



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIF

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية  
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

# Extraction des lectines à partir des algues marines : *Ulva lactuca, Gelidium sesquipedale, Corallina elongata*

Présenté et soutenu par : NEMOUCHI Saad Eddine

Le : 18/06/2017

MERIEM Yahia

Jury d'évaluation :

Président du jury : NECIB Y

(Pr-UFM Constantine)

Rapporteur : BAHI A

(MCB-UFM Constantine)

Examineurs : DJEMAI ZOUGHLACHE S

(MAA-UFM 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. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Dr **BAHI Ahlem** Maître de conférence au département de Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des frères Mentouri Constantine, qui nous a encadrées et dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils, son encouragement, sa gentillesse nous sommes très honoré de travailler avec elle*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de notre jury de mémoire : A notre président du jury Monsieur **Necib.Y** professeur 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'examinatrice Dr **DJEMAI ZOUGHLACHE Soumia** Maître assistante à l'université des frères Mentouri, nous sommes fière que vous avez accepté d'examiner et de juger notre travail  
Sans oublier de remercier nos très chers parents.*

*Enfin nous présentons tous nos remerciements à **TOUMI Mohamed esseddik** qui a contribué à la réalisation de ce mémoire par leur connaissances et leur conseils.*

*Merci*



## *Dédicaces*

*En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce travail :*

*À mes chers parents*

*Mon cher Papa Mohamed Tahar,*

*Signe de fierté et d'honneur, ce travail est le votre, Inchallah tu trouveras ici toute mon affection et ma profonde gratitude pour toutes ces années de sacrifice pour moi.*

*Ma chère Maman Rachida,*

*Nul mot ne parviendra jamais à exprimer l'amour que je te porte. Ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et un témoignage de ma profonde affection.*

*À mes chers frères,  
Taki eddine et Abdallah.*

*À mes chères sœurs,  
Ghada et Alaa*

*À mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines.*

*À mes chères amis (es) et particulièrement,*

*Khaoula, Manel, Zineb, Aya, Zaki Ahmed, Zaki Youcef, Mounir, Nadir, Ahmed, boubaker, Anis, Anouar, Housseem, Moncef, Walid, Merouane*

*À mon binome « Yahia » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*A vous tous merci.*

*Saad eddine*



## *Dédicace*

*Dieu tout Puissant merci pour le pouvoir et le courage que vous m'avez donné pour compléter ce travail.*

*A ma mère :*

*Maman, je n'oublierai jamais tes sages conseils prodigués à mon endroit. C'est toi qui disais qu'on ne remercie pas ses parents. Seulement, je ne trouve pas aujourd'hui un moyen d'éviter de te remercier pour tout ce que tu as fait pour nous. Ton souci Primordial a toujours été la réussite de tes enfants. Que tes sacrifices, des peines et tes privations trouvent leur récompense dans l'aboutissement de ce modeste travail qui est aussi le fruit de ta persévérance, de ton courage et surtout de ta patience. Ce travail est également le fruit de ton amour, tes bénédictions et surtout ta bonne éducation.*

*A mes chers frères: Leila Imtinan, Abdelali, Abdemounaim, Moataz,  
Salam*

*A mes amis (es), particulièrement : khawla, Zineb, Aya, Manel,  
Meriem, Malak, Anis, Anoir, Ahmed, Boubaker, Mouad, Ramzi,  
Chiheb*

*À mon binome « Saadou » qui a partagée avec moi les moments  
difficiles de ce travail.*

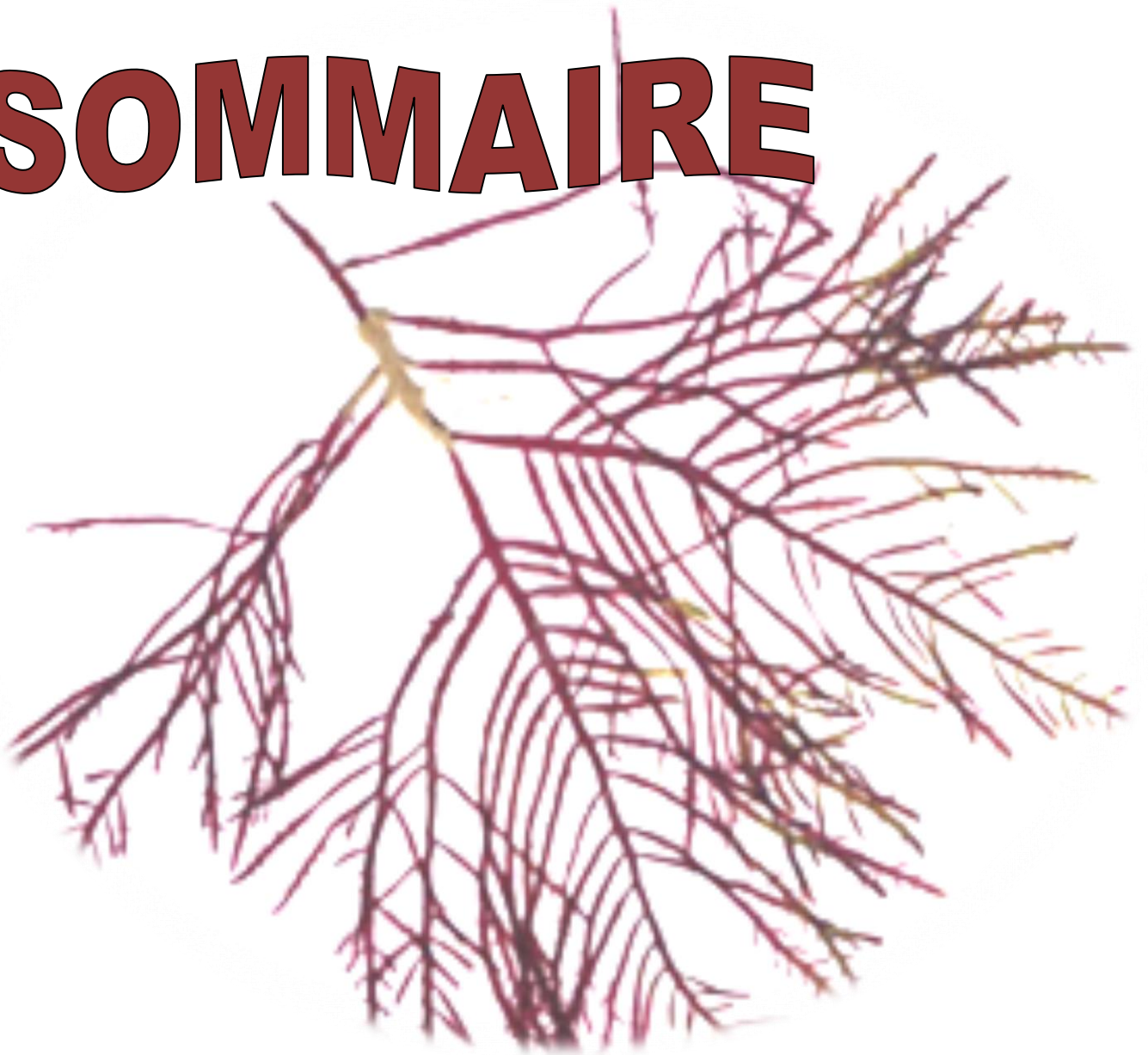
*Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*A vous tous merci.*

*Yahia*



# SOMMAIRE



# Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

## INTRODUCTION

### Chapitre 1 : Généralités sur les lectines

1. Définition des lectines.....	1
2. Historique.....	2
3. La structure des lectines.....	5
3.1. Les lectines simple.....	5
3.2. les lectines en mosaïques.....	5
3.3. Les assemblages macromoléculaires.....	6
4. Les sites de liaisons des lectines.....	7
5. La spécificité et l'affinité des lectines.....	7
6. La Classification des lectines.....	9
6.1. Chez les animaux.....	9
6.1.1. Les lectines extracellulaires.....	9
6.1.2. Les lectines intracellulaires.....	9
6.2. Chez les végétaux.....	9
6.2.1. Les mérolectines.....	9
6.2.2. Les hollectines.....	9
6.2.3. Les chimérolectines.....	9
6.2.4. Les superlectines.....	10
7. Distribution des lectines dans le monde de vivant.....	10
7.1. Les lectines animals.....	10
7.2. Les lectines des plantes.....	12
7.3. Les lectines des microorganismes.....	13
8. Fonction biologique des lectines.....	14

8.1. Chez les plantes.....	14
8.2. Chez l'homme.....	14
9. Propriétés des lectine.....	14
9.1. L'interactionlectine–glucide.....	14
9.2. L'agglutination des cellules.....	15
9.3. L'activité mitogène.....	15
9.4. Effets mimétiques des hormones.....	15
9.5. Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses.....	15
9.6. La propriété antivirale.....	16
9.7. La propriété antibactérienne.....	16
9.8. Autres propriétés.....	16
10. L'intérêt des lectines.....	16
10.1. En biochimie et protéomique.....	17
10.2. Dans le domaine biomédical.....	17
10.2.1. Hématologie.....	17
10.2.2. Immunologie.....	17
10.2.3. Biologie cellulaire.....	17
10.2.4. Cancérologie.....	17
10.3. Dans le domaine agronomique.....	18
11. Le rôle des lectines dans l'immunité.....	18
<b>Chapitre II : le système sanguin</b>	
1. Historique.....	19
2. Le système ABO.....	19



