstein et Hayes, 1978 ; Goldstein et Poretz., 1986). Au regard des observations de Krüpe (1956, cité par Goldstein et Poretz., 1986), et de ses propres études, Mäkelä (1957) suggère que les monosaccharides réagissant avec les lectines peuvent être divisés en **quatre classes**. Cette classification se base sur la structure stéréo-isomérique des groupements hydroxyles en C-3 et C-4 du cyclepyranose (figure4).

Elle permet ainsi de distinguer dans un premier temps **quatre groupes** de lectines :

Chapitre I : lectine

-1) les lectines, telles celles de *Lotus tetragonolobus* et *Ulexeuro paeus*L. se liant au **L-fucose** (sucre de la classe I) ;

-2) les lectines, comme celle du soja, se liant au **galactose** et/ou à la **N-acétylgalactosamine** (sucres de la classe II) ;

-3) les lectines, telles la ConA ou la GNA, se liant au **mannose** et/ou au **glucose** (sucres de la classe III selon Mäkelä) ;

-4) à ce jour, il n'a pas encore été mis en évidence de lectines interagissant avec l'un des sucres de la classe IV (idose, gulose, L-glucose et L-xylose).

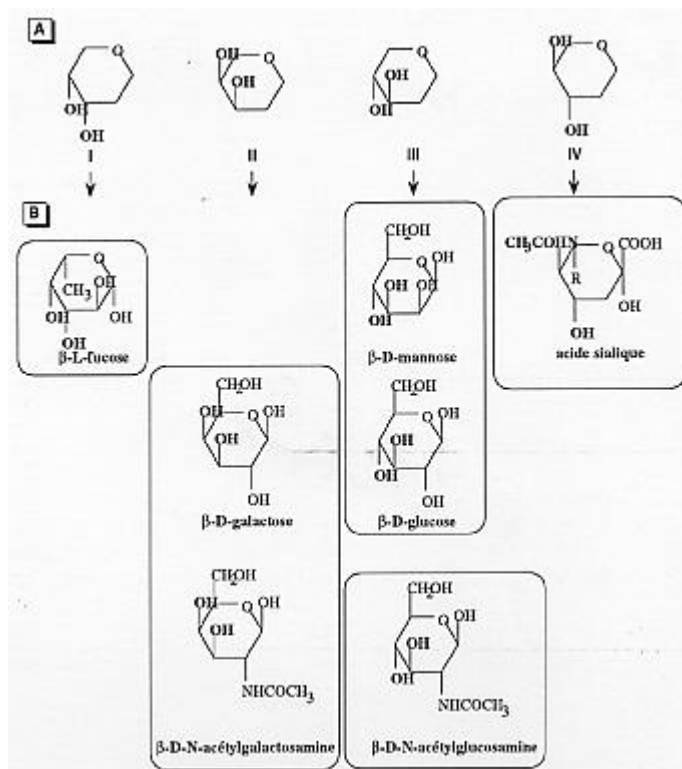


Figure 4 : A. Classification des sucres selon Mäkelä basée sur la position des groupements

hydroxyyles en C-3 et C-4 du cycle pyranose

B. Structures des sucres reconnus par les lectines des cinq principales classes.

Chapitre I : lectine

11 .Application des lectines

Chaque lectine a ses propres caractéristiques, notamment par rapport aux applications biologiques. Cela signifie qu'en générale, chaque lectine a son application potentielle, ce qui explique pourquoi chacune d'entre elles, même si elle semble structurellement similaire à une autre lectine, mérite d'être étudiée séparément (PEUMANS et VAN DAMME., 1995)

- ❖ **En biochimie et protéomique** : Les lectines fournissent des outils pour étudier les glycoprotéines(anticorps, cytokines, hormones, facteurs de croissance, enzymes, récepteurs et même toxines et virus) pour les purifier (par affinité, une fois couplées à un support chromatographique). Pour les détecter (une fois marquées par un fluorophore ou une enzyme, immuno-blotting, immuno-précipitation...). Les glycoprotéines, éventuellement après clivage enzymatique, peuvent ainsi être caractérisées quantitativement et qualitativement (structure des complexes et interactions). (DOLE. A. et LINDEBERG. S., 2005)

- ❖ **En immunologie** : Ces protéines ont été utilisées comme outils pour les études immunologiques et glycobioologiques, à cause de leur domaine de reconnaissance des glucides (CRD) qui interagit sélectivement avec certains résidus d'oligosaccharides. (BONNEIL et al., 2004)

- ❖ **En hématologie** : La plupart des lectines agglutinent les érythrocytes, se liant aux Antigènes de groupe sanguin. La lectines d'Ulex Europaeus reconnaît la substance H présents sur les hématies de groupe O et A2, celle de Dolichos biflorus le groupe A1. (DOLE A. et LINDEBERG S., 2005)

- ❖ **En neurologie** : La lectine PHA-I permet le traçage antérograde des axones efférents. (NEIL R., 2007)

- ❖ **En virologie** : La lectine de bananeinhibe le HIV-1 in vitro.(KAVITHA., 2006)

Chapitres II :

Plantes médicinales



Figure 5 : La plante d'Aloès Vera (WIKIPEDIA., 2014)



Figure 6 : Les racines d'Aloès Vera (WIKIPEDIA., 2014)

Chapitres II : Plantes médicinales

1. L'Aloès Vera

1.1. CARACTERES BOTANIQUES :

L'Aloès est une plante vivace sans tige originaire d'Afrique équatoriale de la famille des liliacées.

C'est une plante charnue, adaptée aux périodes de sécheresse et au climat chaud, ses feuilles épineuses peuvent atteindre 60 cm.

Les feuilles en bouquet sont charnues, lancéolées, épaisses, rigides et à bord épineux. Les fleurs sont jaunes réunies en grappe portée par une hampe florale de grande taille. Le fruit est une capsule. (BERNARDES I., 2012)

1.2. La classification botanique (EMMANUEL MORIN ., 2008)

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous-règne :	<i>Tracheobionta</i>
Division :	<i>Magnoliophyta</i>
Classe :	<i>Liliopsida</i>
Sous-classe :	<i>Liliidae</i>
Ordre :	<i>Liliales</i>
Famille :	<i>Aloeaceae</i>
Genre :	<i>Aloe</i>

Chapitres II : Plantes médicinales

1.3. Intérêt d'Aloès Vera

- ❖ **Brûlures.** l'application externe d'aloès peut être utile pour accélérer la guérison de brûlures au 1er et 2e degré. (DEVARAJ S. et al., 2013)
- ❖ **Lichen plan.** Il s'agit d'une maladie auto-immune qui se manifeste par des lésions sur la peau et les muqueuses. utilisation de gel d'Aloès Vera plus efficace pour accélérer guérison cette maladie. (SEHGAL I et al., 2013)
- ❖ **Plaque dentaire et gingivite.** Un dentifrice contenant de l'aloès utilisé durant 30 jours n'a pas eu plus d'effets sur la plaque dentaire et la gingivite qu'un dentifrice fluoré ordinaire. (QIN PAN et al., 2013)
- ❖ **Psoriasis.** A donné lieu à deux expériences en 1996 et 2005, les résultats confirment que l'utilisation de la crème contient de l'aloès est le traitement standard pour l'élimination de cette maladie. (ALI SA et al., 2012)
- ❖ **L'Aloès** est également utile pour le traitement d'autres maladies, telles que:
 - La dermatite séborrhéique (inflammation du cuir chevelu et a également appelé le "chapeau")
 - Les aphtes
 - Les lésions cutanées causées par l'exposition professionnelle ou expérimentalement
 - gale
 - La douleur et la guérison après hémorroïdectomie. (TABOLACCI C et al., 2013)
- ❖ Est également utilisé le gel d'Aloès Vera dans les cosmétiques (gels, crèmes, écrans solaires uorasage et onguents, masques et, Bommés et les lèvres, de nombreux indicateurs de shampoing la peau sèche, la colère ou sensibles). (HADDAD P et al., 2013)



Figure 7 : plante de *Rosmarinus officinalis* L (WIKIPEDIA., 2014)



Figure 8 : les racines de plante de *Rosmarinus officinalis* L(WIKIPEDIA., 2014)

Chapitres II : Plantes médicinales

Rosmarinus officinalis L.

