



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine1
Faculté des Sciences 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 : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : *Biochimie /Nutrition Moléculaire et Santé*

Intitulé :

**Extraction des lectines à partir d'une plante
médicinale (*Cyperus longus*)**

Présenté et soutenu par :

LEDRAA MERIEM ET LAAZIZ MOUFIDA

Le : 06/07/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. NOUADRI. T

MCA. Université Constantine1.

Rapporteur : Pr. NECIB. Y

UFM. Université Constantine1.

Examineur : Dr. MEROUANE. F

MAA. Université Constantine.

*Année universitaire
2016 - 2017*

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Mr Necib Youcef professeur au département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire à Université des Frères Mentouri Constantine, Pour avoir dirigé ce travail, pour ses conseils, ses directives et ses orientations tout au long de l'étude de notre projet, pour sa compréhension sa disponibilité sa patience sa générosité scientifique et surtout pour sa gentillesse et ces conseils précieux et ses encouragement qu'il nous a prodigué tout au long de la réalisation de ce mémoire, Nos remerciements vont aussi aux membres de notre jury de mémoire :

A notre président du jury Monsieur Nouadri T (MCA) au département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire à L'Université des Frères Mentouri Constantine. C'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider notre jury de mémoire.

A l'examineur Mr. MEROUANE. F (MAB) à l'université des frère Mentouri, nous somme fière que vous avez accepté d'examiner et de juger notre travail

Enfin nous présentons tous nos remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette mémoire par leurs connaissances et leurs conseils en particulier Mr Toumi MES pour ces conseils et ses encouragement.

Merci



Dédicace

Pendant toutes ces années d'études, Dieu a été là pour m'aider à chaque moment, à chaque fois que j'ai perdu espoir, il a été là pour éclairer mon chemin et m'accompagner. C'était pour moi le premier refuge...et hamdoullilah...

Je dédie ce travail, à mes chers parents qui incarnent la lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie : Hocine et Zahia Seghiri qui m'ont soutenu moralement et financièrement, pour le courage, la sécurité, la confiance, l'amour, les sacrifices, le soutien qu'ils m'ont accordée tout au long de ma vie, pour m'avoir appris le sens de la persévérance .Leur consentement et leur bonheur est un objectif et une motivation pour ma réussite future.

A mes frères, mes amies et mes proches dans cette vie : Mouad, Sofiane et Maroua pour leurs encouragements, leur confiance en moi, leur conseils si précieux et leur apport dans l'embellissement de mon quotidien.

A mes oncles et tantes : Samira, Fadila et Toufik Segghiri.

A mes grands-parents paternels et maternels respectivement, Mohamed, Messaoud, Safia et Merzaka pour leurs précieuses prières...

A mes amis, Bisma laib, Nour El Houda Sedrati, Houda Boukehil, Seggani Soraya, Manel sighaouil et Aya Zerman pour leur fidèle amitié et les bons souvenirs et moments passés ensemble tout au long et en dehors de mes études.

Meriem



Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité.

A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

A mes très chères sœurs : Mouna, Amel, Abla.

A mon très cher frère : Marouane.

A mes très chers amis : Badiaa, Zineb.

A toute ma famille, proche ou éloigné

A tout mes amis et mes collègues

A mon binôme « Meriem » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.

MOUFIDA



Résumé

Les lectines forment une famille de protéines et de glycoprotéines hétérogène qui reconnaissent certaines structures oligosaccharidiques. Le but de cette recherche était d'extraire et d'étudier les différentes spécificités des lectines contenues dans les grains de *Cyperus longus* qui est une plante reconnue pour ses diverses propriétés médicinales et cela en débutant par un test d'hémagglutination suivi par la limite d'hémagglutination qui nous a éclairci sur la disponibilité de la concentration des protéines contenues dans notre extrait

L'activité hémagglutinante de notre plante reste stable toute au long de gamme du pH testée de 1 jusqu'à 12 pendant une heure.

Un test d'inhibition avec différents monosaccharides et glycoprotéines qui a montré que les lectines de *Cyperus longus* ont été spécifiquement et seulement inhibés par les glycoprotéines: Fétuine, BSA ainsi que des monosaccharides (Maltose, galactose, fructose,)

Pour le test d'ABO, les lectines extraites de notre plante ne possèdent aucune sélectivité vis-à-vis des groupes sanguins humains

Un test des métaux a été réalisé, et qui a démontré que nos lectines sont des métalloprotéines et prouvent une grande affinité au magnésium.

La purification sur colonne de Sephadex G75 a montrés un seul pic pour la plante *Cyperus longus*

Mots clés : Lectines, Extraction, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, Sucres, Affinité.

Summary

Lectins form a family of heterogeneous proteins and glycoproteins that recognize certain oligosaccharide structures. The purpose of this research was to extract and study the different specificities of the lectins contained in the grains of *Cyperus longus* which is a plant known for its various medicinal properties and this starting with a haemagglutination test followed by the limit of Hemagglutination which has clarified us on the availability of the concentration of the proteins contained in our extract

The haemagglutinating activity of our plant remains stable throughout the pH range tested from 1 to 12 for one hour.

An inhibition test with different monosaccharides and glycoproteins showed that *Cyperus longus* lectins were specifically and only inhibited by glycoproteins: Fetuin, BSA as well as monosaccharides (maltose, galactose, fructose)

For the ABO test, the lectins extracted from our plant have no selectivity with respect to human blood groups

A metal test was carried out, which demonstrated that our lectins are metalloproteins and prove to have a high magnesium affinity.

Sephadex G75 column purification showed a single peak for the *Cyperus longus* plant

Key words: Lectins, Extraction, Hemagglutination, ABO system, Inhibition, Sugars, Affinity.

ملخص

تعد الليكتينات من عائلة البروتينات و البروتينات السكرية الغير متجانسة و القابلة للتعرف على السكريات قليلة التعدد و السكريات المتعددة، الغرض من هذا البحث هو استخلاص و دراسة الخصوصيات المختلفة لليكتينات الموجودة في بذور نبات السعد *Cyperus longus*

وهو نبات بري معروف بخصائصه الطبية المتعددة و هذا من خلال اختبار التراص

إن المعالجة الحرارية لليكتينات نبات السعد كشفت إن هذه الأخيرة مقاومة للحرارة التي قد تصل إلى 100° م و هذا كافي لتثبيط قدرتها على التراص

تطبيق اختبار التثبيط مع مختلف السكريات الأحادية اظهر أن هناك خصوصية لنشاط التراص.

نشاط تراص مستخلص عينات نبات السعد ابدت استقرارا في مجال درجة الحموضة 1- PH12

وتظهر قابلية عالية للمغنيسيوم عند اختبار نشاط تراصها مع المعادن.

لم تظهر أي انتقائية عند اختبار نشاط تراصها مع مستخلص عينات ABO

و باستعمال هلام السيفادكس séphadex G75 أعطى ذروة واحدة لليكتينات *Cyperus longus*.

الكلمات المفتاحية: الليكتينات, استخلاص, نشاط التراص, نبتة طبية, سكر , نظام مستخلص عينات ABO

Sommaire

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste de l'abréviation

introduction

Chapitre 1 : généralités sur les lectines

1.1 Définition des lectines	01
1.2 Historique des lectines.....	02
1.3 La structure des lectines	03
1.3.1 Les lectines simple	05
1.3.2 Les lectines mosaïques	06
1.4 Les assemblages macromoléculaires	06
1.5 Les sites de liaisons des lectines	07
1.6 La spécificité et l'affinité des lectines	07
1.7 La classification des lectines	09
1.7.1. Chez les animaux.....	09
1.7.1. a. Les lectines extracellulaires	09
1.7.1. b Les lectines intracellulaires	09
1.7.2 Chez les végétaux	09
1.7.2. a Les merolectines.....	09
1.7.2. b Les hololectines	09
1.7.2. c Les superlectines	10
1.8 Distribution des lectines dans le monde vivant.....	10
1.8.1 Les lectines animales	11
1.8.2 Les lectines des plantes.....	12
1.8.3 Les lectines des microorganismes	13
1.9 Fonction biologique des lectines	14
1.9.1 Chez les plantes	14
1.9.2 Chez l'homme	15
1.10 Propriétés des lectines	15
1.10.1 L'interaction lectines-glucide	15
1.10.2 L'agglutination des cellules	16
1.10.3 L'activité mitogène	16

1.10.4 Effets mimétiques des hormones	16
1.10.5 Inhibitions de la croissance des cellules cancéreuses	16
1.10.6 La propriété antivirales	17
1.10.7 La propriété antibactérienne	17
1.10.8 Autres propriétés	17
1.11 L'intérêt des lectines	17
1.11.1.1 En biochimie et protéomique	18
1.11.2 Dans le domaine biomédical	18
1.11.2. a Hématologie	18
1.11.2. b Immunologie	18
1.11.2. c Biologie cellulaire	18
1.11.2. d Cancérologie	19
1.11.3 Dans le domaine agronomique	19
1.12 le Rôle des lectines dans l'immunité	19
Chapitre 2 : Le système sanguin	
1.1 Historique	21
1.2 Le système ABO.....	21
1.3 Facteur rhésus.....	22
1.4 Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	22
Chapitre 3 : Généralités sur la plante	
1.1 Description de la plante	23
1.2 La plantation de souchet	24
1.3 L'intérêt de la plante	25
Matériels et méthodes	
1.1 Matériel végétale	27
1.2 Les méthodes	27
1.2.1 La préparation de la plante.....	27
1.2.2 L'extraction de la plante	27
1.2.2.a Le principe d'extraction	27
1.2.3 La technique d'extraction	27
1.2.3 Le test d'hémagglutination	29
1.2.3.1 La préparation des hématies	29
1.2.3.1.a Lavage des hématies	29

1.2.3.1.b La dilution des hématies	29
1.2.3.2 La technique d'hémagglutination.....	29
1.2.4 La limite d'hémagglutination	29
1.2.5 L'effet de la température sur l'émagglutination	30
1.2.6 L'effet de pH sur l'hémagglutination	30
1.2.7 Le test d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides	30
1.2.8 Le test de la limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides	30
1.2.9 Le test des métaux (oligoéléments)	30
1.2.10 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	31
1.2.11 L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de sephadex G-75	31
Résultats et discussions	32
1.1 Les tests d'agglutination : extrait brute-hématies de lapin	32
1.2 Test limite d'agglutination	32
1.3 L'effet de température sur l'activité d'agglutination	33
1.4 L'effet de pH sur l'agglutination	34
1.5 Test d'inhibition des sucres	35
1.6 Test limite d'inhibition des sucres et des glycoprotéines	36
1.7 Le test de métaux	37
1.8 Les tests d'agglutination : extrait brut-hématies humaines	38
1.9 Extraction des lectines par chromatographie gel de sèphadex G-75 à partire de <i>Cyperus longus</i>	39
Conclusion et perspectives	41
Références bibliographique.	
Annexe	

Liste des Figures

Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A de canavaliensiformis en complexe avec le trimannosoïde.....	5
Figure 02 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique.....	6
Figure 03 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie d'Escherichia coli.....	6
Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides.....	7
Figure 05 : la classification structurale des lectines des plantes.....	10
Figure 06 : Représentation graphique de la structure de l'E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX .Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.....	11
Figure 07 : Tétramère de la protéine ConM de Canavaliamaritima complexée avec le tréhalose Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets.....	13
Figure 08 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	22
Figure 09 : La plante de <i>Cyperus longus</i>	23
Figure 10 : les grains de plante de <i>Cyperus longus</i>	23
Figure 11 :Photo : représente le matériel végétale <i>Cyperus longus</i>	27
Figure 12 : Schéma d'extraction des lectines à partir de la poudre de <i>Cyperus longus</i>	28
Figure 13 : Photos : l'agglutination des hématies de lapin par l'extrait de <i>Cyperus longus</i> à l'œil nu.....	32
Figure 14 : Photos : la limite d'agglutination de <i>Cyperus longus</i> à l'œil nu.....	33
Figure 15 : Photos : l'effet de température sur l'activité d'agglutination d'extraits de <i>Cyperus longus</i> a l'œil nu.....	34

Figure 16 : Photos : l'effet de PH sur l'activité d'agglutination de l'extrait de <i>Cyperus longus</i> a l'œil nu.....	35
Figure 17 : Photos : le test d'inhibition d'extrait brut avec les saccharides.....	36
Figure 18 : Photos : le test d'inhibition d'extrait brute avec les glycoprotéines (BSA et Fètuine) l'œil nu.....	36
Figure 19 : Photos : Test limite d'inhibition des sucres aperçu à l'œil nu.....	37
Figure 20 : Photo : L'agglutination de lectines de <i>Cyperus longus</i> après l'incubation avec EDTA.....	38
Figure 21 : Photos : l'effet de Fecl ₂ , Mncl ₂ , Cacl ₂ et Mgcl ₂ sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de <i>Cyperus longus</i> à l'œil nu.....	38
Figure 22 : Photo : L'agglutination des hématies humaines (A, B, AB) par l'extrait brut de <i>Cyperus longus</i> à l'œil nu.....	39
Figure 23 : La filtration par chromatographie sur colonne de sèphadex G- 75 de l'extrait de <i>Cyperus longus</i> selon l'absorbance à 280 nm.....	40

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

Tableau 01 : les lectines et leurs applications.....	2
Tableau 02 : Historique de la découverte des lectines.....	3
Tableau 03 : La Spécificité osidique de certaines plantes a lectines.....	8
Tableau 04 : classification scientifique de <i>Cyperus longus</i>	25
Tableau 05 : l'agglutination des hématies de lapin par l'extrait de <i>Cyperus longus</i>	32
Tableau 06 : l'activité hémagglutinante d'extraits de <i>Cyperus longus</i>	33
Tableau 07 : L'effet de la température sur l'activité d'agglutination des extraits de <i>Cyperus longus</i>	33
Tableau 08 : l'effet de pH sur l'activité d'agglutination d'extrait de <i>Cyperus longus</i>	34
Tableau 09 : le test d'inhibition d'extrait brut avec les saccharides.....	36
Tableau 10 : le teste d'inhibition d'extrait brut avec les glycoprotéines.....	36
Tableau 11 : Teste limite d'inhibition des sucres et des glycoprotéines.....	37
Tableau 12 : Résultats du test des métaux avec l'extrait de <i>Cyperus longus</i>	38
Tableau 13 : l'agglutination des hématies humaines (A, B, AB) par l'extrait de <i>Cyperus Longus</i>	39

Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

Con A : Concanaline A lectine

ConBr : Lectine de Canavaliabrasiliensi

Man: Mannose

PBS: Phosphate Buffer Saline

R : rhésus

F : Fraction.

Gal: Galactose.

GalNAc: N-acétyl galactosamine.

GlcNAc: N-acétyl glucosamine.

Glu : Glucose.

PH : Potentiel Hydro isoélectrique.

PC3: human prostate cancer cell line.

MCF-7: human breast cancer cell line.