3. Facteur rhésus.....	19
4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	20

**Chapitre III : Généralités sur les algues**

1. Généralités sur les algues .....	22
2. Les grands groupes des algues marines.....	22
2.1. Les algues vertes (Chlorophycées).....	22
2.2. Les algues brunes (Phéophycées).....	23
2.3. Les algues rouges (Rhodophycées).....	23
2.4. Les Cyanobactéries.....	23
3. <i>Ulva lactuca</i> .....	24
3.1. Description.....	24
3.2. Classification.....	24
4. <i>Gelidium sesquipedale</i> .....	24
4.1. Description.....	24
4.2. Classification.....	25
5. <i>Corallina elongata</i> .....	25
5.1. Description.....	25
5.2. Classification.....	26

**MATÉRIELS ET MÉTHODES**

1. Le matériel végétal.....	27
2. Les méthodes.....	27
2.1. La Préparation des algues.....	27
2.2. Le test d'hémagglutination.....	30
2.3. La limite d'hémagglutination.....	30
2.4. L'effet de la température sur l'hémagglutination.....	31
2.5. L'effet du pH sur l'hémagglutination.....	31
2.6. Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides et des glycoprotéines.....	31

2.7. Le test de la limite d'inhibition d'héماغglutination par les saccharides.....	31
2.8. Le Test des métaux (oligoéléments).....	32
2.9. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	32
2.10. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G75.....	32

**RESULTATS ET DISCUSSIONS**

1. Le test d'héماغglutination.....	33
2. La limite d'héماغglutination.....	33
3. L'effet de la température sur l'héماغglutination.....	34
4. L'effet du pH sur l'héماغglutination.....	35
5. Le test d'inhibition d'héماغglutination par des saccharides et glycoprotéines .....	36
6. Le test de limite d'inhibition d'héماغglutination par les Glycoprotéines.....	37
7. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	39
8. Le Test des métaux (oligoéléments).....	39
9. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de Sephadex G75.....	40

**CONCLUSION ET PERSPECTIVE .....42**

Références bibliographiques .....	43
-----------------------------------	----

Annexes.....	55
--------------	----

# RÉSUMÉ





## Résumé

Les lectines forment une famille de protéines et de glycoprotéines hétérogène qui reconnaissent certaines structures oligosaccharidiques et qui peuvent être d'origine animale, végétale, bactérienne ou virale.

Le but de cette recherche consiste en une caractérisation partielle des lectines extraites à partir d'algue rouge *Gelidium sesquipedale*. Dans notre étude, nous avons commencé par extraire en premier lieu les lectines en mettant en évidence leur activité hémagglutinante. Le traitement thermique des lectines de *Gelidium sesquipedale* a révélé qu'elles ne résistent pas aux températures allant au-delà de 40°C, Cette activité hémagglutinante de *Gelidium sesquipedale* est stable dans la gamme de pH allant de 1 à 12. Le test d'inhibition réalisé avec différents monosaccharides n'a montré aucune spécificité par contre avec les glycoprotéines ce test a mis en évidence la compatibilité des lectines de *Gelidium sesquipedale* avec la caséine et l'ovalbumine. Lors du test ABO, il a été constaté que les lectines de l'extrait de *Gelidium sesquipedale* sont compatibles avec tous les groupes et avec une haute sélectivité particulièrement avec les groupes AB et O. Le test des métaux n'a révélé aucune influence des lectines de *Gelidium sesquipedale* par les métaux. L'application de la chromatographie sur colonne de séphadex G 75 sur l'extrait de *gelidium sesquipedale* a donné un 2 pics, avec une amélioration de leur activité hémagglutinante.

**Mots clés :** Lectines, *Gelidium sesquipedale*, l'extraction, activité hémagglutinante, monosaccharide, inhibition, ABO

## **Abstract**

Lectins form a family of proteins and heterogeneous glycoproteins which recognize certain oligosaccharide structures. They may be of animal, plant, bacterial and viral origin. The purpose of this research is to study the partial characteristics of the lectin extracted from red algae *Gelidium sesquipedale*. In this study, first, we have extracted lectins from algae. The presence of the lectins is confirmed by a test of agglutination.

The heat treatment of the lectins from *Gelidium sesquipedale* has revealed that this latter cannot resist temperatures above 40 ° C. The agglutination of extract of the *Gelidium sesquipedale* was stable in the pH range from 1 to 12. The inhibition test carried out with different monosaccharides do not show any characteristics but with glycoproteins, this test demonstrated the compatibility of *Gelidium sesquipedale* with casein and ovalbumin. But through the ABO test, it has been found a compatibility of lectins with all groups but showed high selectivity with groups AB and O. The metal test revealed no influence of the lectins of *Gelidium sesquipedale* on metal. The application of G-75 sephadex column chromatography on *Gelidium sesquipedale* extract gave 2 peaks, with an improvement in haemagglutinating activity.

**Keywords:** Lectins, *Gelidium sesquipedale*, extraction, agglutination, monosaccharides, inhibition, ABO.

## ملخص

تعد اللكتينات من عائلة البروتينات والبروتينات السكرية الغيرمتجانسة والقابلة للتعرف على السكريات قليلة التعدد والسكريات المتعددة وقد تكون ذات مصدر: حيواني، نباتي، بكتيري وفيروسي الهدف من هذا البحث هو دراسة الخصائص الجزئية للكتينات الموجودة في الطحلب الاحمر *Gelidium sesquipedale*.

في هذه الدراسة تم استخلاص اولا اللكتينات وذلك عن طريق ابراز الفعالية التراصية لهم. ان المعالجة الحرارية للكتينات *Gelidium sesquipedale* كشفت ان هذه الاخيرة غير مقاومة للحرارة ابتداء من 40 درجة مئوية.

نشاط ترصص مستخلص *Gelidium sesquipedale* بقي مستقرا في نطاق درجة الحموضة. pH 1 – 12 تطبيق اختبار التثبيط مع مختلف السكريات الاحادية لم يظهر اي خصوصية لها، اما مع البروتينات السكرية فقد تم إظهار توافق لكتينات *Gelidium sesquipedale* مع caséine و ovalbumine. اما خلال اختبار ABO فقد تم ملاحظة توافق لكتينات *Gelidium sesquipedale* مع جميع المجموعات لكن بإظهار انتقائية عالية مع المجموعتين AB و O.

لم تظهر لكتينات *Gelidium sesquipedale* تأثيرها بواسطة المعادن. ان تطبيق الكروماتوغرافي العمودي لمستخلص *Gelidium sesquipedale* باستعمال séphadex G 75 قد حسن فعليا نشاطها التراسي. حيث اعطى نوعين من اللكتينات .

**الكلمات المفتاحية:** اللكتينات، *Gelidium sesquipedale* ، الاستخلاص، التراص، السكريات الأحادية، تثبيط ABO.



# LISTE DES ABREVIATIONS



## Liste d'abréviations

<b>Con A</b>	Concavaline A lectine
<b>ConBr</b>	Lectine de Canavalia brasiliensis
<b>Man</b>	Mannose
<b>PBS</b>	Phosphate Buffer Saline
<b>R</b>	Rhésus
<b>VIH</b>	human immunodeficiency virus

# LISTE DES TABLEAUX



## Liste des tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	les lectines et leurs applications	<b>1</b>
<b>2</b>	Historique de la découverte des lectines	<b>3</b>
<b>3</b>	La Spécificité osidique de certaines plantes a lectines	<b>8</b>
<b>4</b>	Les Lectines spécifiques des groupes sanguins	<b>21</b>
<b>5</b>	L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut des échantillons testées	<b>33</b>
<b>6</b>	L'Activité de la limite d'hémagglutination de <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>34</b>
<b>7</b>	L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>34</b>
<b>8</b>	L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>35</b>
<b>9</b>	Inhibition de l'activité d'hémagglutination par des sucres simples	<b>36</b>
<b>10</b>	Inhibition de l'activité d'hémagglutination par les glycoprotéines	<b>37</b>
<b>11</b>	Les concentrations minimales en caséine, ovalbumine provoquant l'inhibition D'hémagglutination d'extrait <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>37</b>
<b>12</b>	L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brute <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>39</b>
<b>13</b>	Résultats du test des métaux avec <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>39</b>

# LISTE DES FIGURES



## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	Représentation graphique d'un monomère de concanavaline A de <i>canavalia ensiformis</i> en complexe avec le trimannosoïde	<b>05</b>
<b>2</b>	Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique	<b>06</b>
<b>3</b>	Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie <i>d'Escherichia coli</i>	<b>06</b>
<b>4</b>	Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides	<b>07</b>
<b>5</b>	La classification structurale des lectines des plants	<b>10</b>
<b>6</b>	Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le SialylLewisX (PDB 1G1T)	<b>11</b>
<b>7</b>	Tétramère de la protéine ConM de <i>Canavalia maritima</i> complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6)	<b>12</b>
<b>8</b>	Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO	<b>20</b>
<b>9</b>	L'Algue marine vert <i>Ulva lactuca</i>	<b>24</b>
<b>10</b>	L'Algue rouge <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>25</b>
<b>11</b>	L'algue rouge <i>Corallina elongata</i>	<b>26</b>
<b>12</b>	Technique d'extraction des lectines à partir de la poudre de <i>Gélidium sesquipedale</i>	<b>29</b>
<b>13</b>	La filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G75 de l'extrait <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>40</b>