2.1. CARACTERES BOTANIQUES :

Le romarin est un arbrisseau dont la tige peut atteindre 2m de haut et couverte d'une écorce grisâtre, elle se divise aux nombreux rameaux opposés et tortueux. Les feuilles étroites sont vertes foncée et luisantes à la face supérieure. Les fleurs bleues violacées, visibles de Janvier à Mai, sont groupées à l'extrémité des rameaux, à la base des feuilles. (MACHADO DG et al., 2012)

2.2. Classification de *Rosmarinus officinalis L.* (WIKIPEDIA., 2014)

Régne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Rosmarinus*

Chapitres II : Plantes médicinales

2.3. Intérêt de *Rosmarinus officinalis* L

- ❖ Le romarin (*Rosmarinus officinalis*), qui est une plante versatile, est relativement peu employé en cuisine . Il sert à aromatiser les viandes, ainsi que les sauces, les plats à base de légumes, la volaille, les fruits de mer, les ragoûts, les marinades, etc. (YAZINA HELAL ., 2010)
- ❖ Le romarin est aussi utilisé comme anti-oxydant dans l'industrie de la fabrication des produits à base de viande. (ZOUBIRI S et al., 2000)
- ❖ Les feuilles de romarin donnent, après distillation à la vapeur, une huile essentielle de couleur jaune pâle. Cette huile est largement utilisée dans la fabrication des shampoings, des essences de bains, des déodorants, des cosmétiques, des parfums (en particulier de l'eau de Cologne) et des produits insecticides. (AFONSO MS et al., 2013)
- ❖ Le romarin est principalement connu pour ses qualités digestives et détoxifiantes ; il contribue à la sécrétion de la bile et, par cet effet , facilite la digestion et la purification du corps . Antispasmodique réputé grâce aux Flavonoïdes qu'il contient, (Afonso MS et al., 2013)
- ❖ le romarin est également utilisé dans le cas de ballonnements et de douleurs abdominales. Du fait des acides phénols qu'il renferme, le romarin présente des propriétés diurétiques . Il favorise l'élimination de l'eau par les reins et stimule ainsi l'excrétion urinaire. (MACHADO DG et al., 2012)
- ❖ Le romarin est un énergisant efficace. Il participe au bon tonus du cœur et aide ainsi l'organisme à se défendre Des agressions et stress . (MACHADO DG et al., 2012)
- ❖ Antiseptique, il est également recommandé en hiver pour calmer la toux et décongestionner les voies respiratoires . (MACHADO DG et al., 2012)



Figure 9 : la plante de *Syzygium aromaticum* .(WIKIPEDIA., 2014)



Figure 10 : *Syzygium aromaticum*. (WIKIPEDIA., 2014)

Chapitres II : Plantes médicinales

3. *Syzygium aromaticum*

3.1 CARACTERES BOTANIQUES :

Le giroflier est un arbre à feuilles persistantes de 15 à 20 m de haut.

Les feuilles sont opposées coriaces, persistantes et les fleurs blanches rosées sont regroupées en petites cymes compactes et ramifiées.

Les boutons floraux sont récoltés à la main, avant ouverture, puis séchés, ce sont les vraiescloues de girofle; les pédoncules floraux et les feuilles sont également récoltés et séchés et en général distillées pour obtenir l'huile essentielle de girofle et l'HE des feuilles.(DUFURNET ., 1968)

3.2. Classification (LEVASSEUR., 2012)

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Myrtaceae*

Genre : *Syzygium*

Chapitres II : Plantes médicinales

3.3. Intérêt de *Syzygium aromaticum*

- ❖ Le clou de girofle est très utilisé comme épice culinaire; il entre dans la composition du curry, aromatise les sauces, la charcuterie et certaines pâtisseries.(S. LEVASSEUR., 2012)
- ❖ En Indonésie, on le mélange au tabac (60% tabac, 40% girofle) dans les cigarettes "kretek". (SHAMA I.Y., 2013)
- ❖ Dans le monde entier, on le mâche pour améliorer l'haleine et prévenir les infections dentaires. (S. LEVASSEUR., 2012)
- ❖ Pendant longtemps, l'eugénol et le pansement à l'eugénol(eugénate) étaient utilisées par les dentistes en médication intracanalair et en oblitération provisoire, mais depuis d'autres produits plus efficaces les ont remplacés. (A.BISSON et al., 2011).
- ❖ En Aromathérapie, l'huile essentielle de girofle seule ou associée est antibactérienne, notamment dans les infections urinaires (cystites, calculs rénaux) et du tractus digestif (colite). (A.BISSON et al., 2011).
- ❖ Les phytomédicaments à base de clous de girofle servent à traiter les petites plaies, sont antalgiques, anti-inflammatoires et antibactériens: douleurs dentaires, gingivites, angines. (A.BISSON et al., 2011).
- ❖ En Asie et dans beaucoup de pays tropicaux, on calme les maux de dents en appliquant sur la dent douloureuse un clou écrasé ou un peu de coton trempé dans de l'huile de girofle. (A.BISSON et al., 2011).

Chapitre III :

Groupes sanguins

Chapitres III : Groupe sanguins

Chapitre III : Les groupes sanguins

1. Historique

En 1900 le médecin Autrichien KARLLANDSTEINER (1868-1943) démontre que les sangs humains ne sont pas tous semblables ni tous compatibles entre eux. Il découvre le système ABO, suivant lequel le sang se partage en quatre groupes : A, B, AB ou O, selon les antigènes que l'on trouve associés aux globules rouges des personnes (**BOUCHER, 2008; DANIC et LEFRERE., 2011**). Un autre antigène important des globules rouges est le facteur rhésus Rh identifié en 1940 par Landsteiner et Weiner (**Brooker., 2001**).

2. Le système ABO

Le système de groupe sanguin ABO se définit à la fois par la présence d'antigène sur les hématies et par la présence d'anticorps naturels réguliers dans le plasma. La présence sur les globules rouges d'un antigène exclut la présence dans le plasma de l'anticorps qui lui correspond, exemple : si, dans le sang d'un individu, les hématies sont porteuses de l'antigène A, le plasma ne peut pas posséder d'anticorps anti A. sinon la réaction antigène- anticorps provoquerait une agglutination (**RAME et NACCACHE., 2001**)

On peut déterminer ainsi 4 phénotypes courants :

- groupe AB (antigène A et antigène B présents et absence d'anticorps): 4% de la française
- groupe O (antigène A et antigène B absents et anticorps anti A et anti B présents): 43% de la population française ;
- groupe A (antigène A présent et anticorps anti B présent): 42% de la population française
- groupe B (antigène B présent et anticorps anti A présent): 11% de la population française (**BEZIAT et al., 1996**)

Chapitres III : Groupe sanguins

3. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Les antigènes de du système ABO proviennent d'une famille de glycolipides présents à la surface des globules rouges. Leur structure de base est constituée de lipide céramide auquel est attaché un oligosaccharide composé d'un glucose (Glu), d'un galactose (Gal), d'une N-acétyl-galactosamine (Gal Nac), d'un galactose (Gal) et d'une fucose (Fuc). Les sujets du groupe O ne produisent que ce glycolipide. Les sujets du groupe A ont un enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaine oligosacchridique pour former l'antigène A, alors que les sujets du groupe B ont une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment en plus la structure de base dépourvue des glucides terminaux, ce qui explique pourquoi des alloanticorps ne sont pas produits contre le groupe O (PARHAM., 2000). (Figure:11)

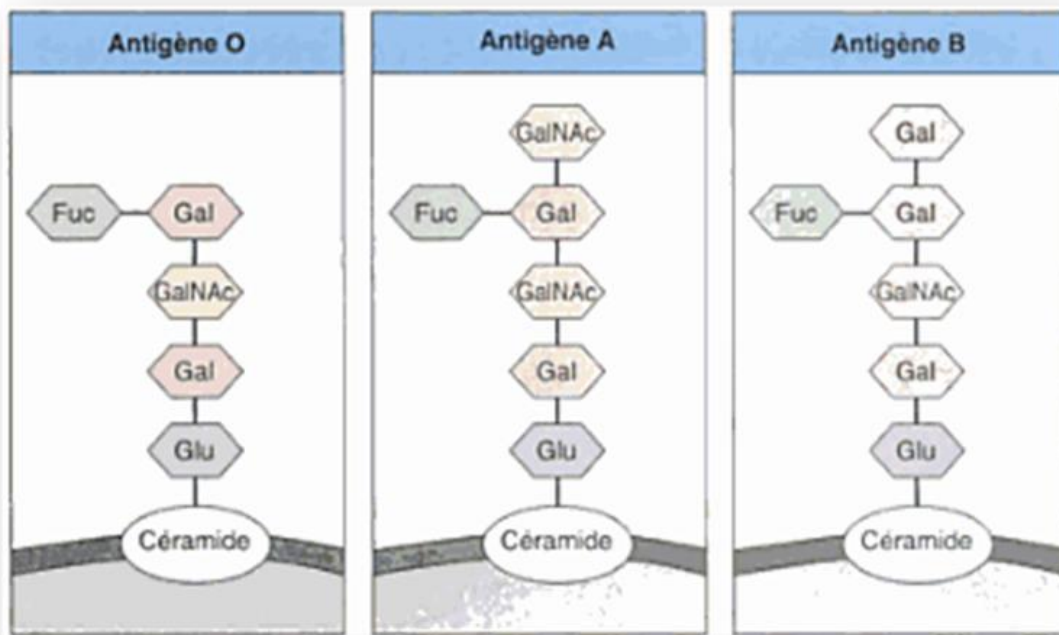


Figure 11 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (PARHAM., 2000).