Introduction

Introduction

Les lectines constituent un groupe de protéines ou de glycoprotéines d'origine non-immunitaire, qui se lient de façon réversible aux hydrates de carbone et le plus souvent agglutinent les cellules ou précipitent les polysaccharides et des glycoconjugués. (**Goldstein et al, 1980**).

Les lectines ont été redéfinies par Peumans & Van Damme (1995) en tant que protéines possédant au moins un domaine non catalytique, qui se lie de façon réversible à un mono ou oligosaccharide spécifique. Toutefois, selon Cummings (1997), des protéines à activité enzymatique liés à des hydrates de carbone ne peuvent être considérés comme des lectines. En conséquence de leurs propriétés chimiques, ils sont devenus un outil dans plusieurs domaines de la recherche biologique (immunologie, biologie cellulaire, structure de la membrane, recherche sur le cancer et le génie génétique) Les lectines sont présentes dans un large éventail d'organismes de la bactérie aux animaux, étant présentes dans toutes les classes et les familles, mais pas dans tous les genres et espèces (**Lis et Sharon, 1994**). Beaucoup de plantes à fleurs de groupes taxonomiques divers s'accumulent de grandes quantités de ce qu'on appelle VSP (végétatif stockage protéines) dans divers organes de stockage végétatif. Ces VSP jouent un rôle primordial dans l'accumulation d'azote, le stockage et la distribution dans les plantes bisannuelles et vivaces, et en conséquence, on pense à contribuer à la survie de la plante dans son environnement naturel (**Staswick, 1994**). En outre, certains VSP avec une activité enzymatique particulière ou autre activité biologique agissent comme des protéines de défense contre les animaux herbivores spécifiques ou des invertébrés phytophages par exemple, et peut donc jouer un double rôle de stockage / défense (**Peumans et Van Damme, 1995 ; Yeh et al, 1997**).

Plusieurs arbres de légumineuses non seulement ont démontré l'apparition de VSP spécifique à écorce abondante, mais aussi conduit à l'identification de certains de ces VSP d'écorce. La présente étude a été réalisée afin d'étudier la présence des lectines dans les grains de plante *Cyperus longus* Cette plante n'a été jamais étudiées en Algérie sur l'extraction des lectines, raison pour laquelle nous avons fixé les objectifs suivants :

- Etude la présence des lectines par le test hémagglutination avec le sang des lapins.
- Etude l'effet de la température, pH et métaux sur l'activité de ces lectines.

Etude l'affinité de ces lectines vers le glucide et les glycoprotéines par le test d'inhibition d'une part et vers les globules rouges de l'être humain par le test ABO d'autre part.

Etude Bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur les
lectines

Chapitre I. Généralités sur les lectines

I.1. Définition des lectines

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capables de reconnaître des glucides complexes de manière spécifique et réversible. Ces protéines ne montrent aucune activité enzymatique vis-à-vis de leur ligand (**Lis et Sharon, 1998**). Cette classe des protéines est dénommée par Boyd en 1954, sous le nom «lectine» dérivée du mot latin «lectus» qui est le participe passé du verbe «légère», qui veut dire «sélectionner» ou «choisir» (**Liener et al, 1986**). Les lectines sont relativement petites, leurs masses moléculaires étant comprises entre 50 et 120 KD. Elles sont habituellement formées de deux (dimères) ou quatre (tétramères) sous-unités identiques (**Ghopkins et Evrard, 2003**) Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Cette caractéristique très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes, car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissances par molécule, ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination de cellules diverses(**Liener et al, 1986**). Les lectines provoquent l'hypertrophie de l'intestin grêle et du pancréas et l'atrophie de la rate et de thymus. Ces effets néfastes des lectines sont inactivés (principalement) par leur traitement thermique dont l'efficacité est fonction de la température et de la durée de traitement (**Meite et al, 2006**). Bien qu'il existe des lectines thermorésistants (**Guillaume, 1993**). Quelques lectines importantes sont énumérées dans le **tableau 1**

Tableau 01 : les lectines et leurs applications (Bothan et Weil, 2011)

Lectines	Exemple et commentaire
Lectine de légumes	ConcanavolineA, lectine de pois
Agglutinine de germe de blé	Fréquemment utilisée dans l'étude des surfaces ou membranaires de cellules normales ou cancéreuses
Ricine	Glycoprotéines cytotoxiques provenant des graines de ricine
Toxines bactériennes	Entérotoxine thermolabile d'E.coli et toxine du choléra
Hémagglutinine de virus de la grippe	Responsable de l'attachement à la cellule hôte et de la fusion membranaire
Lectine de type S	Lectine animales se lient le B-galactose, elles ont des rôles dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire

I.2. Historique

En 1888, P. H Stillmarka découvre la première lectine qui décrit dans sa thèse de doctorat présentée à l'université de Doprat (maintenant Tartu, Estonie) que des extraits de graines de ricin (*Ricinus communis*) agglutinaient des érythrocytes. (Sharon et Lis, 2004).

A partir de ce moment, d'autres substances d'origine végétale possédant une activité hémagglutinante ont été découvertes. Ensuite P. Ehrlichea découvre la même activité dans l'extrait du pois rouge (*Abrus precatorius*).

En 1919, James B. Sumner, de l'université Cornell (Ithaca, New York), isole à partir du pois (*Canavalia ensiformis*) la première hémagglutinine pure, la concanavoline A (Sumner, 1919). Il fallut patienter presque vingt ans et les travaux de Sumner et Howell en 1936 pour que la spécificité de ces protéines pour les sucres soit mise en évidence avec

L'inhibition de l'hémagglutination de la concanavaleine A par des saccharoses (**Sumner et Howell, 1936**).

En 1954, Boyd & Sharpleigh ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des érythrocytaires humains d'un groupe sanguin donne (**Boyd et Shapleigh, 1954**). L'étape importante dans l'histoire des hémagglutinines est la découverte que certaines d'entre elles agglutinent les globules rouges appartenant uniquement à un groupe sanguin donnée (système ABO) sans affecter les cellules sanguines des autres groupes.

Tableau 02 : Historique de la découverte des lectines (renato et col, 1991)

Année	Auteur	Découvertes
1884	Warden & Waddel /Bruyllant & Venneman	Toxicités de la graine d'Abrus Precatorius
1886	Dixson	Toxicités de la graine de Ricinus communis
1888	Stillmark	Activité hémagglutinante de la graine de Ricinus communis Toxicités de la graine de Croton tiglium
1890	Erlich	Utilisation de l'abrine et la ricine dans les recherches immunologiques
1891	Hellin	Activité hémagglutinante de la graine de Abrus Precatorius
1897	Elfstrand	Introduction du terme d'hémagglutinine

Généralités sur les lectines

1902	Landsteiner	La réversibilité de l'hémagglutination par la Chaleur
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la Concanavalina A (Con A)
1926-7	Marcusson-Begun/Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins
1947-9	Boyd & Reguera /Renkonen	Spécificité groupe de sang des plantes a Hémagglutinines
1949	Liener	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolusvulgaris
1949	Jaffe	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolusvulgaris
1952	Watkins & Morgan	L'inhibition de lectines par les sucres simples Démonstration avec l'aide de lectines que les sucres sont des déterminants de groupe sanguin
1954	Boyd & Sharpleigh	Introduction du terme de lectine
1960	Nowell	La stimulation mitogénique des lymphocytes par la lectine de Phaseolusvulgaris
1965	Agrawal & Golstein	Chromatographie d'affinité pour la purification des lectines
1966	Boyd	Lectines dans les algues

1981	Reinsner et al.	L'utilisation de lectines dans les greffes de moelle osseuse
1990	Yamauchi&Minamikawa	Expression de Con A dans les cellules d'Escherichia coli

I.3. La structure des lectines

Les lectines sont classées en trois grandes classes :

I.3.1. Les lectines simple :

Ces lectines sont formées de plusieurs monomères (pas forcément identiques), dont la masse moléculaire généralement ne dépasse pas 40KDa. Cette classe comprend pratiquement toutes les lectines végétales, les lectines bactériennes solubles et les galectines (une famille de lectines animales spécifique pour le galactose) (Lenka, 2006) (figure 01)

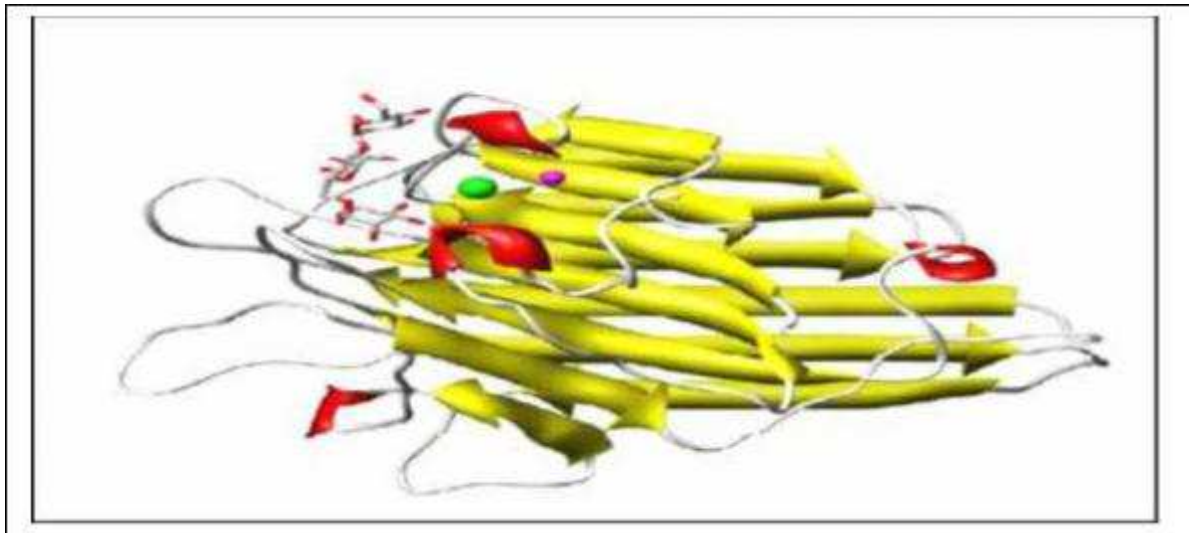


Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A de *canavaliensiformis* en complexe avec le trimannosoïde (Lenka, 2006).

La protéine est représenté par un ruban rouge pour les hélices α , un ruban jaune pour les brins β et un fil pour les autres zones le sucre est représenté sous forme de bâton et les cations en boule (Lenka, 2006)

I.3.2. Les lectines en mosaïques

Cette classe regroupe diverses lectines de différentes sources (animale, virus) il s'agit de molécules complexe composée de plusieurs type de domaines ou modules, dont un seul possède le site de liaison (**Lenka *et al*, 2006**).

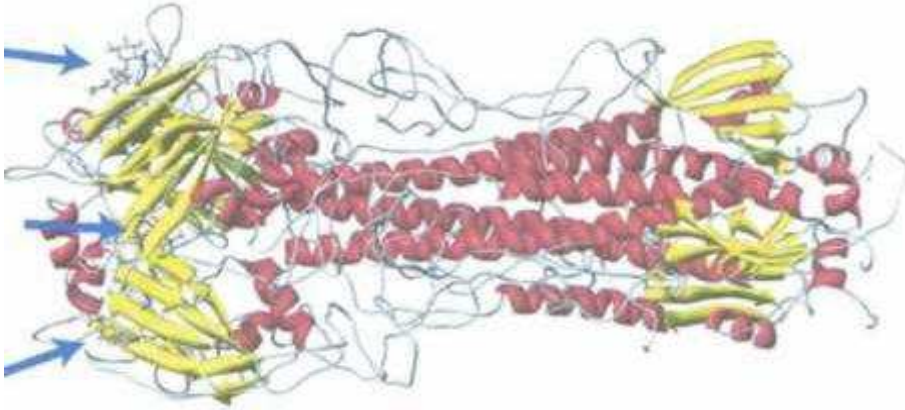


Figure 2: Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (**Lenka *et al*, 2006**).

I.4. Les assemblages macromoléculaires

Les lectines de ce type sont fréquemment trouvées chez les bactéries, où elles forment des structures filamenteuses de 3 à 7 nm de diamètre et jusqu'à 100nm de longueur, appelées fimbriae ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbrial est formée par la polymérisation d'une unité prédominante, qui ne joue jusqu'à un rôle structural. Seul un type d'unités, généralement une composante minoritaire, possède le site de liaison pour les glucides et donc est responsable de la capacité d'adhésion du fimbriae (**Lenka, 2006**) (**Figure03**).

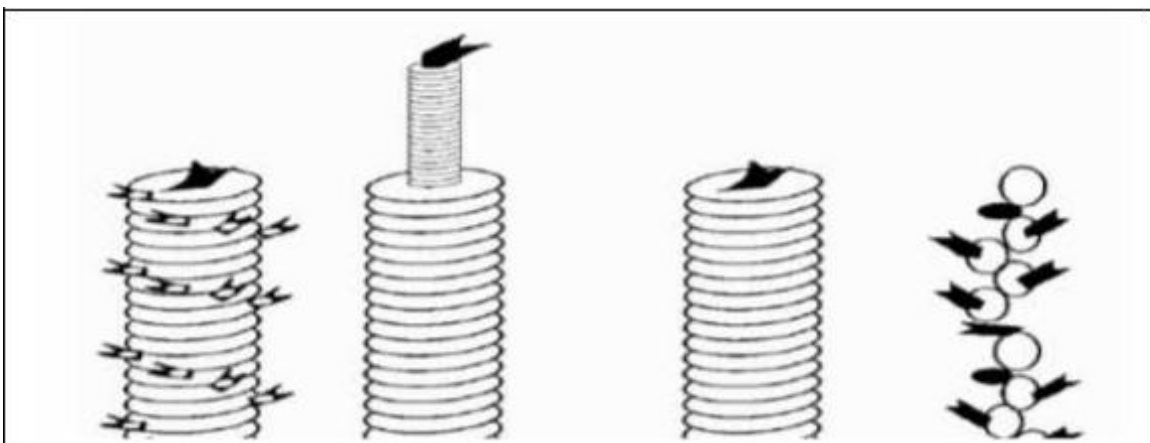


Figure 03: Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *D'Escherichia coli* (**Lis and Sharon, 1998**)

I.5. Les sites de liaisons des lectines

Le site de liaison d'une lectine est généralement constitué par un creux sur la surface de la protéine, dont la forme ne varie pas beaucoup après la liaison du ligand. La lectine interagit avec le ligand par un réseau de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes (Goldstein et Poretz, 1986). Les interactions de type salin ne sont généralement pas impliquées dans les interactions lectine-sucre sauf pour des glucides chargés comme l'acide sialique (Pontet, 1996). Les lectines ne modifient pas biochimiquement les hydrates de carbone auxquels se lient (Gabijs, 1985).