# LISTE DES PHOTOS



## Liste des photos

<b>Photos</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	représente la zone d'échantillonnage de (A) <i>Gelidium sesquipedale</i> ;(B) <i>Corallina elongata</i> ;(C) d' <i>Ulva Lactuca</i>	<b>27</b>
<b>2</b>	Test d'héماغglutination de la lectine extraite de <i>Corallina elongata</i> (A), <i>Gelidium sesquipedale</i> (B), <i>Ulva lactuca</i> (C)	<b>33</b>
<b>3</b>	test de la limite d'héماغglutination <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>34</b>
<b>4</b>	l'effet de la température sur l'activité héماغglutinante de l'extrait <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>35</b>
<b>5</b>	L'effet du pH sur l'activité héماغglutinante de l'extrait <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>35</b>
<b>6</b>	observation microscopique d'agglutination a Ph1 et Ph12	<b>35</b>
<b>7</b>	Inhibition de l'activité d'héماغglutination par les glycoprotéines	<b>37</b>
<b>8</b>	Le test de limite d'inhibition d'héماغglutination par caséine(B) ovalbumine(D)	<b>38</b>
<b>9</b>	L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brute <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>39</b>
<b>10</b>	Résultats du test des métaux avec <i>Gelidium sesquipedale</i>	<b>40</b>
<b>11</b>	Le test d'héماغglutination des fractions	<b>41</b>

# INTRODUCTION



# 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 joueront 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 algues : *Gelidium sesquipedale*, *Ulva lactuca* et *Corallina elongata*. Ces algues n'ont été jamais étudiées en Algérie sur l'extraction des lectines, raison pour laquelle nous avons fixé les objectifs suivants :

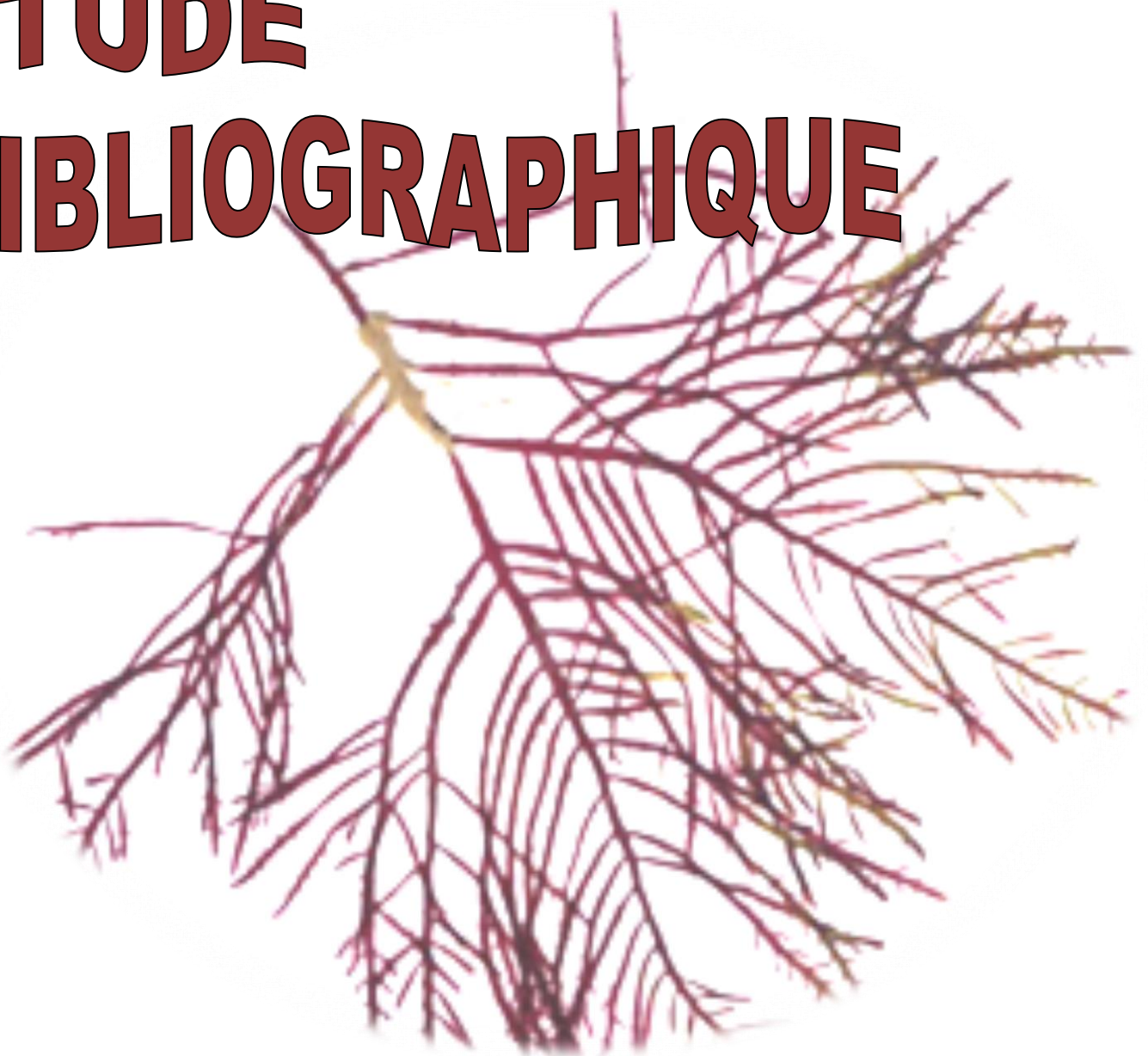
- Etude la présence des lectines par le test hémagglutination avec le sang des lapins.
- Etude l'effet de la température, pH et métaux sur l'activité de ces lectines.

## Introduction

---

- 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

## 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 and Sharon 1998**). Cette classe des protéines est dénommée par Boyd en 1954, sous le nom «lectines» 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 thermorésistantes (**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	ConcanavalineA, 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

## 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 and 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 concanavaline 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 concanavaline A par des saccharoses **(Sumner et Howell, 1936)**.

En 1954, Boyd & Sharpleigh ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des érythrocytes humains d'un groupe sanguin donne **(Boyd et Sharpleigh, 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	Toxicité de la graine d'Abrus precatorius
1886	Dixson	Toxicité de la graine de Ricinus communis
1888	Stillmark	Activité hématagglutinante de la graine de Ricinus communis Toxicité de la graine de Croton tiglium
1890	Erlich	Utilisation de l'abrine et la ricine dans les recherches immunologiques
1891	Hellin	Activité hématagglutinante de la graine de Abrus Precatorius
1897	Elfstrand	Introduction du terme d' 'hématagglutinine
1902	Landsteiner	La réversibilité de l'hématagglutination par la Chaleur
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la Concanavalina A (Con A)

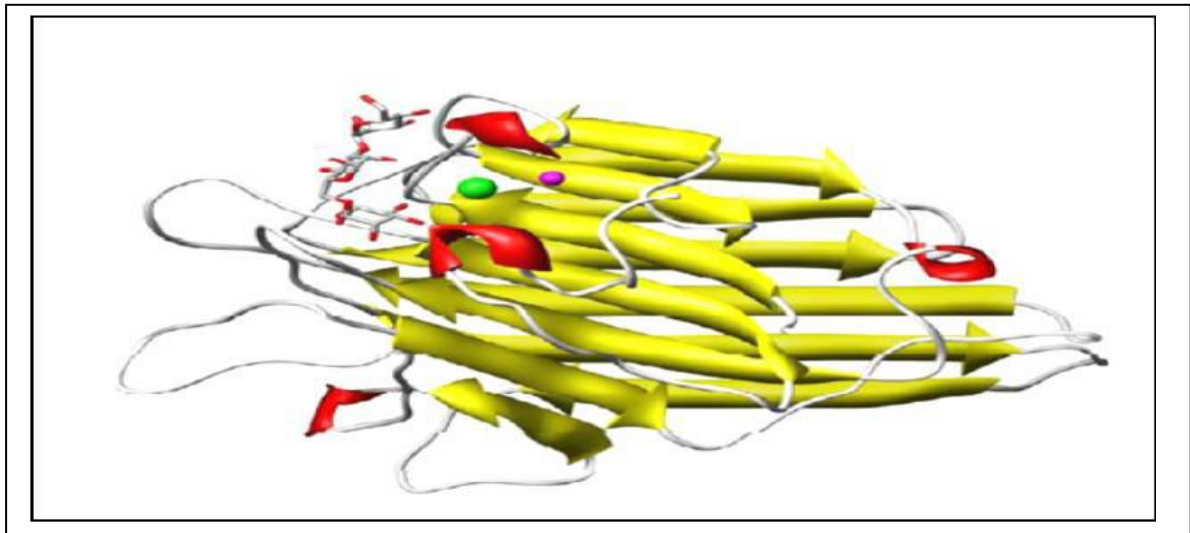
1926-7	Marcusson-Begun/Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins
1947-9	Boyd & Reguera / Renkonen	Specificité groupe de sang des plantes aHémagglutinines
1949	Liener	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolus vulgaris
1949	Jaffe	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolus vulgaris
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 Phaseolus vulgaris
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

### 3. La structure des lectines

Les lectines sont classées en trois grandes classes :