Chapitres III : Groupe sanguins

4. Détermination du groupe sanguin

La détermination des groupes sanguins ABO se fait à l'aide de deux épreuves :

L'épreuve globulaire dite de Beth-Vincent (consiste à détecter les antigènes présents sur les globules rouges du patient grâce à des anticorps de spécificité connue = sérum test) et l'épreuve sérique dite de Simonin (consiste à détecter les anticorps naturels présents dans le plasma grâce à des globules rouges de groupe connu (globules tests). La détermination du groupe sanguin ABO d'un patient est systématiquement associée à la recherche de l'antigène D (BEZIAT *et al.*, 1996)

5. Lectines spécifiques des groupes sanguins

La spécificité des lectines aux groupes sanguins est présentée dans le **Tableau: 02**.

Tableaux 02: exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins.

Origine de lectine	Groupe spécifique	Référence
<i>Bandereira simplicifolia-I</i>	B	Richard, 1998
<i>Sophora japonica</i>	A, B	
<i>Vicia villosa</i>	A	
<i>Nelumbo vucifea</i>	B	Gokeret <i>al.</i>, 2008

Matériels et Méthodes

Matériel et méthodes

L'étude de l'activité hémagglutinante des lectines extraites de trois plantes. Il s'agit de déterminer l'activité des extraits bruts sur les hématies du groupe sanguin ABO. Extraction des lectines à partir des extraits bruts ayant donné une hémagglutination des hématies ABO.

1. MATÉRIELS

➤ Matériel végétal

Notre travail a été effectué sur trois plantes.

Il s'agit de :

Racine : *Aloe vera*

Racine : *Rosmarinus officinalis L*

Graine : *Syzygium aromaticum*

➤ Matériel animal

L'étude est portée sur les hématies de lapin et humaines. Il faut noter qu'il existe plusieurs antigènes du groupe sanguin humain, mais notre étude est effectuée sur les antigènes des hématies humaines appartenant au système du groupe sanguin ABO.

2 .Méthodes

2.1. Extraction

➤ Récolte et triage des échantillons

Les récoltes des échantillons ont été réalisées dans des différentes zones.

- ✓ Pour Aloès Vera, les racines ont été récoltées à Batna
- ✓ Pour *Rosmarinus officinalis* L, les racines ont été récoltées à de la montagne Chélia à Batna
- ✓ Pour *Syzygium aromaticum*, ont été récoltées à Collo.

-Pour les racines :

- **Lavage** : rince bien les racines par l'eau de robinet.
- **Séchage** : sèche les racines et à l'aire libre pendant 20 jours.
- **Broyage** : les graine de *Syzygium aromaticum* et les racines d'Aloès Vera et *Rosmarinus officinalis* L d'artichaut et de framboise sont Broyées au Moulinex

➤ Extraction des lectines

○ Principe

C'est une opération visant à récupérer les substances hydrosolubles et thermolabiles d'une poudre des racines et des graines à l'aide d'une solution saline (PBS=0.1 M , ph= 7,2) .

○ Technique

Dans un bécher, 3g de poudre de chaque plante sont mis à extraire dans 10 ml du tampon pendant une nuit. Le surnageant liquide est obtenue par centrifugation à 6000 t/min pendant 30minutes. L'extrait liquide (le surnageant liquide) est récupéré et conserve au frais pour la suite de notre investigation. (DOUMBIA., 2005)

Matériel et méthodes

2.2 Test d'agglutination

▪ Collecte des hématies

- ✓ Les hématies (globules rouges) des quatre groupes sanguins du système ABO ont été obtenues au Centre de Transfusion Sanguine d'hôpital à Collo.
- ✓ Les hématies de lapin ont été obtenues à dans des tubes héparinés.

▪ Lavage des hématies

- Dans un portoir pour tube, nous avons disposé une série de 5 tubes de lavage (sang de lapin et humain ABO).
- Nous avons porté sur chacun des tubes, le nom du sang correspondant.
- Ensuite, nous avons ajouté au sang une solution d'eau physiologique jusqu'au trait limite des tubes.
- Après avoir bien bouché nous avons centrifugé à 4000 t /m pendant 15 min.
- Le surnageant a été versé, puis nous avons ajouté de nouveau l'eau physiologique, nous avons remis en suspension les hématies tassées au fond du tube, et en fin nous avons centrifugé.
- Cette opération de lavage a été reprise 4 fois dans les mêmes conditions.
- A la fin quatrième lavage le surnageant est devenu claire, nos globules rouges sont mis. Dans un peu d'eau physiologique.

▪ Préparation des hématies à 3%

- Chaque tube contient 1,5 ml de sang
- 48,5 ml de la solution physiologique (NaCl 0,9%) est ajouté à chaque tube.

Matériel et méthodes

▪ Teste d'agglutination

- Les tests d'agglutination sont effectués dans des microplaques de titration :
- Pipeter 50 μ l d'extrait de chaque plante dans un puits.
- 50 μ l de sang de lapin est ajouté dans chaque puits.
- Après une heure de temps, la lecture d'agglutination est effectué visuellement et par le microscope optique.

2.3. Test d'agglutination avec les hématies humaines ABO

- Dans un puits d'une microplaque, 50 μ l des hématies de chaque groupe
- A été ajouté à 50 μ l d'extraits de plante.
- Après 1heure d'incubation,
- la lecture est faite à l'aide d'un microscope optique (Grossissement \times 1000).

Matériel et méthodes

2.4. Test d'inhibition par les monosaccharides

▪ Principe du test

- Les antigènes de lectine sont neutralisés par les monosaccharides.
- Si un des antigènes des lectines correspondant aux sucres testés est présent dans l'extrait, il sera neutralisé par un des monosaccharides et les hématies ajoutées au test ne peuvent pas agglutiner.
- Si l'antigène lectine n'est pas présent dans l'extrait, le monosaccharide à la surface des hématies est libre et les hématies peuvent agglutiner : dans ce cas l'agglutinine est autre qu'un lectine réagissant avec les monosaccharides utilisés.
- Des essais ont été réalisés avec le galactose, le lactose, le fructose.

▪ Test en tube

- Pipeter 50µl d'un des monosaccharides dans un puits propre.
- Ajouter 50µl d'extrait
- Bien mélanger par agitation et incubé à la température ambiante pendant une heure.
- Ajouter 50µl de la suspension d'hématies.
- Bien mélanger par agitation et incubé à la température ambiante pendant une heure.
- Observer l'agglutination macroscopique et microscopique.

▪ Interprétation

A- Agglutination des hématies :

L'agglutinine est autre que lectine réagissant avec monosaccharides utilisés.

B- Pas Agglutination des hématies :

l'antigène de lectine a été neutralisé par le monosaccharide, ce qui signifie que l'agglutinine est un lectine réagissant avec ce monosaccharide.

Matériel et méthodes

2.5. Le traitement thermique

- Le traitement thermique est effectué sur les extraits bruts de : *Syzygium aromaticum*, Aloès Vera et *Rosmarinus officinalis* L
- Trois tubes à essai, contenant chacun une aliquote de l'extrait brut, sont laissés dans un bain Marie pendant une heure à 60° C puis 80° C ,100°C et 120°C s'il y'a encore une activité à 100°C.
- Après le temps requis, l'extrait chauffé puis refroidi à la température ambiante est utilisé pour la détermination de l'activité des lectines.



Figure 12 : Les trois extraits bruts de lectine dans un bain Marie.