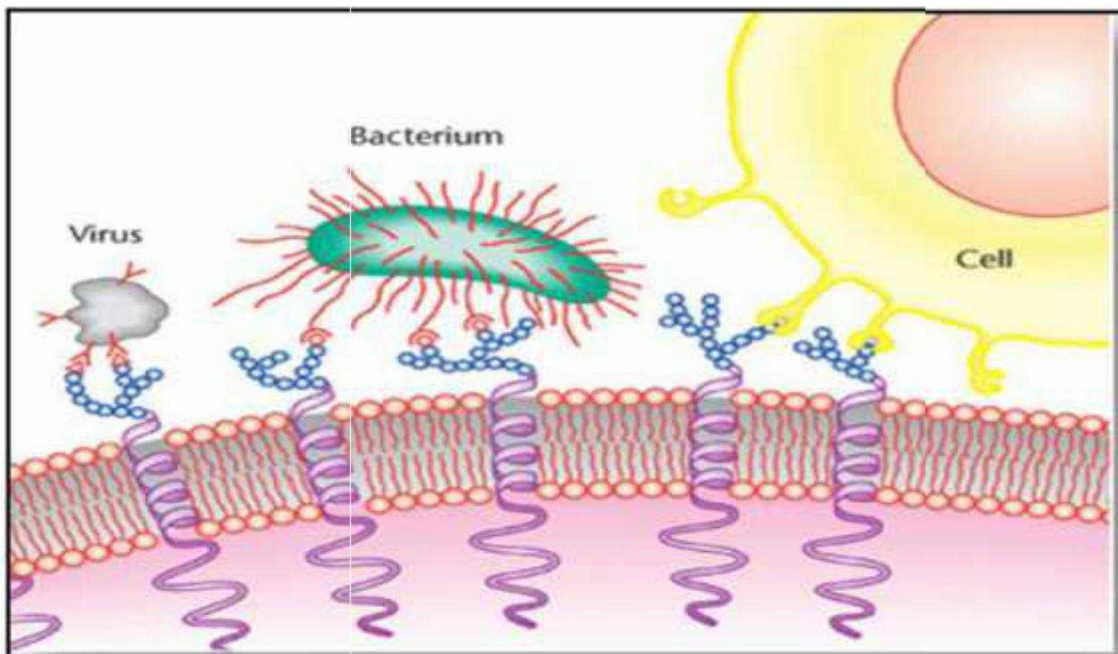


Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (Sharon Et Lis, 1993)

I.6. La spécificité et l'affinité des lectines

La spécificité d'une lectine est généralement définie par les sucres qui inhibent le mieux ses propriétés d'agglutination ou de précipitation (Robert, 2008). La plupart des lectines sont spécifiques pour un petit nombre de sucres et que, dans la majorité des cas, ces sucres sont présents dans et sur la surface des cellules, surtout sous la forme de glycoconjugués. On peut identifier deux classes de lectines par rapport à leur spécificité : celles qui reconnaissent un

Monosaccharide spécifique et celles qui reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (Sharon, 2003). Les protéines spécifiques pour des monosaccharides sont classifiées en cinq groupes, selon le sucre pour lequel la lectine présente la plus forte affinité : le Mannose (Man), le Galactose (Gal)/N acetylgalactosamine (GalNAc), le N-acetylglucosamine (GlcNAc), le Fucose (Fuc), l'Acide sialique (acide N-acetylneuraminique, NeuAc) (Lis and Sharon, 1998). Cette reconnaissance est souvent désignée comme « la spécificité primaire » des lectines. Ces monosaccharides et leurs dérivés sont ceux qui sont le plus souvent présents sur les epitopes glycaniques des surfaces cellulaires. La plupart des lectines peuvent se lier à des monosaccharides, mais leur affinité sera en général plus forte pour certains oligosaccharides

Tableau 03 : La Spécificité osidique de certaines plantes à lectines (Renato *et coll*, 1991)

Espèces	Spécificité
<i>Abrus precatorius</i>	Gal
<i>Adeniatigitata</i>	Gal
<i>Aleuriaaurantiaca</i>	L-Fuc
<i>Canavaliabrasilensis</i>	Man >Glc
<i>Canavaliaensiformis</i>	Man >Glc
<i>Dolichosbiflorus</i>	GalNAc
<i>Phaseolusvulgaris</i>	GalNAc
<i>Vicia sativa</i>	Man
<i>Ulexeuropaeus I</i>	L Fuc
<i>Momordicacharantia</i>	GalNAc
<i>Cytissussessilifolia</i>	GlcNac>Fuc>Gal
<i>Datura stramonium</i>	GlcNAc

I.7. La Classification des lectines

I.7.1. Chez les animaux

I.7.1.a. Les lectines extracellulaires

Les lectines extracellulaires comprenant toutes les autres familles, comme les lectines de type C et R, ainsi que les galectines. Ces lectines sont généralement impliquées dans la signalisation et l'adhésion cellulaire, la clairance de glycoprotéines ou encore dans la reconnaissance des pathologies (**Chabrol *et al*, 2012**).

I.7.1.b. Les lectines intracellulaires

Les lectines intracellulaires sont composées de quatre groupes ; les calnexines, les lectines de type M, P et L. ces lectines jouent des rôles essentielles dans le trafic intracellulaire, l'adressage des glycoprotéines ou encore dans leur dégradation (**Chabrol *et al.*, 2012**).

I.7.2. Chez les végétaux

I.7.2.a. 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, dit monovalentes (exemple : héveine, protéines d'orchidées), et ils sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules, donc non agglutinantes (**Peumans *et Van Damme*, 1995**).

I.7.2.b. Les hololectines

Les hololectines sont des lectines di ou multivalentes c'est à dire ils contiennent deux domaines (ou plus) de liaison aux glucides quasi- identiques ou du moins très homologues. Les hololectines peuvent précipiter les glycoconjugués et agglutiner les cellules. Elles Présentent la majorité des lectines de plantes (exemple: ConBr la lectine de *Canavaliabrasilensis*) (**Van Damme *et al*, 1998**).

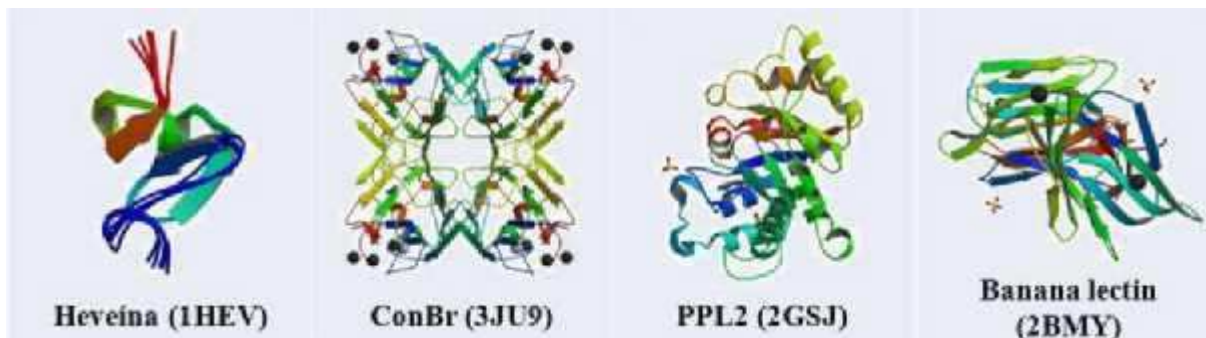
c) Les chimérolectines

Les chimérolectines sont des protéines de fusion ayant une activité de reconnaissance glycanique, car ils possèdent un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides, ainsi qu'un domaine avec une activité catalytique bien définie et agissant indépendamment du site de liaison (Van Damme *et al*, 1998). Selon le nombre de liaison aux glucides, les chimérolectines se comportent comme des mérolectines (exemple : chitinase classe I) ou comme des hololectines (exemple : type 2-Rip ribosominactivatingproteine; protéine inactivant les ribosomes comme la ricine) (Peumanset Van Damme, 1995).

I.7.2.c. Les superlectines

Les superlectines sont des oligomères poly-spécifiques constitués de plus de quatre monomères, elles sont considérées comme un groupe spécial de chimérolectines composé de deux domaines différents structuralement et fonctionnellement (Van Damme *et al*, 1998).

Figure 5 : La classification structurale des lectines des plants (Van Damme *et al*, 1998).



I.8. Distribution des lectines dans le monde de vivant

Initialement décrites dans le règne végétal où elles sont particulièrement abondantes, notamment chez les légumineuses et les graminées, les molécules sont en fait des molécules universelles. Elles sont en effet largement répandues dans le monde vivant puisque l'on en rencontre même chez les virus et les bactéries. A titre d'exemple, le virus grippal présente des

Spicules d'hémagglutinine qui permettent son ancrage à la surface des cellules épithéliales de l'oropharynx. Des lectines sont également décrites chez les protozoaires tels que *Entamoebahistolytica* et *Entamoebadispar*, on en rencontre même chez les animaux supérieurs, notamment chez l'homme où elles sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques (Bouchara et Trouchin, 2003).

I.8.1. Les lectines animales

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 Nacetyllactosamine (β Gal1-4GlcNAc) (Leffler *et al*, 2004).

Les lectines du *type C* présentent un CRD (*Carbohydrate Recognition Domain*) bien conservé qui implique un atome de calcium dans l'interaction protéine-sucre (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 la E-selectine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (Somers *et al*, 2000) (Figure 5).

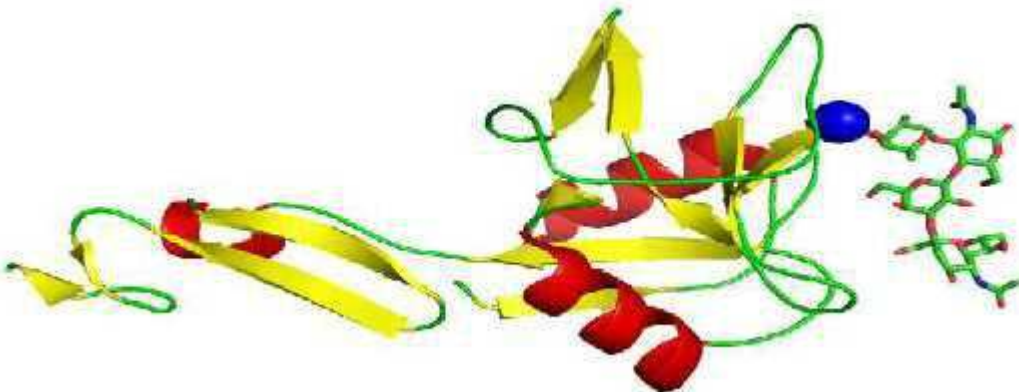


Figure 6 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (Somers *et al*, 2000). Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

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

Les autres classes de lectines animales comprennent les lectines du *type P* qui sont formées par les lectines qui fixent le mannose-6-phosphate, comme la lectine bovine CDMPR (Roberts *et al*, 1998). Les *pentraxines* qui sont une famille des lectines capables de se lier à des ligands de manière Ca^{2+} dépendante (Emsley *et al*, 1994) La plupart des lectines des 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

(Aragao, 2009).

Par exemple, dans le processus de fécondation, un glycoconjugués de la surface de l'ovule interagit avec une lectine (spermadhésine) du spermatozoïde (Topfer-Peterse *et al*, 1998)

I.8.2. Les lectines des plantes

Historiquement, les lectines de légumineuses telle que la concanavaline A (ConA) ont été les premières à être caractérisées. La première structure cristallographique d'une lectine de légumineuses (la ConA) a été déterminée en 1972 (Edelman *et al*, 1972 ; Hardman et Ainsworth ,1972)

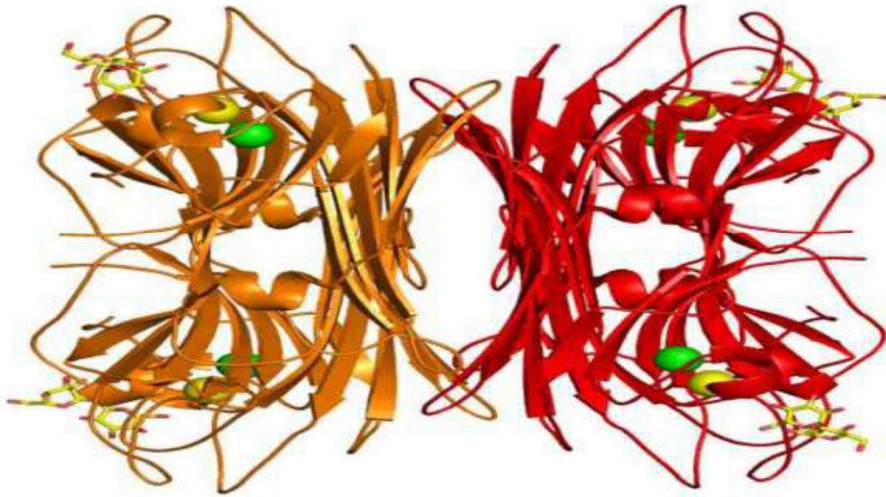


Figure 7 : Tétramère de la protéine ConM de *Canavaliamaritima* complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6) (Delatorre *et al*, 2006). Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets

La famille des Monocotylédones présente des lectines spécifiques pour le mannose, la première structure 3-D a été la *Galanthusnivalis*agglutinine (GNA) (Wright C.S. et Hester, 1996). La famille de Moraceae est formée par les lectines qui fixent le galactose tel que la jacaline isolée des graines de *Artocarpus integrifolia* (Sankaranarayanan *et al*, 1996). La famille Amaranthaceae contient la lectine ACA de *Amaranthuscaudatus* qui a été cristallisée avec le Gal-3GalNAc (Transue *et al*, 1997).

Les lectines de plantes semblent être impliquées dans la défense contre les phytopathogènes et les prédateurs, certaines ayant des activités insecticides (Chrispeels et Raikhel, 1991 ; Rudiger et Gabius, 2001).

I.8.3. Les lectines des microorganismes

Les infections sont toujours initiées par l'attachement du microorganisme aux tissus de l'hôte. Ce phénomène implique la reconnaissance des cellules de l'hôte le microorganisme, et nécessite la présence à la surface des deux protagonistes de molécules complémentaires de

Type récepteur-ligand (**Bouchara et Trouchin, 2003**). 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 (**Imberty et Varrot, 2008; Sharon, 1996**) L'exemple le plus marquant de lectine de virus est l'hémagglutinine du virus de la grippe (Influenza virus). Cette hémagglutinine interagit avec un récepteur de la surface des cellules hôtes, l'acide 5-N-acétylneuraminique (l'acide sialique). Sa structure 3-D a été résolue en complexe avec son récepteur naturel et avec 12 analogues de ligands (**Weis et al, 1990**). Les bactéries qui s'attachent aux surfaces s'agglutinent dans une matrice polymerehydrate qu'elles produisent, et donc forment un bio film (**Imberty, 2011**). Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriaes (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (**Imberty et al, 2005**) *Entamoebahistolytica* est un parasite entérique qui peut tuer les cellules hôtes via un mécanisme dépendant du contact. Cette assassinat implique la protéine de surface amibienne dénommé le Gal / Gal Nac lectine se lie au galactose et au Nacétylgalactosamine permettant l'adhérence des amibes aux cellules hôtes (**Boettner et al, 2002**). Les lectines des champignons ont principalement des propriétés pharmacologiques intéressantes, par exemple la stimulation du système immunitaire contre l'hypertension et contre l'hypercholestérolémie mais aussi antivirales et anticancéreuses (**She et al, 1998 ; Szeet al, 2004**).