#### 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)



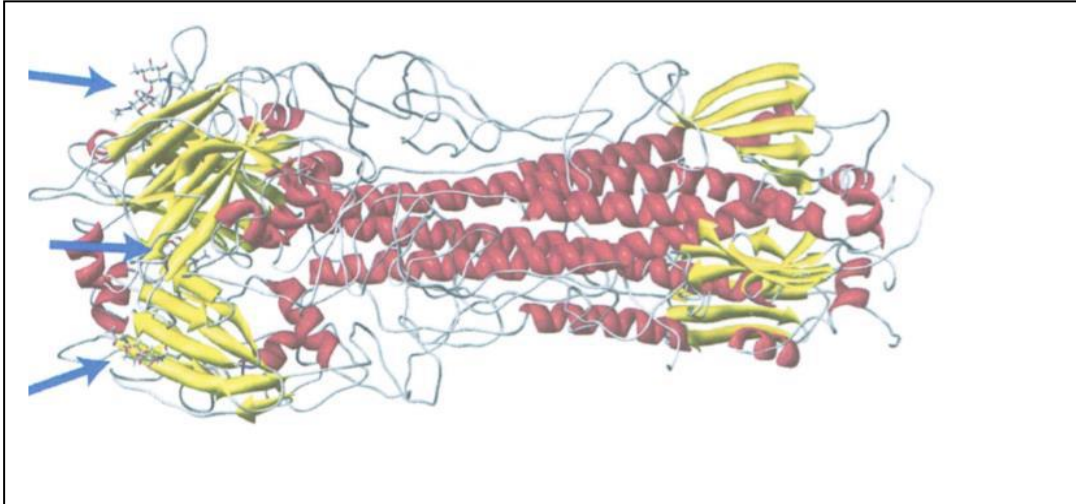
**Figure 01 :** Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A de *canavalia ensiformis* en complexe avec le trimannosoïde (Lenka, 2006).

La protéine est représenté par un ruban rouge pour les hélices  $\alpha$ , un ruban jaune pour les brins  $\beta$  et un fil pour les autres zones. Le sucre est représenté sous forme de bâton et les cations en boule (Lenka, 2006)

#### 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).

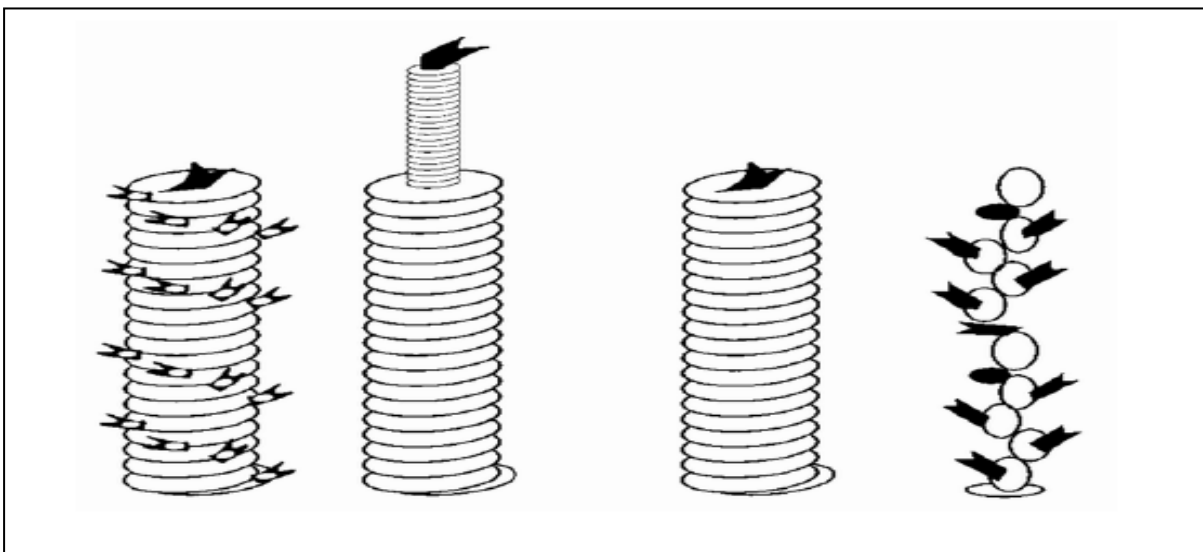




**Figure 2:** Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (Lenka *et al.*, 2006)

### 3.3. Les assemblages macromoléculaires

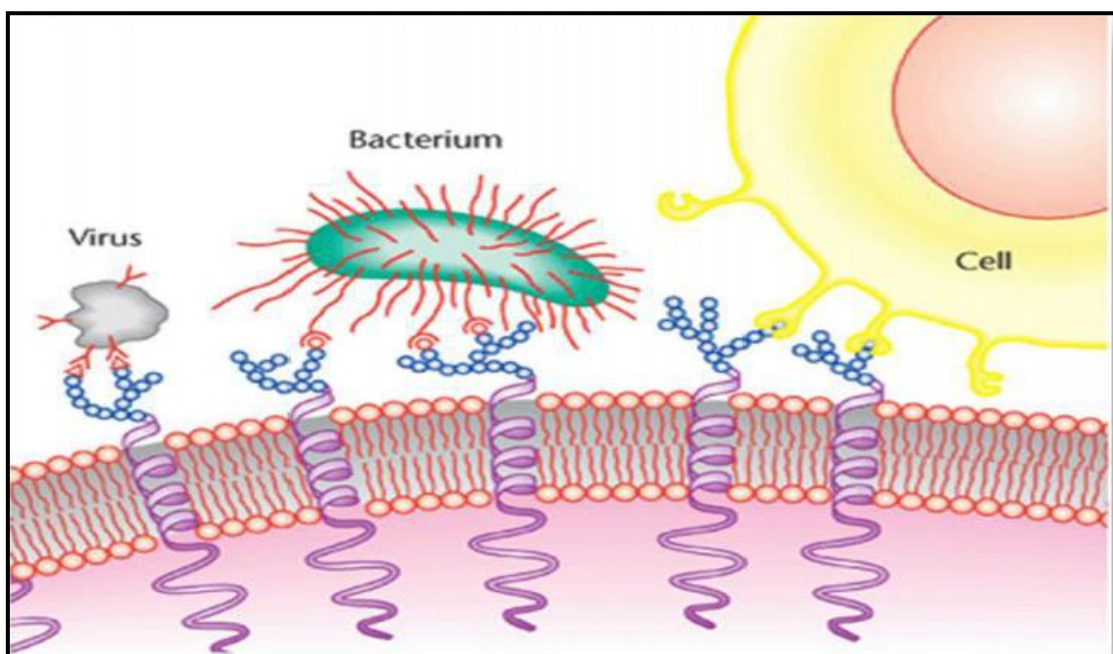
Les lectines de ce type sont fréquemment trouvées chez les bactéries, où elles forment des structures filamenteuses de 3 à 7 nm de diamètre et jusqu'à 100 nm de longueur, appelées fimbriae ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbrial est formée par la polymérisation d'une unité prédominante, qui ne joue qu'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) (Figure 03).



**Figure 03:** Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *Escherichia coli*

#### 4. 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 lectines-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 (**Gabius, 1985**).



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

#### 5. 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. (Dam and Brewer 2002).

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

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

## 6. La Classification des lectines

### 6.1. Chez les animaux

#### 6.1.1. 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**).

#### 6.1.2. 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**).

### 6.2. Chez les végétaux

#### 6.2.1. Les mérolectines

Les mérolectines sont de petits peptides, formés d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides, 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**).

#### 6.2.2. 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 Lectines de *Canavalia brasiliensis* ) (**Van Damme *et al.*, 1998**).

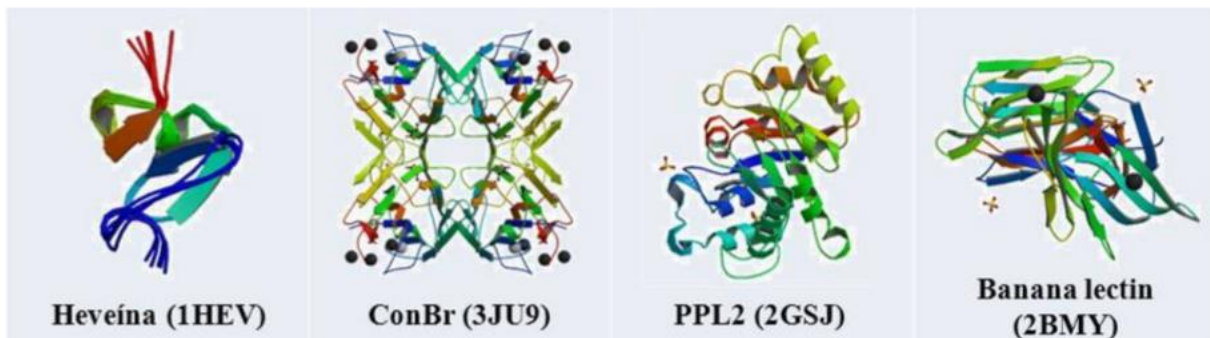
#### 6.2.3. Les chimérolectines

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 ribosomin activating proteine ; protéine inactivant les ribosomes comme la ricine) (Peumans *et Van Damme*, 1995).

#### 6.2.4. 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 structurellement et fonctionnellement (Van Damme *et al.*, 1998).