2.6. Extraction des extraits bruts positifs :

❖ Préparation de la colonne de Séphadex

- A 4g de gel Séphadex G-75, 100 ml de PBS est ajouté.
- Le mélange est resté 48 h à 4°C.
- Le Séphadex est placé dans une colonne chromatographique (60 cm x 2cm).
- Lors du remplissage, bien faire attention à la présence des bulles d'air : le remplissage de la Colonne doit-être parfaitement homogène.(MCLOUGHLIN D .J., 1992)

❖ Extraction des lectines

- Après la préparation de la colonne de Séphadex on laisse le gel stabiliser avec l'ajoute du Tampon (PBS).
- L'extrait brut est ensuite ajouté dans la colonne, et après on élue grâce au PBS.
- Dans un portoir on recueille des fractions de 5 ml d'extrait purifié dans des tubes à essais
- La lecture des absorbances par spectrophotomètre à 280 nm est réalisée sur chaque fraction.
- En plus la confirmation de la présence de lectine est effectuée par les tests d'agglutination.

Résultats et Discussion

Résultat et Discussion

1. Les tests d'agglutination : Extraits bruts-hématies de lapin

La plupart des lectines sont capables d'interagir avec des globules rouges. Si une solution des hématies est placée dans un puits, la sédimentation naturelle conduit à un dépôt des hématies au fond du puits. L'ajout d'une lectine permet la formation d'un réseau entre les hématies et les lectines, ces interactions forment une suspension gélatineuse homogène ; ceci correspond au phénomène d'hémagglutination.

Tableau 3 : Résultats des tests d'agglutination réalisés avec les extraits bruts et les hématies de lapin

Nature de l'extrait	Plantes	Tests d'agglutination
Extrait brute	Aloès Vera	+++
	<i>Syzygium aromaticum</i>	+++
	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	+

+++ : Très forte agglutination

++ : Forte agglutination

+ : faible agglutination

- : absence d'agglutination

Parmi les extraits de ces trois plantes utilisées, deux sont très fortement agglutinées avec les hématies de lapin : (Aloès Vera et *Syzygium aromaticum*). L'autre extrait est donné faible agglutination.

L'agglutination des globules rouges par les lectines forme des agrégats visibles à l'œil nu. En absence d'activité hémagglutinante, les hématies sédimentent par gravité au fond des puits.

D'après les résultats, les extraits bruts de (*Rosmarinus officinalis L*, Aloès Vera et *Syzygium aromaticum*) contiennent des lectines.

Résultat et Discussion

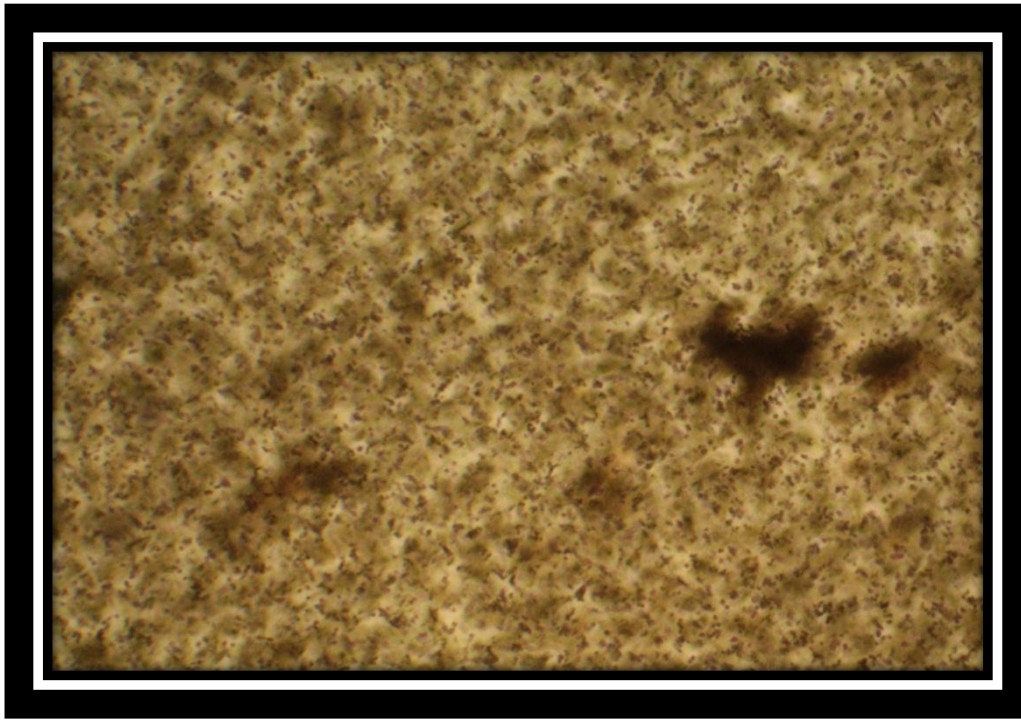


Figure 13 : observation microscopique d'agglutination d'extrait de *Rosmarinus officinalis L* avec hématies de lapin. (G x40)

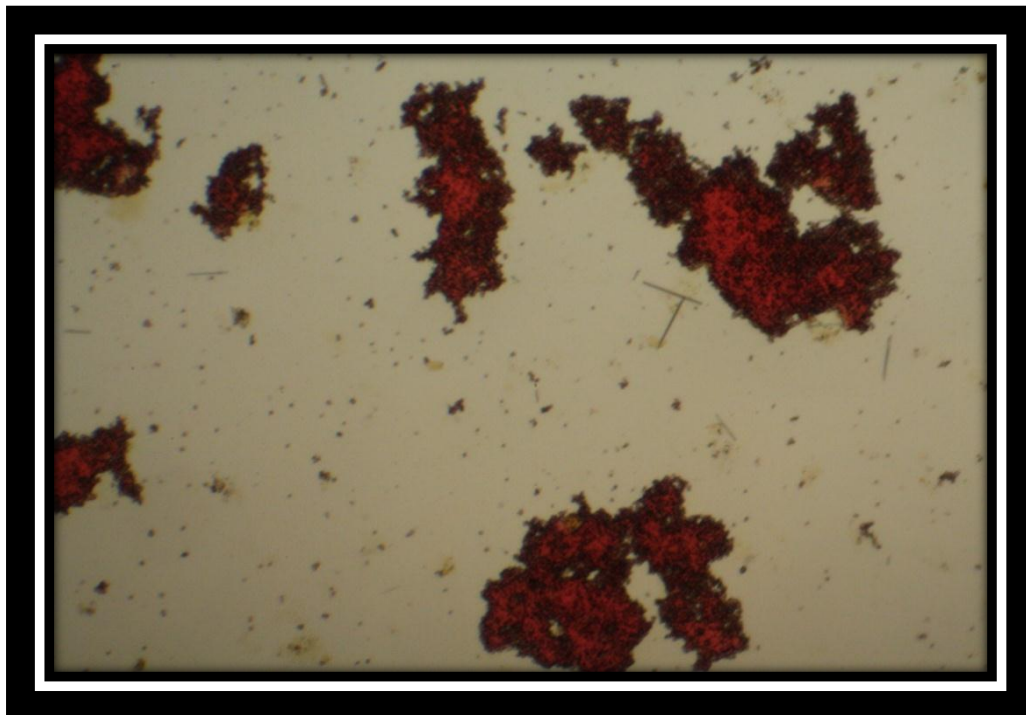


Figure 14 : observation microscopique d'agglutination d'extrait d'Aloès Vera avec hématies de lapin. (G x40)

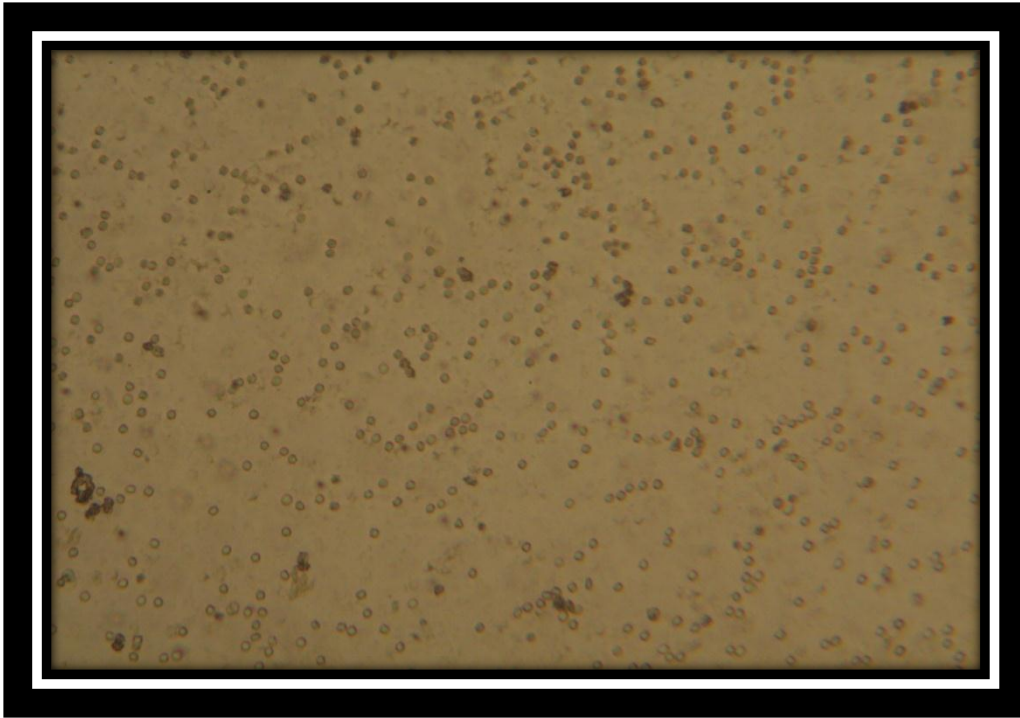


Figure 15 : observation microscopique d'agglutination d'extrait de *Syzygium aromaticum* avec hématies de lapin. (G x40)

Résultat et Discussion

2. Les tests d'agglutination : Extraits bruts-hématies humains

Les extraits de trois plantes (*Aloès Vera*, *Syzygiu aromaticum* et *Rosmarinus officinalis L*) ont été testés avec les hématies humaines pour indiquer la présence de lectine.