I.9. Fonction biologique des lectines

I.9.1. Chez les plantes

Fonction dans l'élongation des parois cellulaires ; fonction de cofacteurs enzymatiques agissant avec des enzymes glycoprotéiques ; intervention dans le transport des glucides et dans leur mise en réserve dans les graines ; contrôle de la division cellulaire (mitogenicité) et de la germination; intervention dans les processus de reconnaissance de cellule à cellule (**Etzler, 1986 ; Kaminski et coll., 1987**). D'autres études, suggèrent que les lectines favorisent l'invasion des plantes par des pathogènes en servant de récepteurs pour des phytotoxines, ou de molécules d'adhésion pour le pathogène. L'infection de la canne à sucre

Par le champignon *Helminthosporium sacchari* est un exemple de ce type de pathogénèse (Etzler, 1986).

I.9.2. Chez l'homme

Les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche et dans le secteur biomédical. Elles sont utilisées lors du test d'hémoagglutination en pratique clinique pour distinguer les types du sang (A, B et O), exemple: la lectine de haricot de lima (*Phaseolus lunatus*) se lie à N-acétyl-D galactosamine et agglutine seulement des globules rouges de type A (Goker *et al*, 2008). Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses présentent des propriétés anti-inflammatoires (Alencar *et al*, 2005 ; Gomes *et al*, 2012). Elles contrôlent les niveaux des protéines dans le sang (Rydz *et al*, 2013) car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs (Sutapa *et Gopa*, 2013). Les lectines ont la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses, La récente découverte suggère que les cellules malignes sont plus facilement agglutinées par des lectines que les cellules normales. Ces agglutinations sélectives pourraient être utilisées dans le traitement du cancer (Voet et Voet, 2005)

I.10. Propriétés des lectine

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées :

I.10.1. L'interaction lectine–glucide

Les lectines sont toutes constituées d'au moins une cavité de reconnaissance glycanique qui possède une plasticité et leur permet d'interagir plus spécifiquement avec certains glycoconjugués que d'autres (Jain *et al*, 2001), ces glycanes interagissent par des liaisons non-covalentes avec les acides aminés formant la cavité de reconnaissance saccharidique de la lectine (Jeyaprakash *et al*, 2003). La partie non glycanique des glycoconjugués peut également interagir avec les acides aminés avoisinant la cavité de reconnaissance (Jeyaprakash *et al*, 2003).

I.10.2. L'agglutination des cellules

C'est la manifestation la plus visible de l'interaction des lectines avec les cellules. Pour qu'elle se produise, les lectines doivent posséder au moins deux sites de reconnaissance et de liaison avec des saccharides de surface des cellules animales ou autres (bactéries, virus, mycoplasme, champignon). Les lectines monovalentes a un seul site de reconnaissance ne provoquent pas d'agglutination (**Peumans et coll., 1995 ; Wang et coll., 1998**).

I.10.3. L'activité mitogène

Une des propriétés les plus étonnantes des lectines réside dans leur pouvoir de transformer les petits lymphocytes du sang en cellules blastiques. Cette transformation lymphoblastiques résulte du pouvoir mitogène des lectines mais en général elle ne s'exerce que sur les lymphocytes T (**Nachbar et Oppenheim, 1980 ; Falasca, 1989 ; Babosa, 2001**).

I.10.4. Effets mimétiques des hormones

Les lectines des graines d'haricot rouge (*Phaseolus vulgaris*), qui ont une haute réactivité avec les membranes cellulaires et leurs récepteurs peuvent mimer les effets des hormones. En effet, les lectines pures des graines de haricot rouge sont connues pour avoir une activité insuline-like sur les grosses cellules isolées (**Greer et coll., 1985**).

I.10.5. Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses

Les travaux de Valentier et coll. (2003) suggèrent que les lectines alimentaires pourraient inhiber la croissance cellulaire des cellules du cancer du sein de l'homme in vitro. Les lectines peuvent être injectées dans la circulation sanguine à des doses non toxiques pour l'organisme afin d'induire spécifiquement la mort de cellules tumorales par apoptose, autophagie ou en activant les défenses immunes anticancéreuses (**Poiroux, 2011**). Egalement ils inhibent leur migration (**Banwell, 1983**).

I.10.6. La propriété antivirales

Les lectines peuvent avoir des actions antivirales comme celles observées par les RIPs (Ribosomes inactivant les protéines) (Wang et coll, 1998). Les lectines mannose-spécifiques isolées de bulbes de 15 espèces sauvages du genre *Narcissus* cultivées en Espagne ont une activité inhibitrice anti-VIH1. L'activité anti-VIH-1 la plus efficace est obtenue avec les extraits de l'espèce *Narcissustortifolious* (Lopez, 2003).

I.10.7. La propriété antibactérienne

Les lectines sont des outils de régulation de la migration et l'adhésion des cellules bactériennes (Tanne et Neyrolles, 2010). Les lectines animales comme les lectines récepteurs des kinases (LecRKs) sont impliquées dans la résistance aux bactéries (Singh et al, 2012) aussi bien pour les lectines de type C qui résistent contre la bactérie *Listeria monocytogenes* (Mukherjee et al., 2014). Concernent les lectines humain de type L (LTLs), elles ont la capacité d'agglutinées les bactéries par une manier calcium dépendent ou par leurs opsonisation en fixent sur les glycoconjugués de ces micro-organismes (Zhang et al, 2012 ; Huang et al., 2014 ; Xu et al., 2014)

I.10.8. Autres propriétés

Les lectines expriment diverses activités biologiques telles que la précipitation des glycoprotéines, l'activation de la voie alterne du complément et l'agrégation des immunoglobulines (Nachbar et coll, 1980), l'induction de la libération de l'histamine a partir des cellules basophiles et des mastocytes (Gomes, 1994), les effets pro et anti inflammatoires (Assreuy, 1997) l'induction de l'apoptose (Kulkarni ,1998).

I.11. L'intérêt des lectines

Les lectines peuvent interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'événements et fonctions dans ces organismes vivants. Ces interactions ont une grande importance car elles se retrouvent impliquées dans des processus biologiques ainsi que dans des processus pathologiques (Lis et Sharon, 1998). Aujourd'hui les lectines sont largement

Utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédicale et dans le domaine agronomique.

I.11.1. 1 En biochimie et protéomique

Les lectines fournissent des outils pour étudier les glycoprotéines (anticorps, cytokines , hormones , facteur de croissance , enzymes , récepteurs et même toxines et virus) pour les purifier (par affinité , une fois couplés à un support chromatographique); pour les détecter (une fois marqué par un fluorophore ou un une enzyme , immuno-blotting , immuno-précipitation ...) .Les glycoprotéines éventuellement après clivage enzymatique , peuvent ainsi être caractérisées quantitativement .(structure des complexe et interaction) . **(DOLE.A.et LINDEBERG. S. ,2005)**

I.11.2. Dans le domaine biomédical

I.11.2.a. Hématologie

Certaines lectines reconnaissent spécifiquement les antigènes des groupes sanguins humains **(Boyd et Sharpleigh, 1954)** et sont utilisées pour leur identification dans des banques de sang.

I.11.2.b. Immunologie

De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent et réutilisées pour l'identification et la purification des glycoconjugués aussi bien que pour leur caractérisation **(Hirabayashi, 2004)**. Les lectines mitogènes sont employées pour déceler les allergies médicamenteuses, pour reconnaître les déficiences immunologiques congénitales ou acquises, pour étudier les sensibilisations dues aux maladies infectieuses et pour juger des effets de diverses manipulations immunosuppressives et immun thérapeutiques **(Jaffe, 1980)**.

I.11.2.c. Biologie cellulaire

Les lectines sont des outils pour étudier la nature, les structures, la dynamique des membranes cellulaires (possédant des résidus saccharidiques) sous des conditions normales et pathologiques (**Jaffe, 1980**).

I.11.2.d. Cancérologie

Certaines lectines purifiées partir d'invertébrés terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histochimiques puisque certaines maladies tel le cancer sont associées une modification des glycanes présents sur les cellules (**Guillot *et coll*, 2004 ; Kenoth *et al*, 2001**) rapportent qu'en raison de leur agglutination préférentielle aux cellules cancéreuses, les lectines sont suggérées comme transporteurs pour diriger drogues et produits pharmaceutiques vers les cellules cancéreuses.

I.11.3. Dans le domaine agronomique

Les lectines peuvent être utilisées dans la lutte contre les agents pathogènes (nuisibles) des plantes telles que les insectes, les nématodes du sol, les vers parasites qui commettent d'importants dégâts dans des cultures (**Murdock *et coll.*, 2002**).

I.12. Le rôle des lectines dans l'immunité

Les lectines sont utilisées en immunologie par Paul Ehrlich au début des années 1890, comme antigène. Les changements morphologiques et biochimiques qui se produisent dans les lymphocytes stimulé par les lectines *in vitro* ressemblent à la plupart des réactions immunitaires provoqués par un antigène qui se déroulent *in vivo* (**Sharon, 1983**). Dans les cellules animales les lectines jouent un rôle dans la défense dans le cadre d'une réponse de l'immunité innée (**De Hoff *et al*, 2009**). Le système du complément, son activation peut être initiée par des complexes immuns (voie classique), par des oligosaccharides microbiens (voie des lectines) ou par divers composants de surface des pathogènes (voie alterne) (**Cavaillon, 2005**). La voie lectine est initié par la fixation de diverses lectines, telles la MBL, sur des résidus glucidiques de membranes microbiennes, cette interaction permet de l'activation des protéases MASPS (MBL-Associated Serine Protéase) (**Ayméric *et Lefranc*, 2009**). La lectine liant le mannose (mannose bindinglectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance

Généralités sur les lectines

Voie lectine du complément qui joue un rôle dans l'immunité inné (**Roos *et al*, 2007**). Les invertébrés n'ont pas un système immunitaire adaptatif et les lectines jouent un rôle important dans leurs systèmes immunitaires innés en reconnaissant microbes ou agents pathogènes (**Kawsar *et al*, 2010**). La phagocytose se produit lorsque les microorganismes entrent en contact avec les membranes cellulaires des phagocytoses. La première étape consiste en l'adhésion des microorganismes à la membrane des phagocytoses grâce à l'existence de lectines de surface. Ces lectines reconnaissent des structures glucidiques présentes sur les glycoprotéines ou des glycolipides des membranes externes notamment bactériennes : récepteur de mannose – fucose, récepteur de galactose et récepteur de β -glucane (**Guénard *et al*, 2001**).

Chapitre II :
Système sanguin

Les groupes sanguins

I.1. Historique

En 1900 le médecin Autrichien Karl Landsteiner (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 Lefrère, 2011**). Un autre antigène important des globules rouges est le facteur rhésus Rh identifié en 1940 par Landsteiner et Weiner (**Brooker, 2001**).

I.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 (**Ramè et Naccache, 2001**).

Les antigènes A et B détectés par des anticorps spécifiques définissent quatre groupes sanguins principaux : A, B, AB, O (**Ramata, 2010**).

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

I.3. Facteur rhésus

Le facteur R est l'un des plus importants systèmes de groupes sanguins après le système ABO, ses antigènes (C, D et E) sont aussi importants que ceux de système ABO. Les personnes dans le sang desquelles cet antigène est, sont dites Rh+, tandis que les autres sont Rh- (Boucher, 2008).

I.4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Les antigènes du système ABO proviennent d'une famille des 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 chaîne oligosaccharidique 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 allo-anticorps ne sont pas produits contre le groupe O (Parham, 2000) (figure 7)

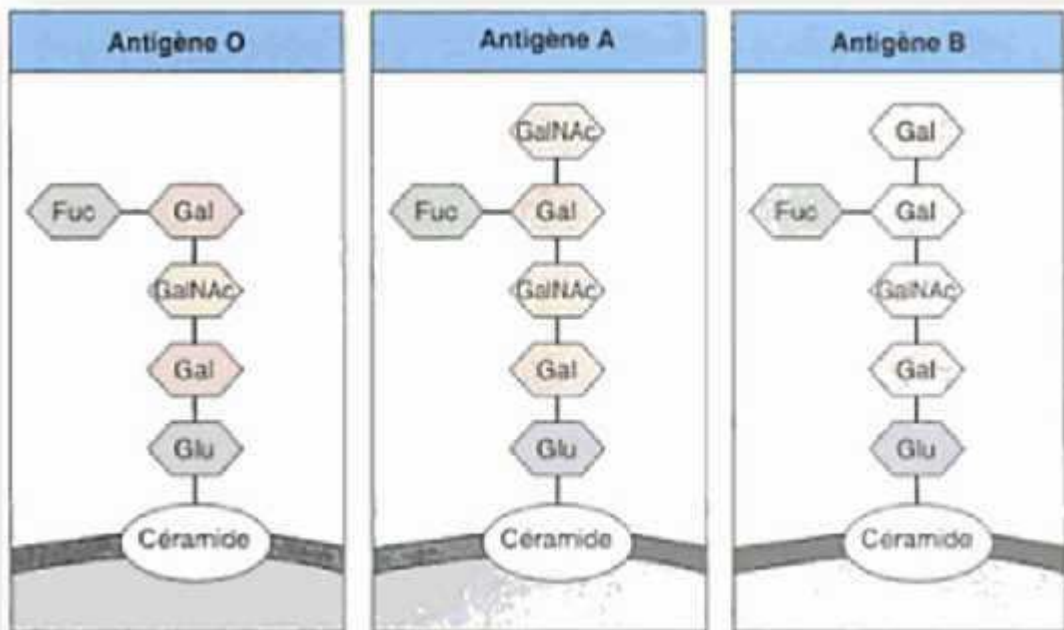


Figure 08 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Parham, 2000)

Chapitre III :
généralités sur la
plante



Figure 09: La plante de *Cyperus longus* (flickr.com, 2012)



Figure 10: les grains de plante de *Cyperus longus*. (WIKIPEDIA. 2016)

I.1. Description de la plante :

Le souchet odorant (*Cyperus longus*) appartient à la famille botanique des *Cypéracées*, on enregistre environ 110 genres de *Cypéracées*, dont les trois principaux sont :

- les *Carex* ou Laïches (environ 1760 espèces)
- les *Cyperus* ou Souchets (environ 600 espèces)
- *Scirpus* ou *Scirpes* (environ 300 espèces)

On retrouve les *Cypéracées* dans les lieux humides et marécageux du monde entier (l'Europe, en Afrique, au Moyen-Orient et en Asie centrale) généralement sur le bord des eaux, sur les plages maritimes, dans les prairies humides

Les *Cypéracées* se caractérisent par leurs tiges aériennes non ramifiées, dépourvues de nœuds renflés, pleines et souvent triangulaires et par la condescence en tube des gaines foliacées, par les anthères basifixes et par la nature du fruit (ARRAKI k. 2014)

Le souchet odorant, souchet long (*Cyperus longus*) est une plante vivace avec des feuilles longues luisantes de couleur vert claire et des fleurs brunes rougeâtres à la maturité.