**Figure 05** : La classification structurale des lectines des plants (Van Damme *et al.*, 1998).

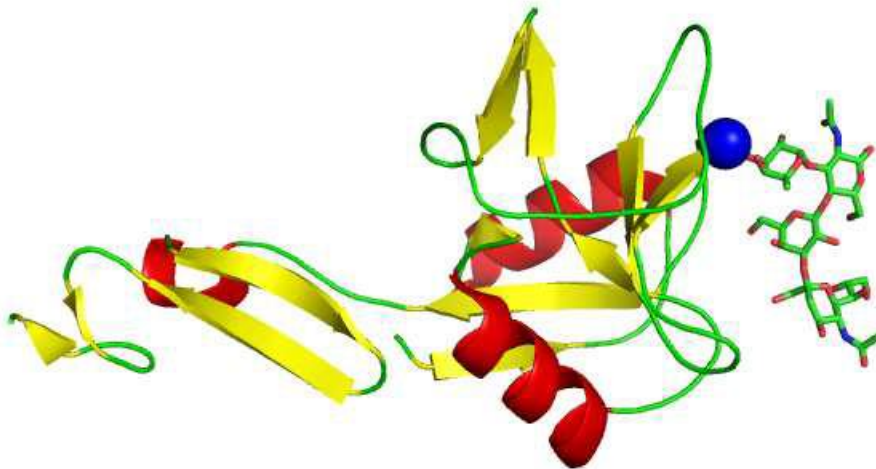
## 7. Distribution des lectines dans le monde de vivant

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 *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*, 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).

### 7.1. 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  $\beta$ -galactose et plus précisément pour le lactose ( $\beta$  Gal1-4Glc) et le Nacetyllactosamine ( $\beta$  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 Lectines du type C est la E-selectine en complexe avec le SialylLewisX (PDB 1G1T) (Somers, *et al.* 2000) (Figure 5).



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

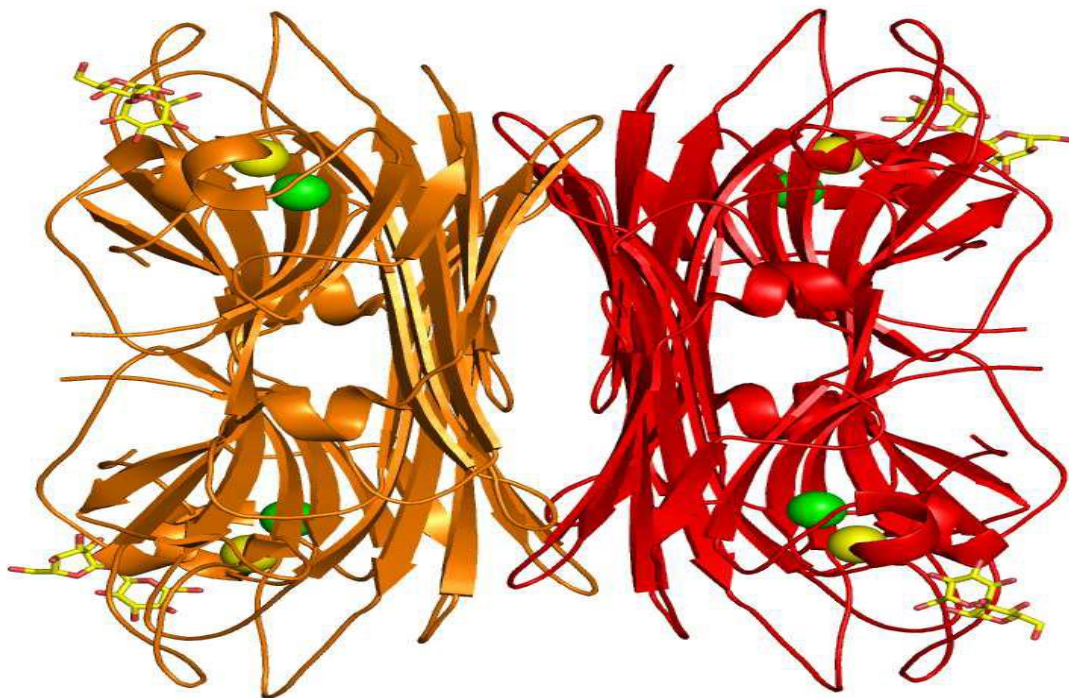
- Les *Siglecs*, ou lectines de type I, constituent une famille de lectines qui reconnaissent l'acide sialique (Crocker 2002).
- Les autres classes de lectines animales comprennent les lectines du *type P* qui sont formées par les lectines qui fixent le mannose-6-phosphate, comme la lectine bovine CDMPR (Roberts, *et al.* 1998). Les *pentraxines* qui sont une famille des lectines capables de se lier à des ligands de manière  $\text{Ca}^{2+}$  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 glycoconjugué de la surface de l'ovule interagit avec une lectine (spermadhésine) du spermatozoïde (Topfer-Petersen, *et al.* 1998)

## 7.2. Les lectines des plantes

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



**Figure 7 :** Tétramère de la protéine ConM de *Canavalia maritima* 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 *Galanthus nivalis* agglutinine (GNA) (Wright, C.S. and Hester 1996). La famille de Moraceae est formée par les lectines qui fixent le galactose telle que la jacaline isolée des graines de *Artocarpus integrifolia* (Sankarana rayanan, *et al.* 1996). La famille Amaranthaceae contient la lectine ACA de *Amaranthus caudatus* qui a été cristallisée avec le Gal $\beta$ 1-3GalNAc (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 and Raikhel 1991, Rudiger and Gabius 2001**).

### 7.3. 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 and Varrot 2008, Sharon 1996**). L'exemple le plus marquant de lectines 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 polymère hydrate qu'elles produisent, et donc forment un biofilm (**Imberty, 2011**). Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriales (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (**Imberty et al., 2005**). *Entamoeba histolytica* est un parasite entérique qui peut tuer les cellules hôtes via un mécanisme dépendant du contact. Cette assassinat implique la protéine de surface amibienne dénommée le Gal / Gal N-lectine se lie au galactose et au N-acétylgalactosamine 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 (**Sheet et al., 1998 ; Szeet et al., 2004**).

## 8. Fonction biologique des lectines

### 8.1. 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 (mitogénicité) 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).

### 8.2. 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'hémagglutination 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 (Gokeret *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).

## 9. Propriétés des lectine

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées :

### 9.1. 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 lectines (**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**).

### **9.2.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**).

### **9.3.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 (**Nachbaret Oppenheim, 1980 ;Falasca, 1989 ; Babosa, 2001**).

### **9.4.Effets mimétiques des hormones**

Les lectines des graines d'haricot rouge (*Phaseolusvulgaris*), 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**).

### **9.5.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**).

### 9.6.La propriété antivirale

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 *Narcissus tortifolius* (Lopez 2003).

### 9.7.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 humaines de type L (LTLs), elles ont la capacité d'agglutiner les bactéries par une manière calcium dépendante ou par leur opsonisation en fixant sur les glycoconjugués de ces micro-organismes (Zhang et al., 2012 ; Huang et al., 2014 ; Xu et al., 2014)

### 9.8.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 à partir des cellules basophiles et des mastocytes (Gomes 1994), les effets pro et anti inflammatoires (Assreuy 1997), l'induction de l'apoptose (Kulkarni 1998).

## 10.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 and Sharon 1998). Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédical et dans le domaine agronomique.

**10.1. 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 une enzyme, immuno-blotting, immuno-précipitation...). Les glycoprotéines éventuellement après clivage enzymatique, peuvent ainsi être caractérisées quantitativement (structure des complexes et interaction). **(DOLE.A. et LINDEBERG . S. ,2005)**

**10.2. Dans le domaine biomédical****10.2.1. Hématologie**

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

**10.2.2. Immunologie**

De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent être 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 immunothérapeutiques **(Jaffe, 1980)**.

**10.2.3. 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)**.

**10.2.4. Cancérologie**

Certaines lectines purifiées à partir d'invertébrés terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histochimiques puisque certaines maladies telles que le cancer sont associées à une modification des glycanes présents sur les cellules **(Guillot, coll. 2004)**. Kenoth et al (2001)



rappellent qu'en raison de leur agglutination préférentielle aux cellules cancéreuses, les lectines sont suggérées comme transporteuses pour diriger drogues et produits pharmaceutiques vers les cellules cancéreuses.

### **10.3. Dans le domaine agronomique**

Les lectines peuvent être réutilisées 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**).

## **11. 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 stimulés 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 initiée 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 binding lectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la voie lectines du complément qui joue un rôle dans l'immunité innée (**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 phagocytes. La première étape consiste en l'adhésion des microorganismes à la membrane des phagocytes 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  $\beta$ -glucane (**Guénard et al., 2001**).

# Chapitre II

## Systeme sanguin



## Chapitre II : le système sanguin

### 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 découvrit 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**).