Tableau 4 : Résultats des tests d'agglutination réalisés avec les extraits bruts et les hématies humains.

Nature de l'extrait	Plantes	Groupe sanguin érythrocytaire	L'agglutination
Extrait brute	Aloès Vera	A	+++
		B	+++
		AB	+++
		O	+++
	<i>Syzygium aromaticum</i>	A	++
		B	++
		AB	++
		O	++
	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	A	+
		B	-
		AB	-
		O	-

Les résultats de tableau 2 indiquent que l'extrait de L'Aloès Vera et *Syzygium aromaticum* ont donné une très forte agglutination avec toutes les hématies de système (ABO), nous pouvons alors classer L'Aloès Vera et *Syzygium aromaticum* dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains,

qui sont généralement désignées comme non spécifique. Ce résultat est en accord en comparaison avec lectine de graine extraire à partir de *E. Senegalensis* par DOUMBIA M., (2005)

Cette polyagglutinabilité est due au faite que la lectine reconnaît le même sucre sur la membrane globulaire des différents groupes sanguins.

Résultat et Discussion

L'extrait de *Rosmarinus officinalis L* est montré une spécificité pour les globules rouges de type A, ce résultat a été en accord avec les lectines d'haricot de lime (*Phaseolus lumatus*) qui agglutine seulement des globules rouges de type A (**GOKER et al., 2008**). En effet, de nombreux auteurs ont déjà montré que les lectines pouvaient discriminer des groupes sanguins humains (**SAINT-PAUL., 1961**). Ce résultat indique que nous pourrions utiliser la lectine de *Rosmarinus officinalis L* comme réactif pour le groupage.

Résultat et Discussion

3. Effet de la température

Les résultats obtenus après l'exposition de nos extraits à différent température ont été présentés dans le **tableau : 5**.

Tableau 5: l'effet de la température sur l'activité héماغglutinante des extraits

	<i>Syzygium aromaticum</i>	Aloes Vera	<i>Rosmarinus officinalis L</i>
60°C	+++	+++	+
80°C	++	++	-
100°C	++	-	-
120°C	+	-	-

+++ : Très forte agglutination

++ : Forte agglutination

+ : faible agglutination

- : absence d'agglutination

Syzygium aromaticum: Le traitement thermique à 60°C maintien la même activité héماغglutinante de ces racines (+++), mais à 80°C et à 100°C l'activité est réduits, elle passe de (++) à (+).

A 120°C, l'activité héماغglutinante de ces racines devient significativement réduit(+)

Aloès Vera : A60°C, il a donné la même activité héماغglutinante (+++). Lorsque en passe à 80°C l'activité réduite (++) et devienne inactive totalement à 100°C.

Rosmarinus officinalis L : A 60°C, l'activité de romarin peu réduit. En revanche, à 80°C, pas d'agglutination avec les hématies de lapin.

Les résultats de *Syzygium aromaticum* et de l'Aloès Vera sont comparés avec l'étude d'ALASSANE (MEITE et al., 2008), qui ont travaillé sur : *Citrullus lanatus*, et de *Citrullus sp*, dont le traitement à 100°C pendant une heure est absolument inactivé l'agglutination, à l'opposition de *Syzygium aromaticum*, qui donne une activité agglutinante même à 120°C.

Résultat et Discussion

4. Test d'inhibition d'agglutination par des sucres simples

Tableau 6 : L'inhibition des lectines par les monosaccharides.

	Glucose	Galactose	Lactose
Aloès Vera	-	-	-
<i>Syzygium aromaticum</i>	-	-	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	-	-	-
L			

+ : inhibition

- : pas d'inhibition

D'après le tableau ci-dessus on remarque l'absence d'inhibition de l'activité d'agglutination, ce qui correspond à : (galactose, glucose et lactose).

Nos lectines sont similaires à la lectine extraite à partir de *Moringa pterygosperma*, 12,200 Da. (MARICEL D DE, et al., 2004)

Résultat et Discussion

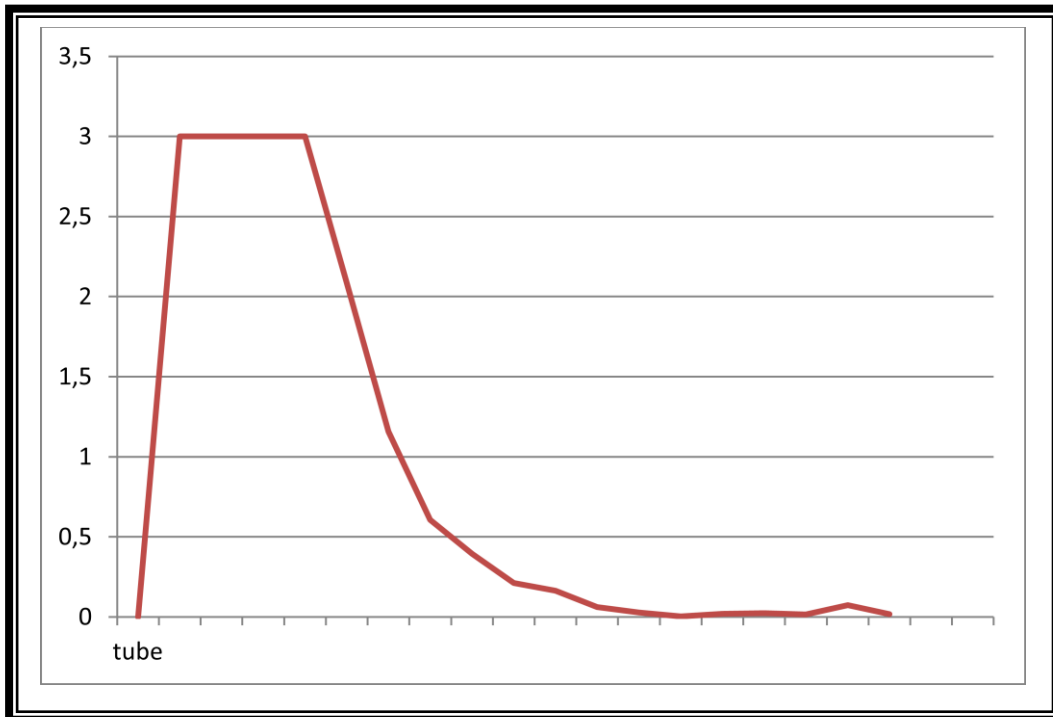


Figure 16 : Extraction des lectines de *Syzygium aromaticum* par chromatographie Séphadex G-75