Elle se caractérise par un rhizome étiré, rameux de la grosseur du petit doigt, ligneux noir rougeâtre (même à l'intérieure) et possède une saveur piquante.

Elle se caractérise aussi par rapport aux autres espèces par :

Des renflements creux et par la longueur du rhizome traçant, ce qui lui donne le nom de souchet allongé (BELLAKHDAR J. 2011)

I.2. La plantation de souchet :

On plante généralement et de préférence le souchet sur un sol propice à son développement (léger, drainé, humifié) on peut aussi cultiver la plante du souchet dans des pots dans un sol sableux. De préférence le souchet doit être planté dans des endroits ensoleillés.

Le mois de mai est propice pour la plantation du souchet, car il n'aime pas les températures très basses (inférieures à -5c °) Les sillons distants de 50 cm renferment des groupes de 2 à

Généralités sur la plante

4 tubercules espacés d'environ 30 à 40 cm. Il est nécessaire de recouvrir ces sillons d'une terre légère et fine.

Afin d'éviter que le souchet soit une proie à certains prédateurs comme les mulots par exemple, il doit être cultivé de préférence dans des pots.

La récolte des tubercules est réalisée en automne dans le but d'éviter les premières gelées qui sont néfastes pour son développement. (<https://www.manelya.com/lhuile-de-souchet>)

Tableau 04 : Classification scientifique de *Cyperus longus* : (WIKIPEDIA. 2016)

Règne:	<i>Plantae</i>
Sous-règne:	<i>Tracheobionta</i>
Division:	<i>Magnoliophyta</i>
Classe :	<i>Liliopsida</i>
Sous-classe :	<i>Commelinidae</i>
Ordre :	<i>Cyperales</i>
Famille :	<i>Cyperaceae</i>
Genre :	<i>Cyperus</i>
Espèce :	<i>Longus</i>

I.3. L'intérêt de la plante :

Les *Cypéracées* sont des plantes qui sont très riches en stilbènes, ces dernières (molécules) ont plusieurs activités biologiques et jouent un rôle important et bénéfique pour la santé humaine (un effet antioxydant, anti cancéreux, contre les maladies cardiovasculaires, l'hypertension et l'hypercholestérolémie (ARRAKI K. 2014)

Généralités sur la plante

Pendant long temps les égyptiens utilisaient la moelle de *Cyperus* comme matière première pour fabriquer une forme de papier qui servait comme support d'écriture. (ARRAKI K. 2014)

L'huile essentielle extraite de *Cyperus longus* qui est composée de l'iridiflorol et Longiverbenone, possède un effet anti cancéreux important (anti prolifératifs et anti apoptotique sur les lignées cellulaire MCF7 et PC3) (TOKTAM et al. 2015)

Le souchet odorant (*Cyperus longus*) se caractérise par sa saveur épicée (piquante) et par son arôme évoquant le nard et la violette se qui donne l'avantage à cette plante d'être utilisée comme condiment dans les plats culinaire (BELLAKHDAR J. 2011)

Les tubercules séchées et pulvérisées de souchet odorant ont été utilisée comme un remède pour les maux de tête soit par une application frontale soit par inhalation. (KERHARO J. 1971)

L'huile de souchet odorant est également utilisée dans les cosmétiques pour les soins de la peau et cheveux et ceci grâce à sa richesse en anti oxydants, vitamine E, oméga 6 et 9 qui donne une protection contre la déshydratation et le vieillissement de la peau et les cheveux secs.

Matériels et Méthodes

Matériels et méthodes des tests phytochimiques

I.1. Matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur une plante médicinale :

➤ *Cyperus longus*



Figure11 : Photo : représente le matériel végétale *Cyperus longus*.

I.2. Les méthodes

I.2.1. La Préparation de plante

Les grains ont été rincés à l'eau et séchés à l'air pendant un jour ensuite elles ont été broyées dans un mortier afin d'obtenir des petits morceaux qui ont été par la suite broyées une deuxième fois dans un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Enfin cette dernière a été conservée dans une boîte fermée.

I.2.2. L'Extraction de plante

I.2.2.a. Le Principe

C'est une opération visant à récupérer des substances hydrosolubles à partir de la poudre de plante à l'aide d'une solution tampon.

I.2.3. La Technique d'extraction

9g de poudre obtenue à partir des grains broyés a été mise dans un flacon Contenant 30 ml solution tampon PBS (0.1M pH 7.4) (annexe 1) pendant 24h, Après la centrifugation de la suspension à 6000tr /min pendant 30 min le surnageant est

Récupéré et conservé pour la réalisation des tests souhaités

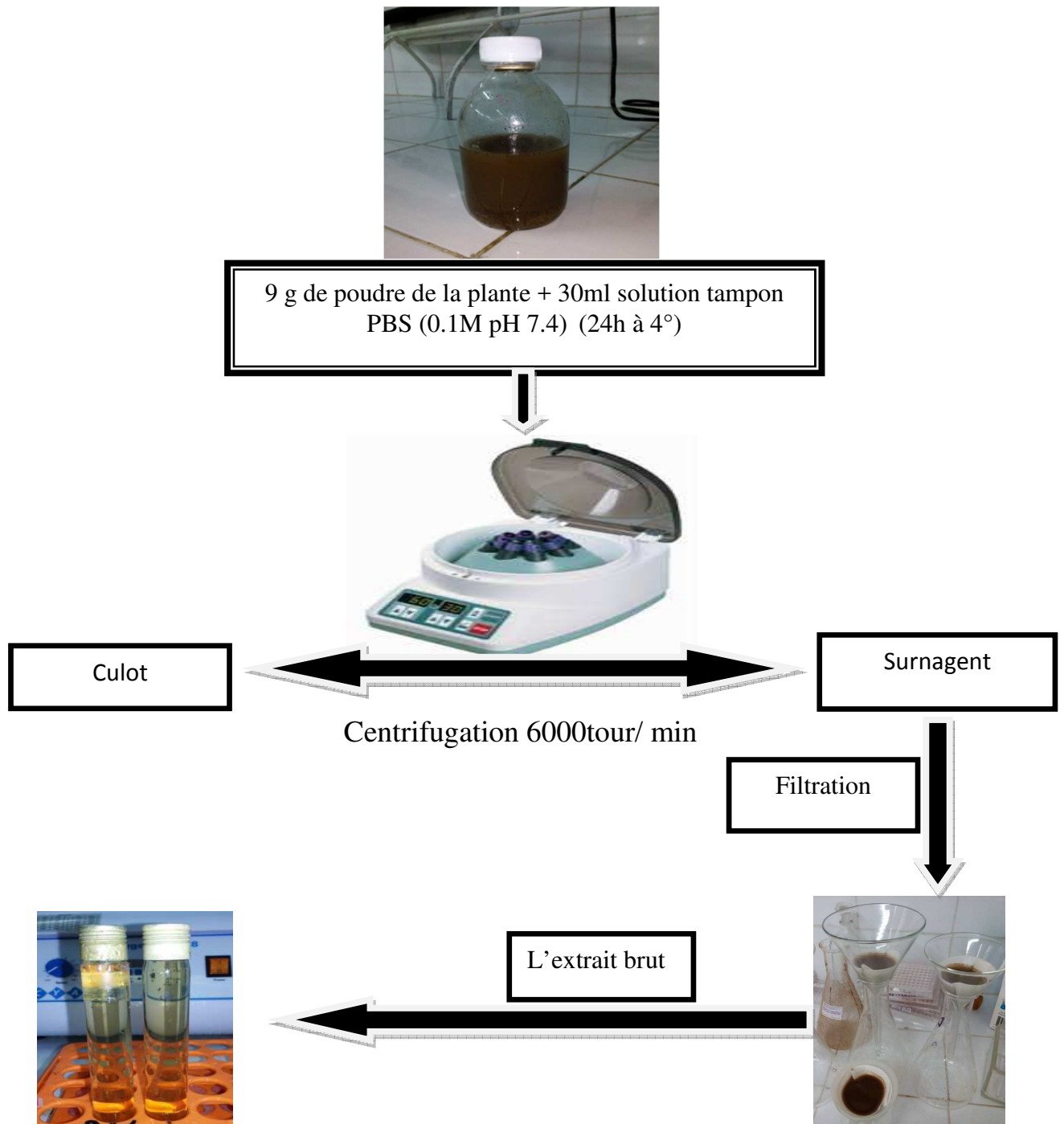


Figure 12 : schéma d'extraction des lectines à partir de la poudre de *Cyperus longus*

1-2-3 Le test d'hémagglutination

Ce test a été porté sur les hématies du lapin et permet d'affirmer la présence des lectines dans les extraits. Il se base sur l'observation de l'agglutination, et par conséquent de la précipitation des érythrocytes en présence des lectines.

1-2-3-1 La Préparation des hématies à 3%

Le sang humain est collecté à partir de laboratoire d'analyse médicale polyclinique Dr hocine benkadri et laboratoire d'E.H.S chirurgie cardiaque Djeghri Mokhtar Constantine, Le sang du lapin est collecté à partir du lapin provenant au niveau de l'animalerie de l'université de Constantine¹. Les hématies du lapin sont collectées pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extraits, et les hématies de groupe sanguins humains ABO pour tester la spécificité des lectines des extraits au groupe sanguin ABO. Les hématies collectées ont été au préalable soumises à un lavage, puis à une dilution.

a) Lavage des hématies

Le tube contenant un volume de sang (1.5 ml) a été centrifugé à 4000tr /min pendant 10 min. le surnageant résultant est versé et une solution d'eau physiologique est ajouté au culot; après avoir bien mélangé le tube est soumis à nouveau à une centrifugation. l'opération est répété 3 fois jusqu'à l'obtention d'un surnageant claire.

b) La dilution des hématies

Après avoir terminé le lavage le culot contenant les globules rouge est dilué par une solution saline d'eau physiologique sachant que 1.5 ml des hématies dans 48.5 ml d'eau physiologique afin d'obtenir des hématies à 3%.

1-2-3-2 La technique d'hémagglutination :

Dans chaque puits d'une microplaque, 50 µl d'extrait brute de notre plantes ont été déposés tout en ajoutant 50 µl des hématies du lapin. Après 1h, l'agglutination est observée à l'œil nu.

1-2-4 La limite d'hémagglutination

Dans chaque puits, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés suivis de 50 µl de l'extrait Brute est placée uniquement au niveau du premier puits.

Puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants. Ensuite, 50 µl des hématies du lapin ont été ajoutés dans tous les puits. L'observation de

l'activité hémagglutinante a été effectuée à l'œil nu après 1 h d'incubation à une température ambiante (25° C).

1-2-5 L'effet de la température sur l'hémagglutination

Les aliquotes de l'extrait brute ont été versés dans 5 tubes à essai, ces derniers ont été incubés à des degrés différents de température (40, 60, 80 et 100°C) dans un bain marie durant 1h de temps. Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été effectué.

1-2-6 L'effet du pH sur l'hémagglutination

Dans 12 tubes à essai une petite quantité de poudre de notre plantes a été mis tout en ajoutant un petit volume de tampon phosphate à différent valeurs de pH en allant de 1 à 12, Après 24 h d'incubation à 4 °C, le test d'hémagglutination a été effectuée sur le surnageant.

1-2-7 Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides

Dans chaque puits d'une microplaque 25 µl de l'extrait a été déposé, tout en ajoutant 25µl de solution de saccharides ou de glycoprotéine (0,1g/1ml de Na Cl 0,9%) (**Annexe 2,3**) (Maltose, galactose, Glucose, Arabinose, Fructose, BSA, Glu Hcl, Glc /Nac, fétuine). Le mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante, cela permettre au lectine de reconnaître le sucre, 25 µl des hématies du lapin à 3% ont été rajoutées. Après une heure la lecture a été faite à l'œil nu.

1-2-8 Le test de la limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides

Ce test a été effectué pour les sucres qui inhibent l'agglutination, il a été réalisé afin de déterminer la concentration minimale à laquelle à lieu l'inhibition de l'agglutination est mesurée. Dans chaque puits d'une microplaque, 25 µl de tampon phosphate ont été déposés, puis 25 µl des inhibiteurs (0,1g/ml) (**Annexe 02**) sont rajoutées au premier puits seulement, ensuite une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants, l'incubation de ce mélange a été effectué pendant 1h à température ambiante. Finalement, 25µl des hématies à 3% ont été ajoutés dans chaque puits. L'observation de l'hémagglutination a été faite à l'œil nu après une heure de temps.

1-2-9Le Test des métaux (oligoéléments)

Premièrement, l'EDTA est ajouté à l'extrait de *Cyperus longus*. Après 1h, 50 µl de notre composé ont été déposés dans un puits tout en ajoutant 50 µl de l'un des métaux (fecl₂,

MnCl₂, CaCl₂, MgCl₂) (**Annexe 03**) enfin 50 µl de sang de lapin sont ajoutés au mélange, la lecture a été faite à l'œil nu après 1h d'incubation.

1-2-10 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

La spécificité de groupe sanguin de l'extrait a été établie à l'aide des érythrocytes des différents groupes du système ABO. L'étude a été effectuée sur les antigènes des hématies humaines appartenant au système du groupe sanguin ABO. 50 µl d'extraits de plante a été déposés dans un puits d'une microplaque suivis de 50 µl des hématies d'un groupe du sang humain préparés au part avant. Après 1h l'observation a été faite à l'œil nu.

1-2-11 L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G75

➤ **La préparation de la colonne de Sephadex G75**

4 g de Sephadex G75 a été mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4). Le mélange a été incubé pendant 48 h à température ambiante. Puis il a été coulé dans une colonne (1cm/10cm). Le surnageant de l'extrait brute de notre plante a été versé lentement dans la colonne Sephadex G75, puis il a été recueilli par l'élution avec le tampon Phosphate (0,1M ; pH7, 4) dans des tubes secs (5ml/tube). Les fractions récupérées ont été Testés sur les hématies du lapin, pour assurer que l'activité hémagglutinante est améliorée. L'absorbance des extraits récupéré à partir de la chromatographie sur colonne a été mesurée Dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est de 280 nm. Puis on a tracé la Courbe d'absorbance en fonction des tubes.

Résultats et Discussions

I.1. Les testes d'agglutination : Extrait brut-hématies de lapin

L'extraction est effectuée avec le PBS. L'extrait a été utilisé avec les hématies de lapin pour les tests d'agglutination. Le tableau présente l'agglutination des hématies de lapin avec l'extrait de *Cyperus longus*. (**Tableau 05**)

Tableau 05: l'agglutination des hématies de lapin par l'extrait de *Cyperus longus*

Plante	Test d'agglutination
<i>Cyperus longus</i>	+++

+++ Très forte agglutination



Figure13 : Photos: l'agglutination des hématies de lapin par l'extrait de *Cyperus longus* à l'œil nu.