### 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**).

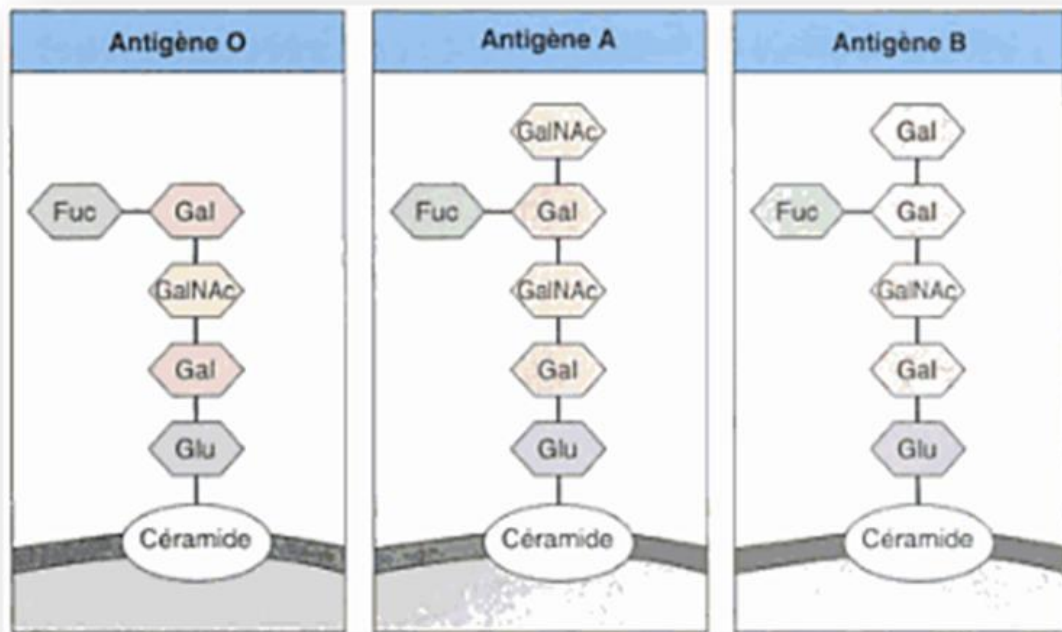
- ✚ groupe O (antigène A et antigène B absents et anticorps anti A et anti B présents): 43% de la population française.
- ✚ groupe B (antigène B présent et anticorps anti A présent). 11% de la population française.
- ✚ groupe A (antigène A présent et anticorps anti B présent) 42% de la population française.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

### 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**).

#### 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 alloanticorps ne sont pas produits contre le groupe O (Parham, 2000) (figure 6)



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

La détermination des groupes sanguins ABO se fait à l'aide de deux épreuves : L'épreuve globulaire dite de Beth-Vincent (consiste à détecter les antigènes présents sur les globules rouges du patient grâce à des anticorps de spécificité connue = sérum test) et l'épreuve sérique dite de Simonin (consiste à détecter les anticorps naturels présents dans le plasma grâce à des globules rouges de groupe connu (globules tests). La détermination du

groupe sanguin ABO d'un patient est systématiquement associée à la recherche de l'antigène D (Béziat *et al.*, 1996). (Tableau 05).

**Tableau 04:** Les Lectines spécifiques des groupes sanguins.

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

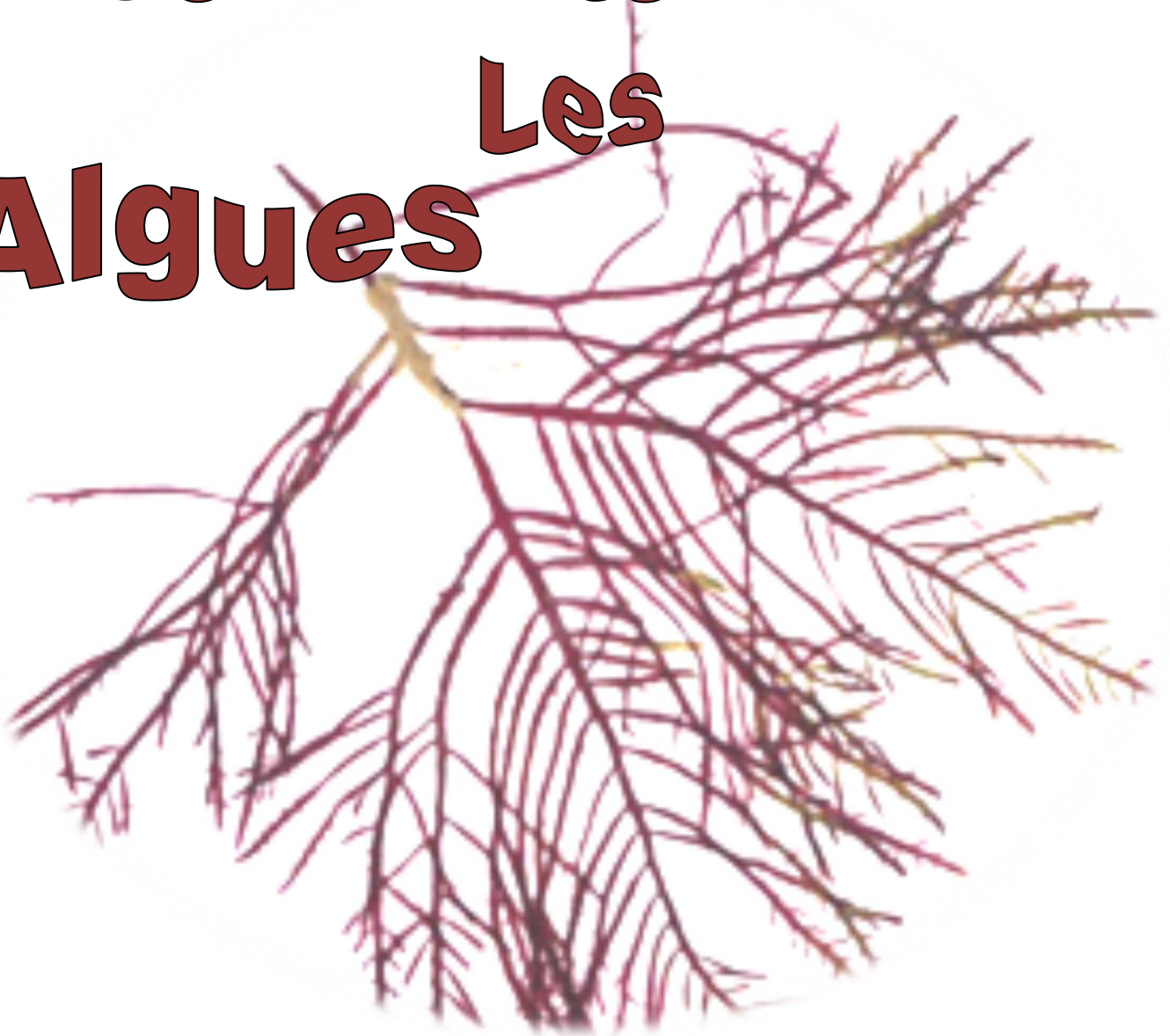


# Chapitre II

## Généralités sur

Les

# Algues





## Chapitre III : Généralités sur les algues

### 1. Généralités sur les algues

Les végétaux que l'on groupe sous la dénomination d'algues forment un ensemble d'organismes très divers, de structure et de taille variées. Certaines algues unicellulaires ne dépassent pas 2-3  $\mu\text{m}$  de diamètre alors que d'autres, comme les laminariales du genre *Macrocystis*, peuvent atteindre et même dépasser 50 m de long (**Ozenda, 1990**). Le nombre d'espèces algales a été évalué entre un et dix millions et la plupart d'entre elles sont des microalgues (**Evangelista, 2008**). Les algues se distinguent des autres végétaux par leur thalle et appareil végétatif uni- ou pluricellulaire, dépourvus de racines, de tiges et de feuilles. Or, les cellules des algues possèdent les mêmes éléments de structure que celles des plantes supérieures (**GaronLardiere, 2004**). Les algues peuvent néanmoins être classées en une dizaine d'embranchements selon des critères basés sur leurs compositions pigmentaires, leurs polysaccharides de réserve ou leurs caractéristiques structurales (**Ruiz, 2005**). C'est ainsi, suivant la pigmentation, les algues sont classées en quatre grands groupes: les algues rouges (Rhodophytes), les algues brunes (Phéophytes), les algues vertes (Chlorophytes) et les algues bleues (Cyanobactéries).

### 2. Les grands groupes des algues marines

En général, les algues regroupent quatre groupes qui sont différenciées par rapport à la couleur, Chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces (**Garon-Lardiere, 2004**).

#### 2.1. Les algues vertes (Chlorophycées)

Elles sont de formes très variées, uni-ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures, la plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre. Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (**Garon-Lardiere, 2004**).

### **2.2. Les algues brunes (Phéophycées)**

La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines (**Garon-Lardiere, 2004**).

### **2.3. Les algues rouges (Rhodophycées)**

Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques unes vivent également en eau douce. Les algues rouges sont divisées en deux groupes: celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (**Garon-Lardiere, 2004**).

### **2.4. Les Cyanobactéries**

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées des colonies de taille, de forme et de couleur très variable. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrines) qui masquent la chlorophylle a. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent (**Garon-Lardiere, 2004**).

### 3. *Ulva lactuca*

#### 3.1. Description

L'ulve ou laitue de mer est une algue marine verte à thalle foliacé constitué d'une lame ordinairement de quelques centimètres, vivant fixée sur les rochers marins à faible profondeur, formé de nombreux rhizoïdes issus des cellules basales.

La lame thalline est formée de deux assises de cellules (**Ozenda, 1990**).