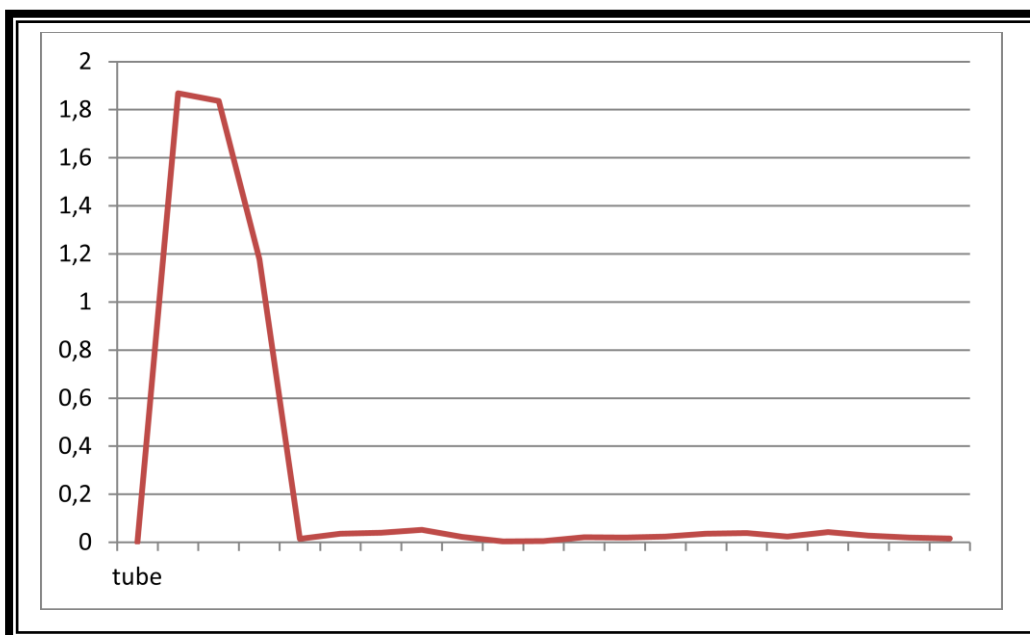


Figure17 : Extraction des lectines d'Aloès Vera par chromatographie Séphadex G-75

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives :

L'objectif de cette étude est l'extraction des lectines et leurs applications dans la détermination du groupe sanguin.

Nous avons extrait des substances à effet agglutinant sur les hématies que nous appelons lectine. (extrait de Aloès Vera, de *Syzygium aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis*L)

Les lectines d'Aloès Vera et de *Syzygium aromaticum* ont des effets poly- agglutination. Ces dernier ont surtout montrés leur pouvoir à agglutiner toutes les hématies sans spécificité de groupe sanguin du système ABO

Seul l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L, a montré une spécificité de groupe A, C'est pourquoi celles-ci peut être utilisées comme réactif de groupage qui agglutine spécifiquement avec les hématies A.

Ce travail sera poursuivi par :

- ❖ Purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC.
- ❖ D'autre tests biologiques :
 - Des tests d'inhibition avec les glycoprotéines et les monosaccharides.
 - Des tests anti-cancer.
 - Des tests anti-virus.
 - Des tests immunologiques . . . etc.

Références
Bibliographiques

A. BISSON, V. RALAI DOVY, H. RABEMANANJAR, M. JAHIEL.(2011).

Horticultural agroforestry systems in the humid Tropics : Analysis of clove Tree-based systems in Madagascar, La Réunion, France.

AFONSO MS, DE O SILVA AM, CARVALHO EB, RIVELLI DP, BARROS SB, ROGERO MM, LOTTENBERG AM, TORRES RP, MANCINI-FILHO J.

PHENOLIC .(2013).compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *NutrMetab* (Lond).

ALASSANE MEITE.,KOFFI.G.,KOUAME,et ATT.M.,OFFOUMOU,(2008).

Evaluation de l'activité hémagglutinante des lectines des graines de trois espèces de Cucurbitaceae couramment consommées en Côte d'Ivoire. *Science & nature*, 5(2), 199-204.

ALENCAR N.M.,CAVALCANTE C.F., VASCONCELLOS M.P., LEITE K.B., ARAGAO K.S, ASSREUY A.M., NOGUEIRA N.A., CAVADA B.S. et VALE

M.R.(2005). Anti-inflammatory and anti-microbial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infections peritonitis. *J.pharm.Pharmacol.*, 57,919-222.

ALI SA, GALGUT JM, CHOUDHARY RK.(2012). On the novel action of melanolysis by leaf extract of *Aloe vera* and its active ingredient aloin, potent skin depigmenting agents. *Planta Med.* 78(8), 767-71.

BERNARDES I, FELIPE RODRIGUES MP, BACELLI GK, MUNIN E,

ALVES LP,COSTA MS.(2012). *Aloe Vera* extract reduces both growth and germ tube formation by *Candida albicans*. *Mycoses*, 55(3), 257-61.

BIRD,G.(1951), plant and other agglutinins in the study of human red corpuscles in extract of *Dolichos biflorus*. *Cunsci*, 20-29.

BONNEIL,E.,YOUNG,N.M.,LIS.,H.,SHARON,N.,THIBAUT,P.(2004). Probing genetic variation and glycoform distribution in lectins of the *Erythrina* genus by mass spectrometry. *Archives of biochemistry and biophysics*, 426,241-249

BOUCHER C.(2008). Une brève histoire des idées de Galilée à Einstein. *FIDES*: 94-95.

BOYD W.C. et SHAPLEIGH E.(1954). Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). *science*, 49,119-419.

BROOKER C.(2001). Le corps humain: étude, structure et fonction, le rôle infirmer dans la pratique clinique. 2ème édition, DE BOECK : 196.

CROCKER, P.R. (2002). Siglecs :sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in cell interactions and signalling *curr.opin.struct.biol.*,12,609-615.

DANA HUSKENS et DOMINIQUE SCHOLS. (2012). Algal lectins as potential HIV microbicide candidates. *Mar. Drugs*, 10, 1476-1497.

DANIC B .LEFRÈRE J.-J.(2011). La transfusion sanguine et le don de sang traité par le cinéna. *Hématologie*17(16),402-409.

DELATORRE, P., et AL. (2006). Crystal structure of a lectin from *Canavalia maritima* (ConM) in complex with trehalose and maltose reveals relevant mutation in ConA-like lectins. *J. Struct. Biol.*, 154, 280-286.

DENNIS, J. W., GRANOVSKY, M. et WARREN, C.E. (1999). Glycoprotein glycosylation and cancer progression. *Biochim. biophys. acta*, 1473, 21-34.

DEVARAJ S, YIMAM M, BROWNELL LA, JIALAL I, SINGH S, JIA Q.(2013). Effects of Aloe Vera supplementation in subjects with prediabetes/metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 35-40.

DOLE A., ET LINDEBERG S. (2005). Agrarian diet and diseases of affluence- do evolutionary novel dietary lectins cause leptin resistance. *Bio, med central lib. doi* : 10.1186/1472-6823-5-10.

DOUMBIA MOUSSA. (2005). Extraction et purification de lectine à partir des graines de la flore malienne. Thèse pharmacien. Faculté de médecine de pharmacie et odontostomatologie à mali.

DRICKAMER, K. (1993). Ca²⁺-dependent carbohydrate-recognition domains in animal proteins. *Curr. Opin. struct. biol.*, 3, 393-400.

EDELMAN, G.M., CUNNINGHAM, B.A., REEKE, G. N., BECKER, J.W.,

WAXDAL, M.J. et WANG, J.L.(1972). The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. *proc. nat. acad. sci. usa*, 69, 2580-2584.

ERIC CHABROL.(2012). Caractérisation structure et fonctionnelle d'une lectine de type-c des cellules de langerhans : la langérine. Thèse de doctorat d'université grenoble spécialité : biologie structurale et nanobiologie.

GERLACH, D., WAGNER, M., SCHOLTT, B., ZAHNINGER, U. et SCHMIDT,

K.H.(2002). Chemical and physicochemical characterization of the sialic acid-specific lectin from *Cephaelis*. *Fems Microbiol Lett*, 214, 61-68.

GIANLUCA CIOCI. (2006). Etude structure-fonction de glycoconjugués et de lectines bactériennes et fongiques. Thèse de doctorat d'université Grenoble I-Joseph Fourier école doctorale chimie et sciences du vivant.

GOLDSTEIN I.J. ET HAYES, C.F.(1978). The lectins carbohydrate binding proteins of plants and animals. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 35:127-334

GOLDSTEIN IJ HUGHES RC MONSIGNY M OSAWAT AND SHARON N .(1980). What should be called a lectin nature 285 – 66

GOLDSTEIN IJ et PORETZ R.(1986). Isolation physicochemical characterization and carbohydrate binding specificity of lectins in the lectins properties function and applications in biology and medicine. *Orlando USA Int Rev Le Sharon N Goldstein* 103

GREER F . BREWER AC. ET PUSZTAI A.(1985). Effect of kidney bean phaseolus. *Nutr*. 54, 95 - 103

GUILLOT J. GUERRY . M .KONSKA .G . CALDEFIE C .F . DE .LATOUR M. et PENAULT .L .F.(2004). Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation . cas des carcinomes mammaires *Bull Cancer* . 91 , 141 - 158 .

HADDAD P, AMOUZGAR-HASHEMI F, SAMSAMI S, CHINICHIAN S, OGHABIAN MA.(2013). Aloe vera for prevention of radiation-induced dermatitis: a self-controlled clinical trial, *4*, 345-8.