Généralement le phénomène d'interaction entre les lectines et les globules rouges se produit lors du dépôt des lectines au niveau des puits des microplaques contenant les hématies. Une sédimentation est observée au fond des puits au moment du dépôt des hématies, par conséquent une interaction entre ces deux éléments se réalise et donnera par la suite une substance homogène gélatineuse, le phénomène est appelé phénomène d'hémagglutination.

L'extrait de *Cyperus longus* montre une très forte agglutination avec les hématies de lapin, cette agglutination a été observé à l'œil nu ce qui prouve que *Cyperus longus* contient des lectines, ces résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des racines des plantes *Cyperus Rotundus*, *Pistacia lentiscus* et *Ruta graveolens* (Necib et al. 2015) et qui ont montré une très forte agglutination.

I.2. Test limite d'agglutination :

La limite d'agglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une agglutination. Le tableau ci- dessous montre les résultats obtenus lors du test de limite d'agglutination.

Tableau 07: l'activité hémagglutinante d'extrait de *Cyperus longus*

Dilution	1/2	1/4	1/8	1 /16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
Extrait de <i>Cyperus longus</i>	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-

- ++ Forte agglutination
- + Faible agglutination
- Absence d'agglutination

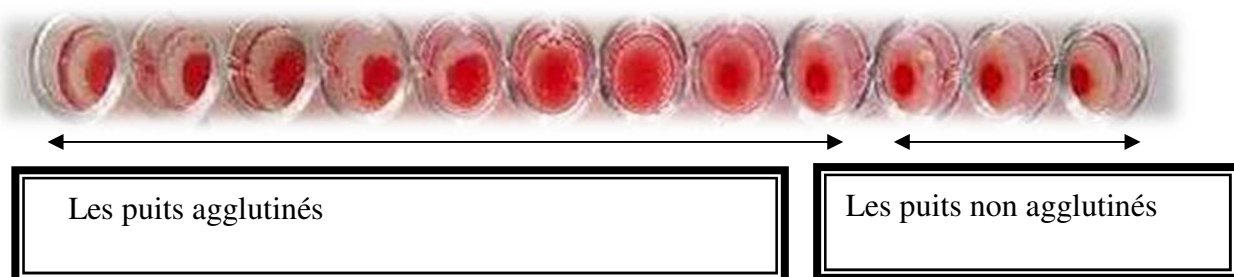


Figure 14 : Photos : la limite d'agglutination de *Cyperus longus* à l'œil nu.

L'extrait de *Cyperus longus* a montré une forte agglutination vis-à-vis des globules rouges lors de sa dilution au niveau des 7 premiers puits, alors qu'elle diminue au niveau des 8 ème puits qui suivent, et disparaît complètement au niveau des puits suivants (9→12). Ces résultats sont comparables avec ceux de *Terfezia bouderei* (Zitouni *et al.* 2014) Alors que l'absence d'agglutination au niveau des autres puits est due à la dilution effectuée donc les fractions contenues sont des diluâtes de l'extrait brut.

I.3. L'effet de température sur l'activité d'agglutination :

Après l'exposition de notre extrait à différentes températures, les résultats sont présentés dans le (Tableau 07):

Tableau 07 : L'effet de la température sur l'activité d'agglutination des extraits de *Cyperus longus*.

Température C °	40 °	60 °	80 °	100 °
L'extrait de <i>Cyperus longus</i>	++	++	++	++

++ Agglutination

Résultats et discussion

Lors de son exposition à différentes gammes de traitement thermique de 40 jusqu' à 100C°, *Cyperus longus* garde toujours son activité d'agglutination, donc cette lectine présente une résistance aux hautes températures, ces résultats sont presque identiques à ceux que (Necib et al. 2014) a réalisé lors de son étude sur les algues rouges *Pterocladia capillacea* qui présente les mêmes caractéristiques que notre extrait.

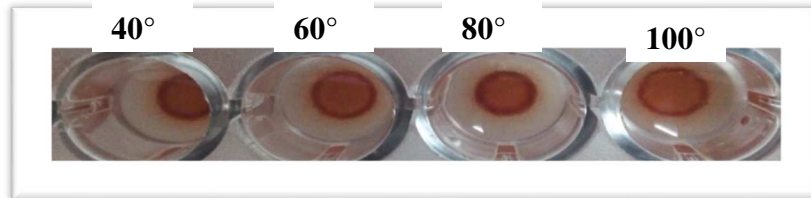


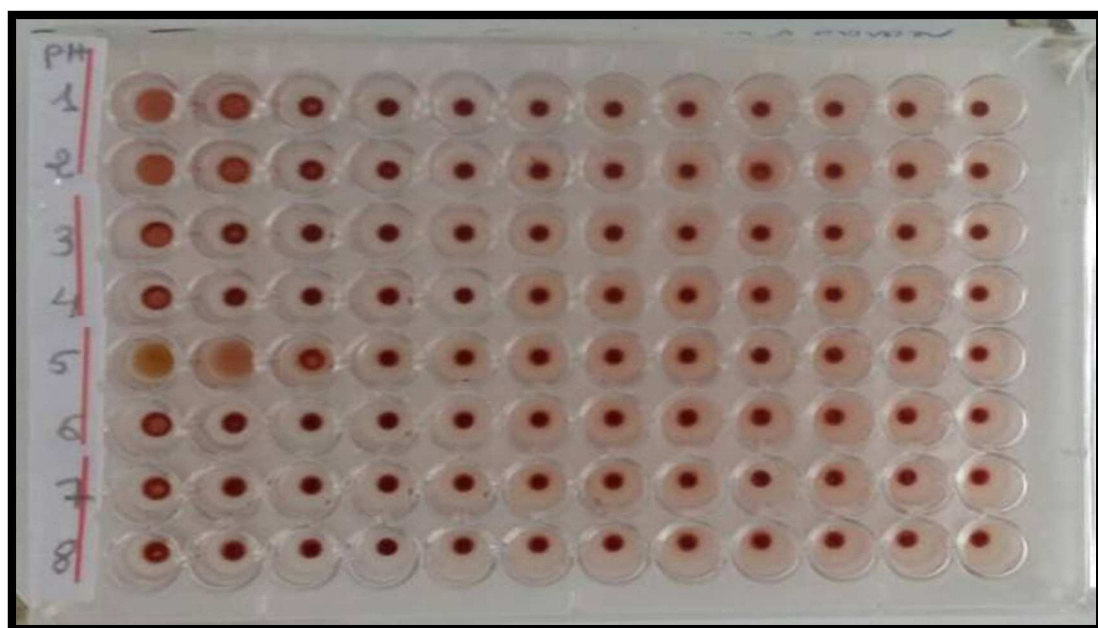
Figure 15 : Photos : l'effet de la température sur l'activité d'agglutination d'extrait de *Cyperus longus* a l'œil nu.

I.4. L'effet de pH sur l'activité d'agglutination:

Tableau 08 : l'effet de pH sur l'activité d'agglutination d'extrait de *Cyperus longus*

pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
L'extrait de <i>Cyperus longus</i>	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

++ Agglutination



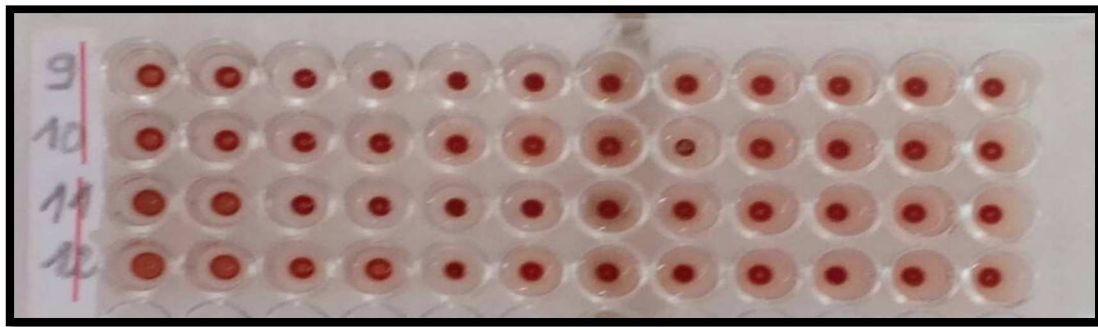


Figure 16 : Photos : l'effet de pH sur l'activité d'agglutination de l'extrait de *Cyperus longus* a L'œil nu.

L'activité d'agglutination des lectines de *Cyperus longus* est stable dans un intervalle de pH de [1 à 12]. Ces résultats sont en nette ressemblance comparés avec ceux trouvés pour la lectine de *Cyperus rotundus* et *Pteroclatiella capillacea* (Necib et al, 2015).

Une autre étude réalisée par Shaista et al en 2014 a montré que les lectines extraites à partir des feuilles d'*Euphorbia helioscopia* restent actives dans un intervalle de pH de 6 à 8.

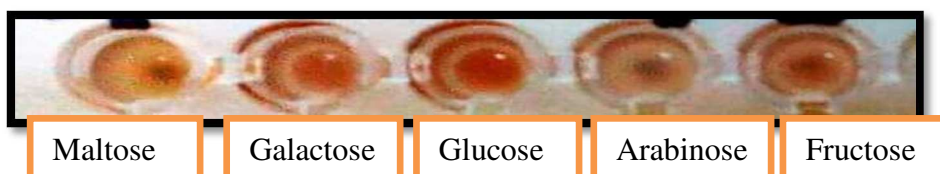
I.5. Test d'inhibition des sucres

Le teste d'inhibition à été réalisé afin de déterminer la spécificité des Lectines présentes au niveau de *Cyperus longus* en utilisant des sucres simple et de glycoprotéines (**Tableau 9**)

Tableau 9 : le test d'inhibition d'extrait brut avec les saccharides

Sucres	Maltose	Galactose	Glucose	arabinose	Fructose	Glu/Hcl	Glc/Nac
L'extrait brut	-	+	+	-	-	+	+

+ Agglutination
- Absence d'agglutination



Résultats et discussion



Figure 17 : Photos : le test d'inhibition d'extrait brut avec les saccharides.

Tableau 10 : le teste d'inhibition d'extrait brut avec les glycoprotéines

Sucres	BSA	Fètuine
Extrait brut	-	-

+ Agglutination, - Absence d'agglutination



Figure 18 : Photos: le test d'inhibition d'extrait brute avec les glycoprotéines (BSA et Fètuine) à l'œil nu.

I.6. Test limite d'inhibition des sucres et des glycoprotéines

Tableau 11 : Teste limite d'inhibition des sucres et des glycoprotéines

	1.5	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2084	1/4096
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fructose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fetuinte	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

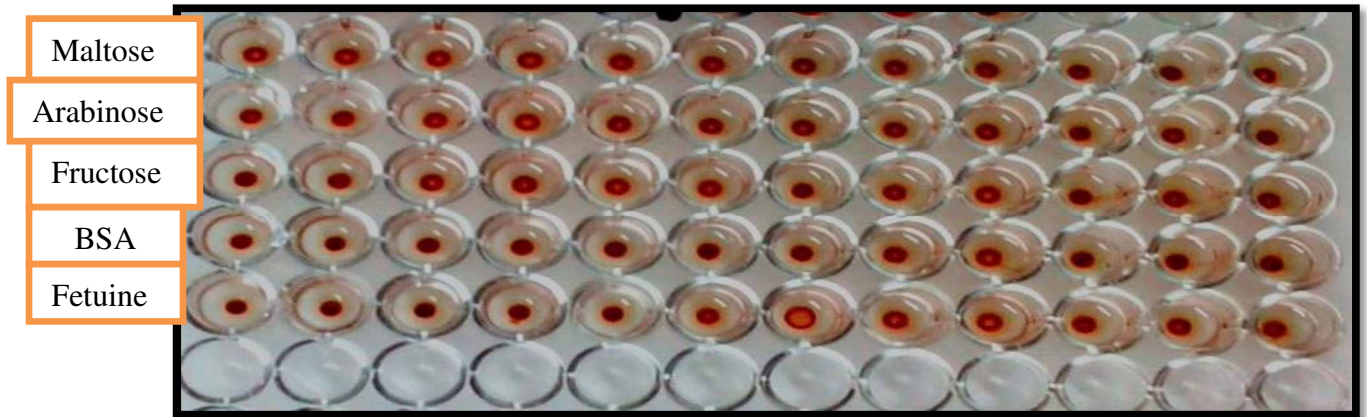


Figure 19 : Photos : Test limite d'inhibition des sucres et des glycoprotéines aperçu à l'œil nu

L'extrait du *Cyperus longus* a démontré une inhibition avec certaines glycoprotéines (Fétuine, BSA) ainsi que des monosaccharides (Maltose, arabinose, fructose) ce qui prouve la différenciation de ses récepteurs. La concentration minimale a été calculée avec le Fructose et a été démontrée qu'elle est de l'ordre de $0,3 \cdot 10^{-6} \text{g/ml}$ au niveau du 6ème puits en utilisant une concentration initiale de 0,1g/ml, Cela révèle que la lectine n'est pas inhibée par les sucres simples uniquement mais par des glycoprotéines également. Ce qui a aussi été observée chez certaines algues marines comme, *Agardhiella tenera* Schmitz, *Ulva lactuca*, *Bryothamnion seaforthii* (Turner) Kützing *B. triquetrum* et *Amansia multifida* Lamouroux. (Jimbo *et al*, 2000). Ceci prouve une affinité différente des lectines, alors qu'il existe des lectines non spécifiques comme celles extraites à partir de *Moringa pterygosperma* (Maricel *et al*, 2004).

I.7. Le test de métaux :

Tableau 12:Résultats du test des métaux avec l'extrait de *Cyperus longus*

Métaux	EDTA	FeCl ₂	MnCl ₂	CaCl ₂	MgCl ₂
L'extrait brut	-	+	+	+	-

+ Agglutination

- Absence d'agglutination



Figure 20 : Photo: L'agglutination de lectines de *Cyperus longus* après l'incubation avec EDTA.

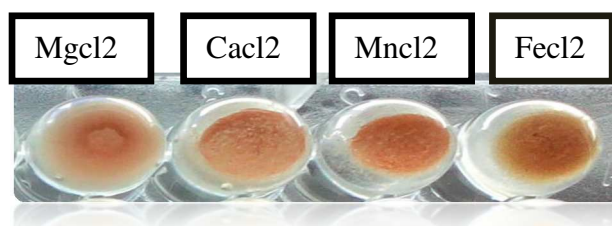


Figure 21 : Photos : l'effet de FeCl₂, MnCl₂, CaCl₂ et MgCl₂ sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Cyperus longus* à l'œil nu.