**Figure09** : représente l'algue verte *Ulva lactuca*

#### 3.2. Classification (Linnaeus, 1753)

*Embranchement* : chlorophytes

*Classe* : ulvophyceae

*Sous classe* : ulothricophycidées

*Ordre* : ulvales

*Famille* : ulvacées

*Genre* : *Ulva*

*Espèce* : *Ulva lactuca*

### 4. *Gelidium sesquipedale*

#### 4.1. Description

*Gelidium sesquipedale* est une algue rouge appartenant à l'ordre des Géliidiales et la famille des Géliidiacées. Elle est une source d'agar-agar, polysaccharide de plus en plus demandé sur le marché international, notamment pour les supports de culture gélosés (**Ouhssine et al., 2006**). Lamouroux a choisi le nom *Gelidium* pour décrire ce genre car la plupart des espèces qui le composent peuvent être réduites, par ébullition et macération, en

une substance gélatineuse. Le thalle de *Gelidium sesquipedale*, rouge à rouge brun, a un aspect robuste et une consistance cartilagineuse. Il est constitué de frondes de taille variant entre 10 à 40 cm, elles sont regroupées en touffes, s'élevant à partir de filaments rampants (stolons ou rhizoïdes) qui assurent la fixation de l'algue au substrat. La fronde est constituée d'un ensemble d'axes principaux à croissance illimitée, porteurs de ramifications latérales à croissance limitée, ce qui donne au thalle une forme pyramidale. La largeur des axes varie de 0,2 à 0,5 mm (Mouradi et al., 2006).



**Figure10** : représente l' algue rouge *Gelidium sesquipedale*

## 4.2. Classification (Clement (Thuret),1876)

*Embranchement* : Rhodophyta

*Classe* : Florideophyceae

*Sous classe* : Rhodymeniophycidae

*Ordre* : Gelidiales

*Famille* : Gelidiaceae

*Genre* : *Gelidium*

*Espèce* : *Gelidium sesquipedale*

## 5. *Corallina elongata*

### 5.1. Description

*Corallina elongata* est une algue appartenant à la famille Corallinaceae (Rhodophyta). Cette espèce est largement répandue, au long de la Méditerranée (Babbini et Bressan 1997) et de l'Atlantique (Araujo et al. 2009). *Corallina elongata* « corail » et « allongé » est une petite algue rouge, dont le thalle est le plus souvent gris-violacé et blanchi par la lumière,

dressé sur un disque basal comprimé de (4 à 5cmde haut) qui est fortement incrusté de calcaire, ramifié avec des formes et des couleurs variables. Espèce vivace, fertile en été et qui vit plusieurs années (Brodie et al, 2013)



**Figure11** : représente l'algue rouge *Corallina elongata*

## **5.2. Classification (J.Ellis & Solander, 1786)**

**Embranchement:** Rhodophytes

**Classe:** Rhodophycées

**Sous-classe:** Floridéophycées

**Ordre:** Corallinales

**Famille:** Corallinacées

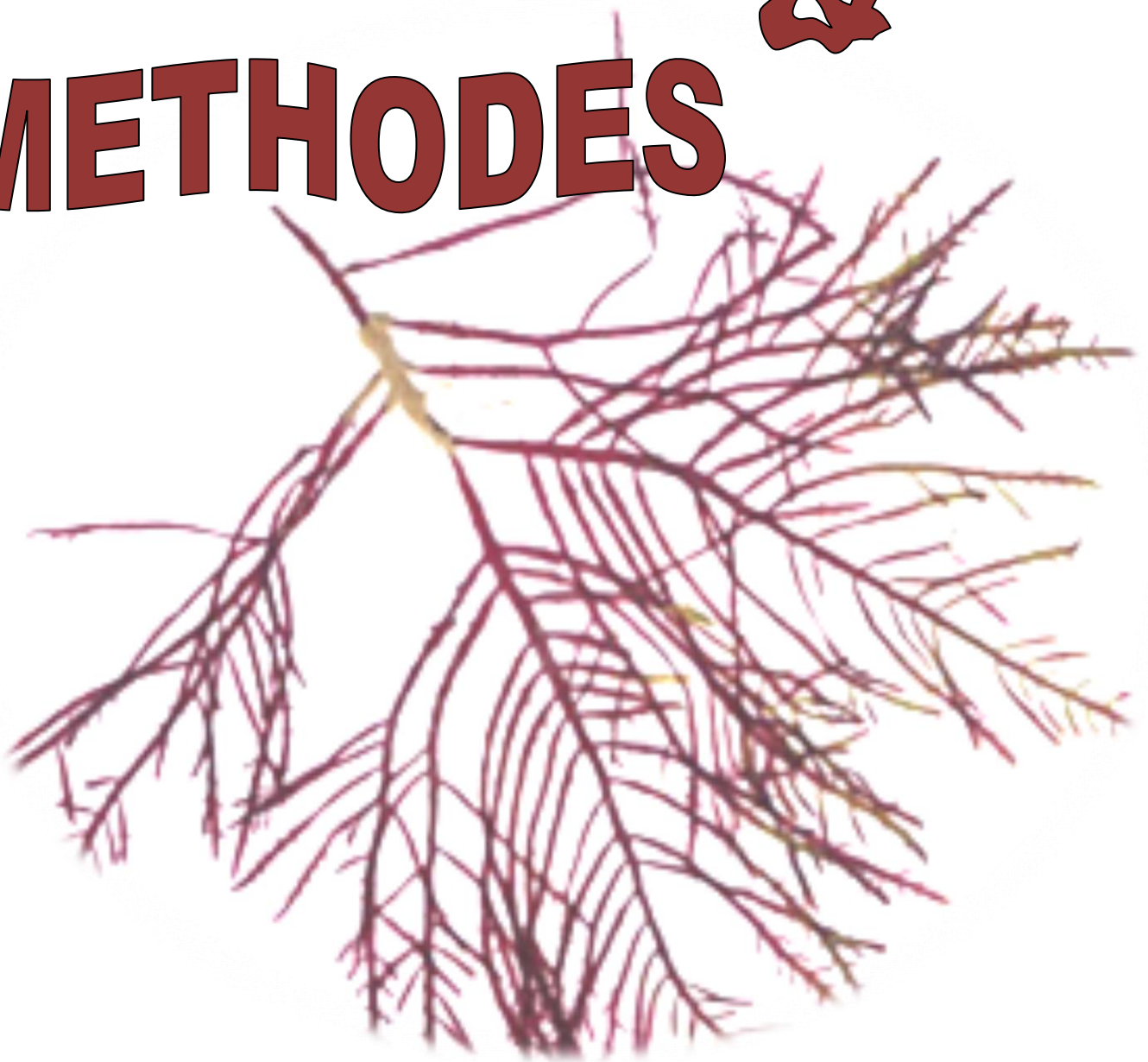
**Genre:** Corallina

**Espèce:** *Corallina elongata*

**MATERIELS**

**&**

**METHODES**





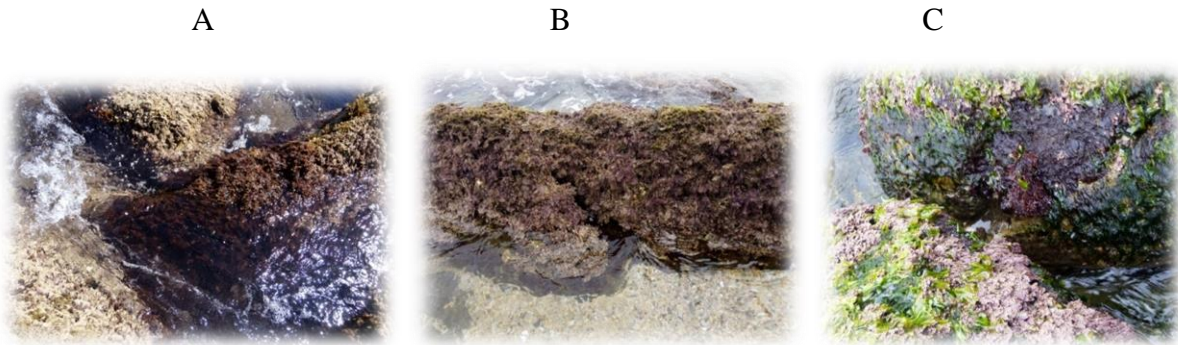
### Matériels et Méthodes

#### 1. Le matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur trois algues :

- *Gelidium sesquipedale*
- *Corallina elongata*
- *Ulva lactuca*

Les algues marines ont été récoltées durant le mois de février 2017. Cette récolte a été effectuée au niveau de la côte rocheuse de la plage militaire à Stora située sur le littoral de la ville de Skikda.



**Photo1** : représente la zone (skikda) d'échantillonnage de (A)*Gelidium sesquipedale* ;(B) *Corallina elongata* ;(C) d' *Ulva Lactuca*

#### 2. Les méthodes

##### 2.1.La Préparation des algues

Les algues sont prélevées à la main et conservées dans des bouteilles en plastique, remplies d'eau de mer. Une fois au laboratoire, un tri est effectué pour éliminer les débris, les petits coquillages et les autres espèces d'algues.

Les échantillons sont alors séchés à l'air libre, à l'abri de la lumière durant 7 jours, Après séchage, les échantillons sont broyés dans un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre et conservés à l'abri de l'humidité jusqu'à utilisation.