HIRABAYASHI J.(2004). Lectin based structural glycomics glycoproteomics and glycan profiling *Glycoconj J* , 21, 34-40 .

HUSEINI HF, KIANBAKHT S, HAJIAGHAEI R, DABAGHIAN FH.(2012). Antihyperglycemic and anti-hypercholesterolemic effects of Aloe Vera leaf gel in hyperlipidemic, type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Planta Med*, 78(4), 311-6.

JAFFE W.G.(1980). Hemagglutinins-lectins in lieneries toxic constituents of plant food stuffs. 2nd edition New York and London Academic Press 73-102.

KAROLINE SABOLA ARAGAO.(2009).études structure fonction de lectinesdiscl et discii de dictyosteliumdiscoideumthèse de doctorat d'universitygrenoble i joseph fourierécoledoctorale chimie et sciences du vivant.

KAVITHA. M.SWAMY.M.J.KOMATH.(2006).organie and biomolecularchemhstry, 4,973-988.

KOCOUREK .J.HORE.JSL.V.(1981) defining a lectin.nature ,290-188

LEDREUX, A.(1932). Le giroflier à Ste Marie et à Madagascar, extrait de l'Agronomie coloniale n° 175 et 176, 26 p.

LEFFLER H. CARLSSON S.HEDLUND M.QIAN Y.et POIRIER F. (2004) .introduction to galectins Glycoconj.19,433-440.

LEONIDAS D.D.VATZAKI.E.H.VORUM.H.CELIS.J.E.MADSEN .P.ETACHARYA.K.R.(1998) stuctural basis for the recognition of carbohydrates by hymangalectin .37,13930-13940.

LIS .H. SHARON .N.(1998). lectins. Carbohydrate.Specifie proteins that mediate cellular recognition chem Rev .98,637-674.

MACHADO DG, NEIS VB, BALEN GO, COLLA A, CUNHA MP,

DALMARCO JB, PIZZOLATTI MG.(2012). Prediger RD, Rodrigues AL. Antidepressant-like effect of ursolic acid isolated from Rosmarinusofficinalis L. in mice: evidence for the involvement of the dopaminergic system. PharmacolBiochemBehav. 103(2), 204-11.

MAKELA.D.(1957).studhes in hemagglutinins of leguminosae seeds Ann.MedExpBiol Fen .35(11), 1-56.

N. ANDRIANIRINA, M. BENOIT-CATTIN, H. DAVID-BENZ,

DECEMBRE.(2010). diversité, diversification et inégalités chez les ménages ruraux. Le cas de l'observatoire de Fénériver Est à Madagascar, Rennes, France.

NOUI .Y.(2007).caracterisationphysico.chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte mech .degla.these de magister specialitegeniealimentaire.Universite de Boumerdes .62.

PARHAM P.(2000). Le système immunitaire. De BOECK Université : 340.

PEUMANS W.J.ETV.DAMME J.M.(1995).lectins as plant defens proteins plant physiology .109,347-352 .

PUSZTAI .A.(1991).plantlectins chemistry and pharmacology of natural products cambridge (GBR).cambridge university press 253.

QIN PAN, HONGMING PAN, HAIZHOU LOU, YINGHUA XU AND LU TIAN.(2013).Inhibition of the angiogenesis and growth of Aloin in human colorectal cancer in vitro and in vivo.

RAME A .NACCACHE P.(2001). Transfusion sanguine. LAMARRE: 05.

R. DUFOURNET.(1968). le giroflier et sa culture à Madagascar, bulletin de Madagacascar, n°262, Tananarive, Madagascar.

REMY . LORIS .THOMAS HAMELRYCK .JULIE BOUCKAERT ET LODE WYNS.(1998) legumelectinstuctureBiochimica et Biophysica Acta 1383,9-36.

ROUANET J. M . LAFONT J .CHALET M . CREPPY A .et BESANCON P .(1985). effects of dietary kidney pean (phaseolusfulgaris) lectins in crowing rats . nut . rep int 31 (1), 237-244.

RUDIGER H.(1993). purification of plant lectins in gadius h j g s edlectins and glycobiology springer berlin 31-46.

SANCHEZ J F LESCAR J CHAZALET V .AUDFRAY. A GAGNON .J

ALVAREZ R. BRETON C. HMBERTY A. AND MITCHELL .E.P.(2006). biochemical and structural analysys of helixpomaticagglutinin (HPA) a hexamericlectin with a novel fold.j.biolchem .281,20171-20180.

SATO Y . OKUYAMA S . ET HORI K.(2007). primary structure and carpohydratepinding specificity of a potent anti – hivlectin isolated from a the filamentous cyanopacteriumoscillatoriaagardhii . j . biol . chem . 282 , 11021 – 11029 .

SAUVION . N .(1995). effets et modes d’action de deux lectins a mannose sur le puceron du pois . acyrthosiphonpisum (harris). Potentiel d’utilisation des lectines végétal dans une stratégies de création de plantes transgéniques résistantes aux pucerons. 64 (9), 45-47.

SEHGAL I, WINTERS WD, SCOTT M, KOUSOULAS K.(2013). An in vitro and in vivotoxicologic evaluation of a stabilized aloe vera gel supplement drink in mice. *Food ChemToxicol*, 55,363-70.

SEUFI AL, GALAL FH et HAFEZ EE.(2012). Caractérisation of multisugar-binding c-type lectin (splilec) from a bacterial-challenged cotton leafworm, *spodopteralittoralis*.journal.pone,7(8), 0042795.

SHARON,N.(1996). Carbohydrate-lectin interactions in infectious diseases. *Adv exp.med.biol.*,408, 1-8.

SHARON,N. ET H.LIS.(2004). History of lectin : from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*,14 (11), 53r-62r.

SHIBUYA,N., GOLGSTEIN I.J.,VAN DAMME E.J.M. et PEUMANS W.J.(1988). Binding properties of a mannose-specific lectin from the snowdrop (*galanthusnivalis* l) bulb.*j.biol.chem.*,363,728-734.

S. LEVASSEUR.(2012). Analyse des systèmes agricoles à base de girofliers à Sainte Marie, Madagascar: entre héritage colonial et innovations paysannes, mémoire de fin d'étude, Montpellier, France.

SOMERS,W.S.,TANG,J.,SHAW,G.D et CAMPHAUSEN,R.T.(2000). Insights into the molecular basis of leukocyte tethering and rolling revealed by structures of p- and e-selection bound to slex and psgl-1.*cell*, 103,467-479.

SUMMER,J.B.et S.F.HOWELL.(1936). Identification of hemagglutinin of jack bean with concanavalin a.*j.bacteriol.*,32(2), 227-37.

SUMMER,J.B.(1919).The globulins of the jack bean, *conavaliaeniformis*.*j.biol.chem.*,37,137-142.

SOPHIE MATHIEU.(2011). Ingénierie de lectines d'invertébrés pour le développement de nouveaux outils de diagnostic en cancérologie. Thèse de doctorat d'université grenoble spécialité : chimie et sciences du vivant.

TABOLACCI C, ROSSI S, LENTINI A, PROVENZANO B, TURCANO L,FACCHIANO F, BENINATI S.(2013). Aloin enhances cisplatin antineoplastic activity in B16-F10 melanoma cells by transglutaminase-induced differentiation. *Amino Acids*, 44(1), 293-300.

THORN K.A., TINSLEY A.M., WEBER C.W. et BERRY J.W. (1983). Antinutritional factors in legumes of the sonarandessert.*ecol.food nutr.*13,125-256.

TOPEER-PETERSON, E., ROMERO, A., VARELA, P.F., EKHLASI-HUNDRIESER, M., DOSTALOV, Z., SANZ, L. et CALVETE, J.J. (1998).

Spermadhesins : a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. *andrologia*, 30, 217-224.

V ALDEBOUZE P., BERGERON E., GABORIT T. et DELORS LAVAL

J. (1980). Content and distribution of trypsin inhibitors and hemagglutinins in some legume seeds. *Can. j. plant sci.*, 60, 695-701.

VASTA, G.R. (1992). Invertebrate lectins : distribution, synthesis, molecular biology and function. In Allen, H.J. and Kralus, E.C. (eds), *Glycoconjugates, composition, structure and function*. Marcel Dekker, New York.

W .L. WEIS, M E TAYLOR, et K DRICKAMER. (1998). The C-type lectin

superfamily in the immune system. *Immunological reviews*, 163, 19-34.