Le *Cyperus longus* présente une inhibition vis à vis du (MgCl₂) contrairement aux autres métaux (FeCl₂, MnCl₂, CaCl₂) qui eux ont présenté une agglutination lors du contact avec l'extrait. Ce résultat montre que notre lectine est une métalloprotéine contrairement à red alga *Pterocladia Capillacea* qui ne présente aucune activité avec les métaux ce qui fait d'elle une lectine non métalloprotéine (Necib *Et al*, 2014)

I.8. Les tests d'agglutination : Extrait brut-hématies humaines

Le teste d'agglutination sur les hématies humaines ABO a été réaliser dans le but d'étudier la spécificité de notre extrait à des hématies humains et pour déterminer la présence des lectines (**Tableau 14**)

Tableau 13 : l'agglutination des hématies humaines (A, B, AB) par l'extrait de *Cyperus longus*.

Groupe sanguin	A	B	AB
Extrait brute de <i>Cyperus longus</i>	-	-	-

- Absence d'agglutination.

Les résultats du tableau (09) indiquent que l'extrait de *Cyperus longus* n'agglutine pas les types A, B et AB de groupe sanguin humains, donc ces lectines ne présentent aucune sélectivité pour ces groupes du système ABO.

Ces résultats sont comparativement identiques avec ceux réalisés sur les lectines Extraites des feuilles. d'*Euphorbia helioscopia* (EHL) par (Shaista R et al ,2014). Ce qui n'est pas le cas pour l'algue rouge *Pterocladia capillacea* qui a une activité avec le groupe B (Necib Y et al, 2014) (Figure 22)

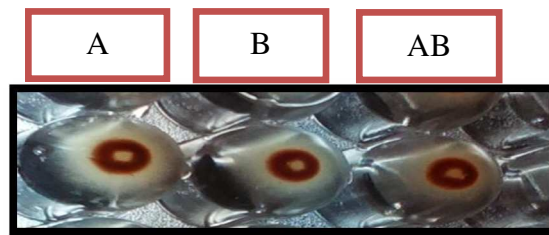


Figure 22 : Photo: L'agglutination des hématies humaines (A, B, AB) par l'extrait brut de *Cyperus longus* à l'œil nu.

I.9. Extraction des lectines par chromatographie gel de sèphadex G-75 à partir de *Cyperus longus* :

Afin d'arriver à éliminer les impuretés contenues dans l'extrait brut, améliorer la pureté et l'activité hémagglutinante et de pouvoir en outre améliorer l'extraction des lectines, nous avons procédé à leur extraction par la méthode chromatographique sur le gel sèphadex G-75.

Il s'agit ici d'une séparation des protéines selon leur taille utilisant un tamis moléculaire.

Les tubes obtenus avec la chromatographie de *Cyperus longus* sont ensuite passé pour la lecture sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 280 nm (nanomètre).

Les résultats sont présentés dans le graphe suivant :

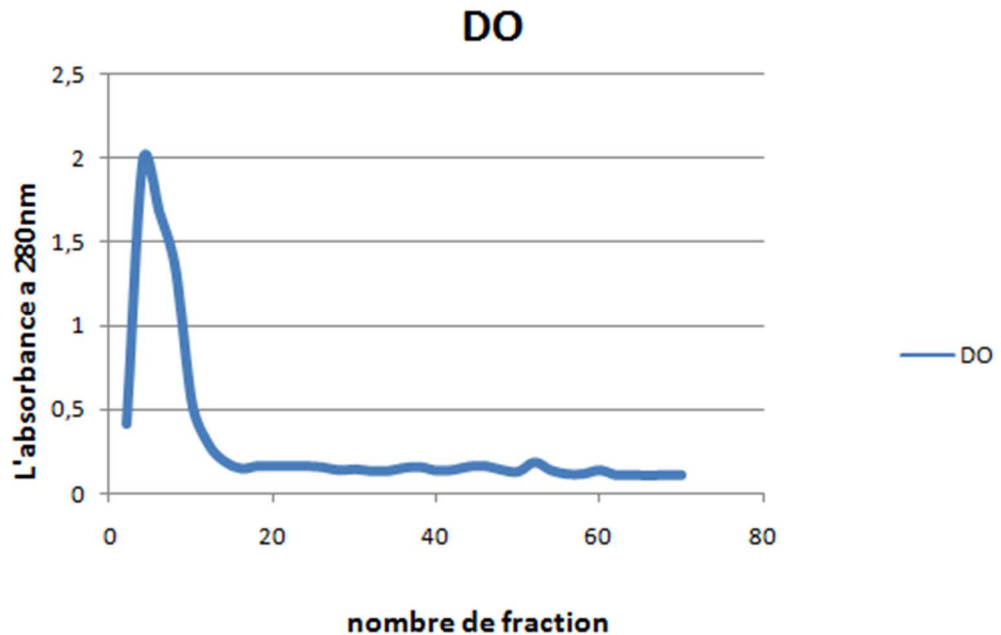


Figure 23 : La filtration par chromatographie sur colonne de sèphadex G-75 de l'extrait de *Cyperus longus* selon l'absorbance à 280 nm.

- **Eluant :** PBS pH 7,5
- **Absorbance à 280nm**
- **Volume de la fraction:** 5ml
- **La taille de la colonne :** 1 cm de diamètre sur 10 cm de longueur.

La filtration de l'extrait du *Cyperus longus* sur colonne de Sephadex G75 et la lecture à 280nm a montré un seul pic dans la courbe (**Figure23**)

Afin de confirmer la présence des lectines au niveau du 1^{er} tube, un test d'hémagglutination a été effectué avec les hématies de lapin selon le protocole décrit dans le chapitre précédent. Les résultats obtenus par la suite ont réellement confirmé la présence de lectines avec une très forte hémagglutination. Ces résultats sont similaires à ceux des lectines de *Pterocladia capillacea* et des lectines de *Morus nigra* séparées par chromatographie sur colonne de Sephadex G75 (Necib *et al*, 2014) (Necib *et al*. 2015).

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion

Conclusion :

En ces temps modernes, la science avec l'apport des technologies de pointe et les méthodes révolutionnaires de recherche n'ont cessés de nous révéler les vertus des plantes à fortiori les plantes médicinales.

Les études très poussées réalisées par de grands chercheurs ont pu mettre en évidence les vertus de leurs composés biologiques et actifs isolés, ces derniers (composés) sont analogues à des micros usines chimiques dont l'industrie principalement pharmaceutique ne cesse d'en tirer profit pour le bien être de toute l'humanité.

Cet engouement pour ces plantes nous a motivés pour entreprendre une étude sur les lectines d'une plante appelée *Cyperus longus*.

Notre travail a consisté en la réalisation d'une étude de l'extrait de nouvelles lectines dont l'espèce est le *Cyperus longus* (grains) ce travail nous a permis d'en tirer plusieurs conclusions dont principalement :

Nos lectines ont été partiellement purifiées par chromatographie sur gel de séphadex. La chromatographie sur séphadex G-75 a donné un seul pic

La recherche des lectines à partir de notre plante a conduit à une activité d'hémagglutination.

Les lectines de *Cyperus longus* ne montrent aucune spécificité pour les hématies des groupes A B et AB du système sanguins ABO.

Le test d'inhibition d'hémagglutination révèle que les lectines de *Cyperus longus* sont inhibés par le maltose, galactose et fructose et ils ont montre une spécificité pour le magnésium.

Les lectines de *Cyperus longus*, sont thermorésistants, et ils sont stables dans des pH neutre, alcalin et acide.

Les perspectives de ce travail sont nombreuses. Ce travail peut être la première étape d'une naissance des nouveaux lectines. Enfin ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires profondes à différents niveaux de l'approche à travers une caractérisation fine et poussée de cette plante. D'autres techniques peuvent encourager la poursuite d'études par des tests tels que :

- L'activité antimicrobienne.
- L'activité antivirale.
- L'activité anti oxydante

Conclusion

- L'activité anticancéreuse.
- L'activité immune modulatrice.
- La purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC.
- la détermination des poids moléculaire des lectines par électrophorèse et leur séquençage.

Références
Bibliographiques

Abdulazim, S.S., Salah, O. A.T., Munir, N. G. M., Shomaf. S. (1998). The Abortifacient effects of Castor Bean Extract and Ricin-A Chain in Rabbits. *Contraception*. 58: 193–197.

Alencar N.M ., Cavlcante C. F ., Vasconcelos M. P., Leite K.B., Aragao K. S., Assreuy A. M., Nogueira N. A., Cavada B. S., Vale M. R. (2005) Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J PharmaPharmacol* **57**: 919-922.

Anjani, K. (2005). Purple-coloured castor (*Ricinus communis* L.)-A rare multiple resistant morphotype. *Curr. sci.* 88(2) : 215-216.

Aslania, M.R ., Malekib ,M ., Mohria, M ., Sharifia,K ., Najjar,V. N ., Afshari , E. (2007). Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. *Toxicon*. 49: 400–600

ASSREURY A.M.S (1997). Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. *Mediators of inflammation*, 6, 201-210.

Arraki K., 2014. Les stilbénoides chez les *Cypéracées* : Isolation,identification et étude de leurs activités biologiques.Identification et dosage des stilbènes dans des vins Tunisiens. Université de Bordeaux Université de Carthage Faculté des Sciences de Bizerte.

Bellakhdar J., 2011. Deuxième contribution à l'étude de l'umdat at-tabib d'abulhayr al-ibbili: commentaires à propos de quelque items et proposition d'élucidation.al biruniya, association marocaine de harmacognosie d'étude ethnomédicales et de botanique appliqué. 18; 47-63.

BABOSA T. (2001). In vivo lymphocyte activation and apoptosis by lectins of the diocleinae subtribe. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 95 (5), 673-678.

BANWELL J.G. (1983). Phytohaemagglutinins derived from red kidney bean: a cause for intestinal malabsorption associated with bacterial overgrowth in the rat. *Gastroenrology*, 84, 506-515

Berk (1993) technologie de production de farine alimentaire et de produit protéiques .FAO : 14

Bianchet M. A, Ahmed H., Vasta G. R, Amzel L.M. (2009) Structural aspects of lectinligand Interaction In Vasta G0 R., Amzel L. M. *Animal lectins: a functional view*. TAYLOR&FRANCIS. LLC: 13-14.

Bird,g.(1951), plant and other agglutinins in the study or human red corpuscles in extract of *dolichosbiflorus*. *cunsci*, 20-29 bound to slex and psgl-1. *Cell*, 103: 467-479.

Borch-Jensen, C., Benny Jensen., Mathiasen, K., Jrgen, M. (1997). Analysis of Seed Oil from *Ricinus communis* and *Dimorphoteca pluvialis* by Gas and Supercritical Fluid Chromatography. *JAOCS*. 74(3): 277-284

Boyd, W. C. and E. Shapleigh (1954). "Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins)." *Science* 119(3091): 419.

Cao X., Sun Y., Wang C., Zeng B. (2010) Purification and characterization of a new D-galactose specific lectin from the housefly, *Musca domestica*, and its antiproliferative Effect on human K562 and MCF-7 tumorcells. *Journal of Insect Science* **10(79)** :1-12

CHABROL. E., FIESCHI. F., GIRARD. E. (2012) caractérisation structurale et fonctionnelle d'une lectines de type C des cellules de langerhans : la langérine. *Chimie et sciences du vivant. Université de Grenoble*, Pp : 63-64.

Cheema, N. M., Muhammad, A., Ghulam, Q., Malik, A. R. (2010). Characterization of castor bean genotypes under various environments using SDS6PAGE of total storage proteins. *Pak. J. Bot.* 42(3): 1797-1805.

Coopman, V., Marc, D. L., Cordonnier, J., Werner, J. (2009). Suicidal death after injection of a castor bean extract (*Ricinus communis* L.).*Forensic Sci. Internatl.*189:e13– e20.

Couplan, F., Styner, E. (1994). *Guides des plantes sauvages : comestibles et toxiques* (1994), Paris, pp : 367-368.

Dam TK and Brewer CF. (2002) Thermodynamic studies of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry.*Chem. Rev.* (102): 387-429.

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.

Despott, E., Mario, J. C. (2004). A Case of Accidental Ricin Poisoning. *Malta Med.*16 (4) :39-41.

Edelman G.M, Cunningham B.A, Reeke G.N, Becker J.W, Waxdal M.J and Wang J.L. (1972) the covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* (69):2580-2584.

Edgar zenteno-galindo(1986) Études sur les lectines du cactus *machaerocereus eruca* et des graines d'*amaranthus leucocarpus* : caractérisation physicochimique et spécificité. **175.**

FALASCA A.I. (1989). Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maximowics. *Febs Lett.*, 246(1-2) 159 -162.

Franz, D. R., Nancy, K. J. (1997). Ricin Toxin. *Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare*, (Washington, DC: Borden Institute, Walter Reed Army Medical Center), Chapter 32: 631-642.

Garber, E. A. E. (2008). Toxicity and Detection of Ricin and Abrin in Beverages. *J. Fd Protect.* 71(9):1875–1883.

Garland, T., Bailey, E. M. (2006) Toxins of concern to animals and people. *Rev. Sci. tech. Off. Int. Epiz.* 25(31):341-351.

Ghopskins W, evrard C-M.(2003). Physiologie végétale. DE BOECK, 1ère édition: 104-105.

Goker H., Haznedaroglu I.C., Ercetin S., et al. (2008) Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract ankaferd blood steeper. *Jint. Med. Res* 36: 163-170.

GOLDSTEIN, I. J. & HAYES, C. E., (1978). The lectins: carbohydrate-binding proteins of plant and animals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 35:127 340.

GOLDSTEIN, I.J., HUGHES, R.C., MONSIGNY, M., OSAWA, T., SHARON, N. (1980). What should be called a lectin? *Nature*, 285: 66.

GOMES J.C (1994). Histamine release induced by glucose (mannose) specific lectins isolated from Brazilian beans. Comparison with concanavalin A. *Agent Action*, 41, 132- 135

Grace, Q. C., Charlotta, T., Xiaohua, H., Tasha, N., Thomas, A. M., Laudencia-Chinguanco.D. (2007). Expression Profiles of Genes Involved in Fatty Acid and Triacylglycerol Synthesis in Castor Bean (*Ricinus communis* L). *JAOCS Lipids*. 42 : 263–274

GRANT. G. (1991) Lectins. In toxic substances in crop plants.ed.by the royal Society of Chemistry, P: 339.

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

Hardman, K.D. and Ainsworth, C.F. (1972). Structure of concanavalin A at 2.4 Å resolution. *Biochemistry*, (11) 4910-4919.

Hirabayashi, J. (2004) Lectin-based structural glycomics: glycoproteomics and glycan profiling. *Glycoconj. J.*, 21, 35-40.

Ilavarasan, R., Moni, Subramanian, M., Venkataraman (2006). Anti-inflammatory and free radical scavenging activity of *Ricinus communis* root extract. *J. Ethnopharmacol.* 103: 478–480.

Imberty, a. and varrot, a. (2008) microbial recognition of human cell surface.

Imberty, a, wimmerova, m, mitchell, e.p. and gilboa-garber, n. (2004) structures of the lectins from *pseudomonas aeruginosa*: insights into molecular basis for host glycan immobilized phaseolus vulgaris leucoagglutinating and erythroagglutinating lectins. *J interactions by isothermal titration calorimetry. chem. rev*, 102, 387-429. Interface.

Science, 299, 405-408 its membrane poreformation mechanism. *J. Biol. Chem.*, 279, 37133-37141.

IMBERTY. A., MITCHELL. E. P., WIMMEROVÁ. (2005) M. Structural basis for high affinity glycan recognition by bacterial and fungal lectins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 15: 525-534.

JAFFE W.G (1980). hemagglutinins (Lectins). In toxic constituents of plant foodstuffs. New –York, Academic Press, P: 502.

Kerharo J., 1971. L'aromathérapie et la gemmothérapie dans la pharmacopée sénégalaise traditionnelle. *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée Sénégal.* 18; 109-141.

Kamoun P. (2003) .Oses et Polysaccharides In *Biochimie et Biologie Moléculaire.* Médecin-Sciences/Flammaration : 62.

Karoline S.A., (2008) : études structure –fonction de lectines (Disc I et Disc II) de *Dictyostelium discoideum*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de docteur de l'université Joseph Fourier. Université Grenoble 1- Joseph Fourier.

Kenigsberg , J. D., Agnès, B., Eric A.E. G (2008). Rapid detection of ricin in cosmetics and elimination of artifacts associated with wheat lectin. *J. Immunol Meth.* 336: 251–254.

KENOTH. R (2001). Thermodynamic and kinetic analysis of porphyrin binding to *Trichsanthes cucumerina* seed lectin. *Eur. J. Biochem,* 268: 5541-5549.

Korcheva, V., Wong, j., Meghan, Li., David, B. J., Mihail, S. I., Bruce, M(2007).Role of apoptotic signaling pathways in regulation of inflammatory responses to ricin in primary murine macrophages. *Mol. Immunol.* 44: 2761-2771.

KULKARNI G.V (1998). Role of mitochondrial membrane potential in concanavalin A induced apoptosis in human fibroblast. *Experimental cell.Research,* 245,170-178.

Lagnika, L. (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes beninoises. Thèse doctorat .Université Louis Pasteur, Strasbourg.

LAM. S. K., NG. T. B. (2011). Lectins: production and practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol,* 89: 45-55. **LEE, Y.C. and LEE, R.T. (1995)** Carbohydrate-protein interactions: basis of glycobiology. *Acc. Chem. Res.,* 28, 321–327.

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

Lendent, C., Mairesse, M. (2008).Rural allergy. *Rev. Franç. Allergol. Immunol. Clin.*48 (2):109-110.

LENKA. S., IMBERTY. A., JAROSLAVE. K. (2006) modélisation moléculaire des lectines et des glycosyltransferases. Biologie cellulaire. Université de Grenoble I. France. Pp 56-58.

Leo, W. D. V. R., Vancutsem, J., Jan Sten, J. (2009).A survey on the presence of Undesirable botanical substances in feed in the European Union. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 13(S):33-38.

LIENER, I. E.; SHARON, N. and GOLDSTEIN, I.J., (1986). The Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine. Academic Press, Orlando, FL. pp: 600.

Lis H., Sharon N. (1998) Lectins: carbohydrate- specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem. Rev* 98: 673-674.

Little, E.L., Wadsworth, F.H. (1974). Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agriculture Handbook. 449. U.S. Depart. Agricul. Forest. Serv. Washington,DC. 2.

Lombard, S., Helmy, M. E., Piéroni, G.(2001). Lipolytic activity of ricin from *Ricinus sanguineus* and *Ricinus communis* on neutral lipids. *Biochem. J.* 358: 773-781.

LOPEZ S (2003). Anti-humain immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) activity of lectins from *Narcissus* species. *Planta medica*, 69 (2), 109-112

Lord, Michael J., L. M. Roberts, and J. D. Robertus. (1994). Ricin: structure, mode of action, and some current applications. *FASEB J.* 8: 201-208.

Lorenzo, F., Lynne, M. R. (1998) the enemy within: ricin and plant cells. *Experim. Bot.* 49 (326):1473–1480.

Malathi, B., Ramesh, S., Venkateswara, K. R., Dashavantha, V. R. (2006).

Agrobacterium-mediated genetic transformation and production of semilooper resistant transgenic castor (*Ricinus communis* L.). *Euphytica.* 147: 441–449.

Montfort, W, Jesus, E. V., Arthur, F. M ., Stephen, R. E ., Betsy Katzing., Earl, R., Nuyhen, H. X., R on Hamlin., Robertus, J.D. (1987).The Three-dimensional Structure of Ricin at 2.8 Ao. *Biolog. chemist.* 262(11):5398-5403.

MURDOCK. L. L., SHADE. R. E (2002). Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insectectes. *J. Agric. Food. Chem,* 50 (22) : 6605-661.

Myoshim. Et Al (1982). The lethal protein from kintoki beans (*Phaseolus vulgaris*) identified as a lectin. *J. Nutr. Sci. vitaminol,* 28, 255-264.

NACHBAR M.S., OPPENHEIM J.D (1980). Lectin in the United States diet: a survey of lectins in commonly consumed foods and a review of the literature. *The American Journal of Clinical Nutrition,* 33, 2238 -2345.

Necib Y., Bahi A., Merouane F., Bouadi H., Boulahrouf K., 2015. Comparative study of a new lectin extracted from roots of plants: *Cyperus rotundus*, *Pistacia lentiscus* and *Ruta graveolens*. World Journal of Pharmaceutical Research. 4 (1); 1720-1733.

Necib Y., Bahi A., Merouane F., Bouadi H., Boulahrouf K., 2014. Immunomodulatory activity of lectin extracted from the red marine alga *pterocladia capillacea*. World Journal of Pharmaceutical Research. 4 (1): 1693-1706.

N'guessan, K., Kouassi Konan, E ., Kouadio, K. (2009).Ethnobotanical Study of Plants Used to Treat Diabetes, in Traditional Medicine, by Abbey and Krobou People of Agboville (Cote-d'Ivoire). Amer Sci Res. 4: 45-58.

O'Connell, K.P., Menuey, B.C.,Foster,D.(2002). Issues in preparedness for biologic terrorism: a perspective for critical care nursing. AACN Clin. 13: 452-69.

Park, S., Lee, M.R. and Shin, I. (2008) Chemical tools for functional studies of glycans. Chem. Soc. Rev., 37, 1579-1591.

Paul, C.J. Van, R., Lynell, K. T. (1999) .The contribution of extrafloral nectar to survival and reproduction of the predatory mite *Iphiseius degenerans* on *Ricinus communis*. Exper. Appl. Acarol. 23: 281–296.

Peumans W.J., Van Damme J.M. (1995)-lectine as plant defense proteins. PlantPhysiol., 109,347-352.

Poonam, S., Prachi, A., Krishna Murali, Y., Vibha, T.(2008) .Antidiabetic activity of 50% ethanolic extract of *Ricinus communis* and its purified fractions. Fd Chem. Toxicol. 46: 3458–3466.

Pusztai .a. (1991).plantlectins chemistry and pharmacology of natural products cambridge (gbr) .cambridge University press 253.

RABIA. H. (2014) Purification and partial characterization of a Fructose-binding lectin from the leaves of *Euphorbia helioscopia*. *Pak. J. Pharm. Sci*, 27(6): 1805-1810.

RAMATA. N. (2010) Etude de l'activité hemagglutinante des lectines isolées des graines d'*Abrus precatorius L.* la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Mali. Université de Bamako, Pp: 8-24.

Ramprasad, R., Bandopadhyay, R. (2010). Future of *Ricinus communis* after completion of the draft genome sequence .Curr. sci. 99(10): 1316-1318.

Rao, M. U., Sreenivasulu, M., Chengaiah, B., Jaganmohan Reddy, K., Madhusudhana Chetty, C. (2010). Herbal Medicines for Diabetes Mellitus: A Review. Int. J. Pharm. Tech. Res. 2(3) : 1883-1892.

RAQUEL. L., BENEVIDES. R. G. (2011) Caractérisation biochimique et structural d'une lectine de grains de *Platypo dium elegans vogel*. Biologie Structurale et Nanobiologie. France. Université de Grenoble et Universidade Federal do Cearà, p: 11.

RENATO DE A, MOREIRA (1991). Plant lectins, chemical and biological aspects. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 86, Suppl. II, 211-218.

RRENKONEN K. O. (1948). Studies on the hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family of Leguminosae. *Ann. Med. Exp. Fenn. (Helsinki)*, 26: 66.

RUDIGER, H. and GABIUS, H.J., (2001). Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconj J*, 18, 589-613.

RUDIGER.H (1993). Purification of plant lectins. In Gabius, H.J.G., S. (ed), *Lectins and Glycobiology*. Springer, Berlin, Pp: 31-46.

Seufi al, galal fh ET hafez ee. (2012). caractérisation of multisugar-binding ctype lectin (splilec) from a bacterial-challenged cotton leafworm, *spodopteralittoralis*. *journal.pone*, 7(8), 0042795

SHAISTA. R., SAKEENA. Q., ISHFAK. H. W., SHOWKAT. A. G., AKBAR. M., RABIA. H. (2014). Purification and partial characterization of a Fructose-binding lectin from the leaves of *Euphorbia helioscopia*. *Pak. J. Pharm. Sci*, 27(6): 1805-1810

SHARON, N. (1980). What should be called a lectin? *Nature*, 285: 66.

SHARON, N., and HALIMA, LIS. (2003) *Lectins*. Kluwer Academic Publishers.

SHARON, N., LIS, H. (1989). *Lectins*. Chapman and Hall, London.

SHARON. N. (1996) Carbohydrate-lectin interactions in infectious disease. *Adv. Exp. Med. Biol*, 408: 1-8.

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

Shaista R., Sakeena Q., Ishfak H.W., Showkat A.G., Akbar M., Rabia H., 2014. Purification and partial characterization of a Fructose-binding lectin from the leaves of *Euphorbia helioscopia*. *Pak. J. Pharm. Sci*. 27(6); 1805-1810.

Toktam M., Toktam H., Kamali H., Mohammadi A., Ghorbani M., Shakeri A., Demetrios A., Aristidis M., Shabnam S., 2015. Evaluation of the cytotoxic effects of *Cyperus longus* extract, fraction and its essential oil on the PC3 and MCF7 cancer cell lines. *oncology letter*. 11 (2); 1353-1360.

V ALADEZ. V. C., GUZMAN. P. A., JAVIER SOTO. C. F., ÁLVAREZ. M. G., MORALES. G. J., MADRIGAL. S. E., JOSE ROBERTO VILLAGOMEZ. I. J. R., ZUÑIGA. P. C., JOSE GUTIERREZ. S. J., BECERRIL. F. M. (2011à. Purification, Biochemical Characterization, and Bioactive Properties of a Lectin Purified from the Seeds of White Tepary Bean (*Phaseolus Acutifolius* Variety *Latifolius*). *Molecules*, 16: 2561-2582.

VALENTINER U. et al (2003). The influence of dietary lectins on the cell proliferation of human breast cancer cell lines in vitro. *Anticancer Res*, 23 (2B), 1197-1206

Van Damme EJ, Peumans WJ, Barre A, Rougé P (1998) Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences* 17: 575-692

YAGI, F., TIWAYA, T. HARAGUCHI and I.J. GOLDSTEIN, (2002). The Lectin from leaves of Japanese cycad. *Cycas revolute* Thumb. (Gymnosperm) is a member of the jacalin-related family. *Eur. J. Biochem.*, 269: 4335-4341.

Zitouni A, Bahi A, Necib Y. (2015) Immunomodulatory Activity of Lectins Extracted from *Terfezia bouderei*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 50: 285-287.

ZUÑIGA. P. C., JOSE GUTIERREZ. S. J., BECERRIL. F. M. (2011) Purification, Biochemical Characterization, and Bioactive Properties of a Lectin Purified from the Seeds of White Tepary Bean (*Phaseolus Acutifolius* Variety *Latifolius*). *Molecules*, 16: 2561-2582.

Références électroniques

https://fr.wikipedia.org/wiki/Cyperus_longus

<https://www.manelya.com/lhuile-de-souchet/>

www.flickr.com

www.psychologies.com

Annexe

Annexe 01 : Préparation du Tampon

- Préparation de la solution tampon phosphate di-sodique PBS (0,1M ; pH7,4) Pour 5 litres

Produit chimique	Quantité
Disodium phosphate (Na ₂ HPO ₄)	0,435 g
Monosodium phosphate (NaH ₂ PO ₄)	5 g
Chlorure de sodium (Na Cl)	45 g
Eau distillée	5 L

Annexe 02: Préparation des Monosaccharides et glycoprotéines

- Préparation des monosacchari et desglycoprotéines

Sucre/glycoprotéines	Na Cl
0,1 g	1 ml

Annexe 03 : Préparation des Métaux et NaCl

- Préparation des métaux (0,1M)

glycoprotéines	Quantité	NaCl
MgCl ₂	0,095g	10 ml
Ca Cl ₂	0,11g	10ml
Mn Cl ₂	0,125g	10ml
Fe Cl ₂	0,164g	10ml

- Préparation du NaCl 0,9 M

NaCl	Eau distillée
0,9	0,1L

Année universitaire : 2016-2017

Présenté par :
LEDRAA MERIEM et LAAZIZ MOUFIDA

THEME : extraction des lectines à partir d'une plante médicinale *Cyperus Longus*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Biochimie/Nutrition Moléculaire et Santé.

Résumé :

Les lectines forment une famille de protéines et de glycoprotéines hétérogène qui reconnaissent certaines structures oligosaccharidiques. Le but de cette recherche était d'extraire et d'étudier les différentes spécificités des lectines contenues dans les grains de *Cyperus longus* qui est une plante reconnue pour ses diverses propriétés médicinales et cela en débutant par un test d'hémagglutination suivi par la limite d'hémagglutination qui nous a éclairci sur la disponibilité de la concentration des protéines contenues dans notre extrait.

L'activité hémagglutinante de notre plante reste stable toute au long de gamme du pH testée de 1 jusqu'à 12 pendant une heure.

Un test d'inhibition avec différents monosaccharides et glycoprotéines qui a montré que les lectines de *Cyperus longus* ont été spécifiquement et seulement inhibés par les glycoprotéines: Fétuine, BSA ainsi que des monosaccharides (Maltose, galactose, fructose,)

Pour le test d'ABO, les lectines extraites de notre plante ne possèdent aucune sélectivité vis-à-vis des groupes sanguins humains.

Un test des métaux a été réalisé, et qui a démontré que nos lectines sont des métalloprotéines et prouvent une grande affinité au magnésium.

La purification sur colonne de Sephadex G75 a montrés un seul pic pour la plante *Cyperus longus*

Mots clés : Lectines, Extraction, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, Sucres, Affinité.

Laboratoire de génie microbiologique et application, département de Biochimie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Constantine 1.

Membres du jury

Président du jury: Dr. NOUADRI. T

Rapporteur: Pr. NACIB. Y

Examineur: Dr. MEROUANE. F

MCA. Université Constantine1

UFM Université Constantine1

MAA. Université Constantine1