Z OUBIRI S. (2000). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de

Rosmarinus officinalis par chromatographie en phase gazeuse. Mémoire d'ingénieur d'état en agropastoralisme. Centre Universitaire Ziane Achour, Djelfa.

WEBOGRAPHIE

[Http://www.cermav.cnrs.fr/lectines](http://www.cermav.cnrs.fr/lectines)

http://fr.wikipedia.org/wiki/Aloe_vera

http://fr.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus_officinalis_L

http://fr.wikipedia.org/wiki/Syzygium_aromaticum

Annexes

Annexes

Annexes

1. Les différents types d'agglutinations



- = pas d'agglutination.

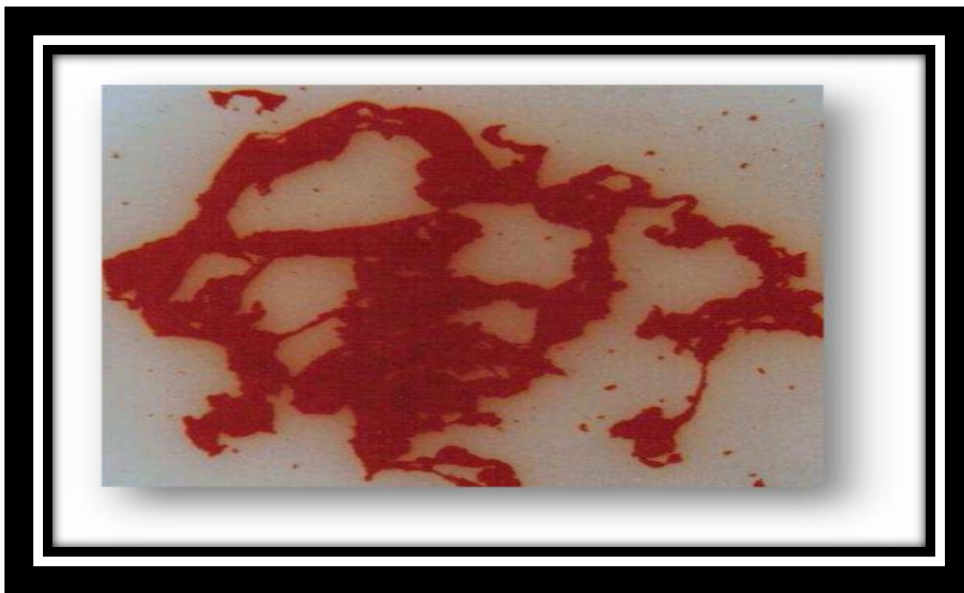


+ = faible agglutination.

Annexes



++ = forte agglutination.



+++ = très forte agglutination

Annexes

2 .Le tampon phosphate di-sodique (ph=7,4) :

Le produit chimique	Concentration	Volume
L'eau distillée	--	5 litre
Na_2HPO_4	0,1M	2,175g
$Na H_2PO_4$	0,1M	5g
NaCl	0,5M	45g

3 .Solution d'extraction :

Poudre de plante	Phosphate di-sodique
1g	2,5ml
3g	7,5ml

4.Préparation des hématies 3% :

Hématies	Na Cl (0,9%)
1,5g	48,5ml

Annexes

5. Préparation des monosaccharides :

L'eau distillée		
Galactose	1mg	10ml
L-lactose	1mg	10ml
Glucose	1mg	10ml

Résumé

Résumé

Abstract

Lectins are proteins or glycoproteins of animal, plant, and bacteria origins. Currently, some lectins are used in blood banks for blood group determination. For this reason our study was based on the extraction of lectins and their applications to the blood groups ABO.

The extraction of lectins were extracted from three species:

-Aloès Vera

-Rosmarinus officinalis L

-Syzygium aromaticum

After testing with the erythrocytes of rabbit, the extracts of Aloe Vera, Rosmarinus officinalis L, and Syzygium aromaticum caused agglutination

The second agglutination test was done with be erythrocytes of blood group ABO system, which led us to the following conclusion: the two extracts: Aloe Vera, Syzygium aromaticum were clustered with all red cells without specificity of ABO blood group . while Rosmarinus officinalis L extract showed an affinity to blood group A. So, Rosmarinus officinalis L can be used as grouping reagent which specifically agglutinate red blood cells A.

The hemagglutinating activity of Rosmarinus officinalis L is inactivated at 60 ° C, Aloe Vera is that of resisting up to 80 ° C.As against, while Syzygium aromaticum extract is thermostable over 120 ° C.

The inhibition tests hemagglutinating activity of monosaccharides provides no specificity.

Keywords : lectin, red cell ABO, agglutination , erythrocytes of rabbit.

ملخص

اللكتينات هي بروتينات أو غليكوبروتينات ذات مصدر: حيواني، نباتي، وبكتيري. حاليا يتم استخدامها في بنوك الدم لمعرفة فصيلة الدم. لهذا السبب استندت دراساتنا على استخراج اللكتينات وتطبيقها على كريات الدم الحمراء. ABO
قمنا باستخراج اللكتينات من ثلاثة أنواع:

Aloès Vera . Rosmarinus officinalis L . Syzygium aromaticum

وبعد إجراء الاختبار مع كرات الدم الحمراء للأرنب لاحظنا انه يحدث التراص مع مستخرجات

Aloès Vera . Rosmarinus officinalis L . Syzygium aromaticum

وقد قمنا بإجراء اختبار ثاني مع كريات الدم الحمراء للإنسان والتي أدت بنا إلى الاستنتاج التالي: مستخرج Aloès Vera . Syzygium aromaticum، قاموا بعملية التراص مع جميع خلايا الحمراء في الدم من دون خصوصية. في حين اظهر مستخرج Rosmarinus officinalis L انجذاب إلى فصيلة الدم A.

يختلف تأثير الحرارة على اللكتينات باختلاف أنواعها فمثلا بالنسبة إلى Rosmarinus officinalis L فان نشاطه ينعدم عند 60 درجة مئوية . أما مستخرج Aloès Vera في حدود 80 درجة مئوية في حين يستمر نشاط Syzygium aromaticum حتى درجة حرارة 120 درجة مئوية.

ان السكريات المستخدمة في هذا الاختبار لإعاقة النشاط التراص لم تظهر أية نتيجة ايجابية

كلمة البحث : اللكتينات . كريات الدم الحمراء للأرنب. كريات الدم الحمراء للإنسان. التراص

Résumé

MERAHI WAFA	Date de soutenance : 26.06.2014
Thème: extraction des lectines à partir des Plantes Médicinales ; Aloès Vera, Rosmarinus officinalis L, Syzygium aromaticum avec des tests biologiques.	
Diplôme: Master en Biochimie, option Analyse Protéomique et Santé	
<u>Résumé :</u> Les lectines sont des protéines ou glycoprotéines d'origines : animale, végétale, et Bactéries. Actuellement, certaines lectines sont utilisées dans des banques de sang pour la détermination du groupe sanguin. Pour cette raison notre étude a été basée sur l'extraction des lectines et leurs applications sur les groupes sanguins ABO. Les extraction des lectines ont été réalisé à partir des trois espèces : - Aloès Vera - Rosmarinus officinalis L - Syzygium aromaticum Après des tests par les hématies de lapin, les extraits de Aloès Vera, de Rosmarinus officinalis L, de Syzygium aromaticum ont provoqué des agglutinations Le deuxième test d'agglutination a été opéré sur des hématies du groupe sanguin de système ABO, ce qui nous a amené à la conclusion suivante : les deux extraits : Aloès Vera , Syzygium aromaticum ont agglutinées avec toutes les hématies sans spécificité de groupe sanguin ABO. tandis que l'extrait de Rosmarinus officinalis L a montré une affinité au groupe sanguin A. c'est pourquoi Rosmarinus officinalis L est peu utilisée comme réactif de groupage qui agglutine spécifiquement les hématies A. L'activité hémagglutinante de Rosmarinus officinalis L est inactivé à 60°C, celle de Aloès Vera est résisté jusqu'à 80°C. Par contre , l'extrait de Syzygium aromaticum est thermostable à plus de 120°C. Les tests d'inhibition d'activité hémagglutinante par les monosaccharides ne donne aucune spécificité.	
<u>Mots clés:</u> lectine, hématie ABO, agglutination, hématies de lapin, activité hémagglutinante.	
Laboratoire d'immunologie, Département de Biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie , Université Constantine 1.	
Jury de soutenance	
Président : Mr. NOUADRI.T	MC(A). Université Constantine 1
Rapporteur : Mr. NECIB. Y	Prof. Université Constantine 1
Examinatrice : Mme. BEN KAHOUL.M	MA(A). Université Constantine 1