- **L'Extraction des algues**

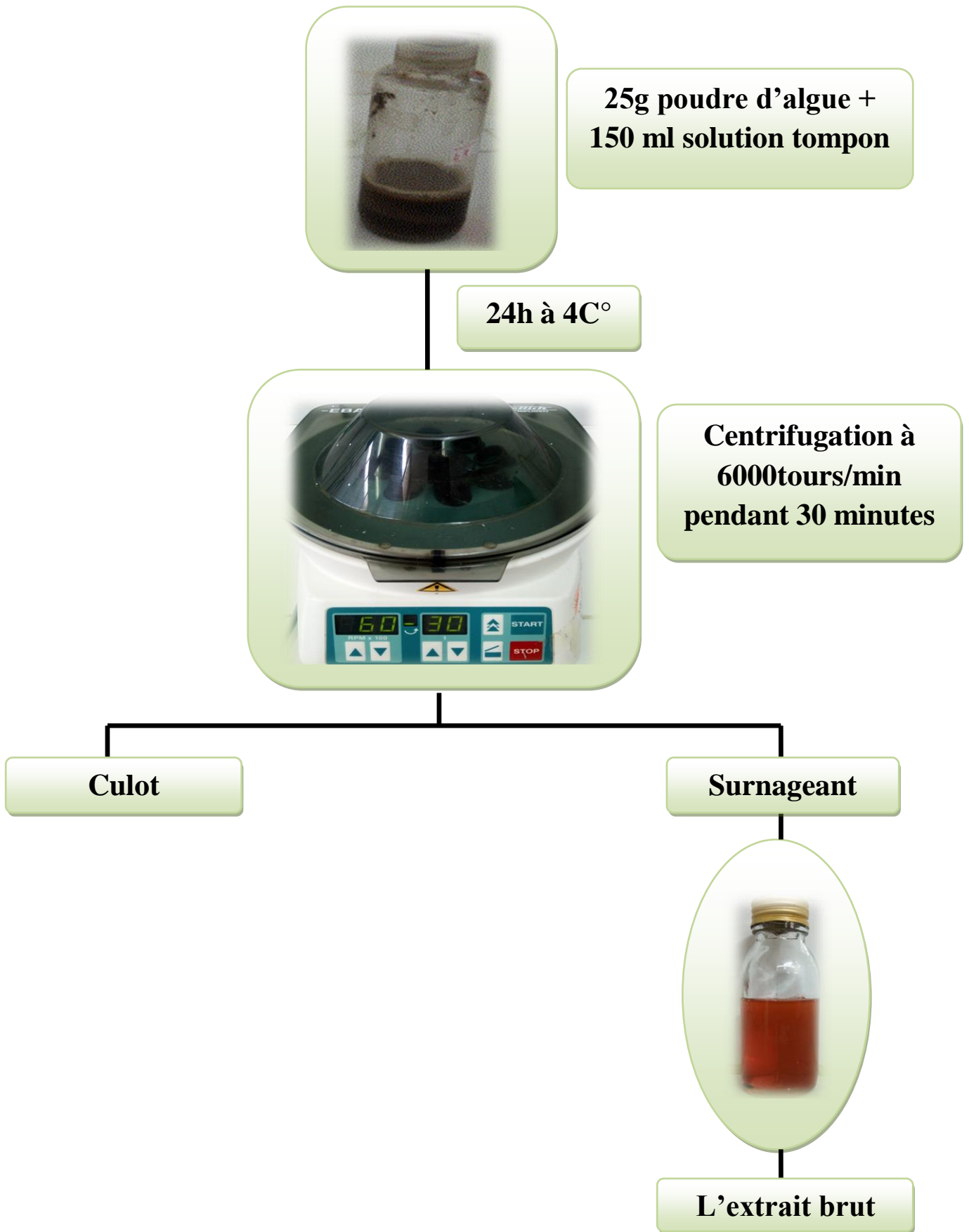
- **Le Principe**

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

- **La Technique d'extraction**

25g de poudre obtenue à partir de notre échantillon a été mise dans un flacon contenant 150 ml solution tampon PBS (0.1M pH 7.4) (**Annexe 1**) l'ensemble est agité, et laissé pendant 24h, après la centrifugation de la suspension à 6000 tr /min pendant 30 min le surnageant est récupéré et conservé pour la réalisation des tests souhaités.(**figure12**)

## Matériels et méthodes



**Figure 12** : Technique d'extraction des lectines à partir de la poudre de *Gelidium sesquipedale*

### 2.2 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

- **La Préparation des hématies à 3%**

Le sang humain est collecté à partir de laboratoire d'analyse IBN SINA et le centre de diagnostic EL HOUCEINI, le sang du lapin est collecté à partir des 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.

- **Lavage des hématies**

Le tube contenant une quantité 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 jusque l'obtention d'un surnageant claire.

- **La dilution des hématies**

Après avoir terminé le lavage le culot contenant les globule 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 hmaties à 3%.

- **La technique d'hémagglutination**

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

### 2.3 La limite d'hémagglutination

Dans chaque puits, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés suivis de 50 µl de l'extrait brute qui lui, est placé 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 hémties du lapin ont été ajoutés dans tous les puits. L'observation de l'activité

## Matériels et méthodes

---

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

### 2.4 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 90°C) dans un bain marie durant 1h de temps. Après le temps requis, l'extrait brute chauffé a été refroidi à température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été effectué.

### 2.5 L'effet du pH sur l'hémagglutination

Dans 12 tubes à essai une petite quantité de poudre de notre algues 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.

### 2.6 Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides et des glycoprotéines

Dans chaque puits d'une microplaque 50 µl de l'extrait a été déposé, tout en ajoutant 50 µl de solution de saccharides ou de glycoprotéine (0,1g/1ml de NaCl 0,9%)(Annexe 2,3) (Fructose, Glucose, Mannitol, Galactose, Lactose, D.Manose, Cellulose, Mélibiose, inositol, inoline, Raffinose, Glucosamine HCL, Glucnac, Mucine, Ovalbumine, BSA, Caséine). Le mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante, cela permettre au lectine de reconnaître le sucre, 50 µl des hématies du lapin à 3% ont été rajoutées. après une heure la lecture a été faite à l'œil nu.

### 2.7 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 a lieu l'inhibition de l'agglutination est mesurée. Dans chaque puits d'une microplaque, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés, puis 50 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, 50 µl 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.

### 2.8 Le Test des métaux (oligoéléments)

Premièrement, l'EDTA est ajouté à l'extrait *des algues* (1V-1V respectivement) . Après 1h, 50 µl de notre composé ont été déposés dans un puits tout en ajoutant 50 µl de l'un des métaux (MgCl<sub>2</sub> , CaCl<sub>2</sub> , MnCl<sub>2</sub> , FeCl<sub>2</sub> ) (**annexe 3**).enfin 50 µl de sang de lapin sont ajoutés au mélange, la lecture a été faite à l'œil nu après 1h d'incubation .

### 2.9 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 plantes ont 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.

### 2.10 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 ont 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. Le surnageant de l'extrait brute de notre algues 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 récupérés 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.



**RESULTATS**

**&**

**DISCUSSION**



### Résultats et Discussions

#### 1. Le test d'hémagglutination

Les résultats d'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de notre algue sont présentés dans le tableau au-dessous.

**Tableau 05 :** L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut des échantillons testés

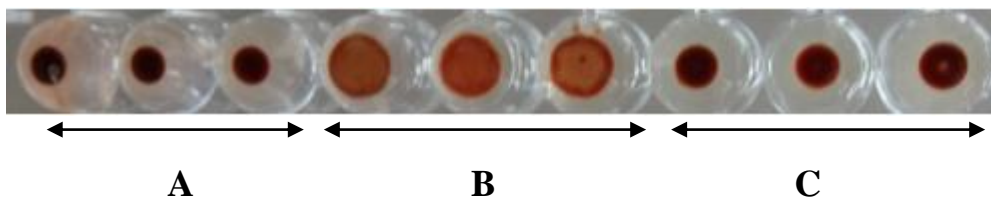
Algues	Test d'agglutination
<i>Gelidium sesquipedale</i>	++
<i>Corallina elongata</i>	-
<i>Ulva lactuca</i>	-

- : Absence d'agglutination.

++ : Forte agglutination.

Une très forte agglutination est observée dans le cas de l'extrait brut de *Gelidium sesquipedale* vis-à-vis les hématies du lapin, ce qui prouve que notre algue *gelidium sesquipedale* contient des lectines. C'est Résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des racines des plantes de *Moringa G* et *Moringa M* et qui ont montré également de très fortes agglutinations lors de l'addition de la suspension d'érythrocytes de lapin (Necib *et al*, 2014) par contre d'autres espèces n'ont pas cette activité tel que *Sinapis alba* et *Brassica fruticulosa* (Deekshaet *al*. 2015).

par contre l'extrait des autres algues *Corallina elongata* et *Ulva lactuca* montrent une absence d'agglutination .Cette agglutination est observée à l'œil nu .



**Photo 02:** Test d'hémagglutination de la lectine extraite de *Corallina elongata* (A), *Gelidium sesquipedale* (B), *Ulva lactuca* (C)

#### 2. La limite d'hémagglutination

La limite d'hémagglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination. Le tableau et les figures suivants ont montré les résultats obtenus lors du test de limite d'hémagglutination.

## Résultats et discussions

**Tableau 06** : L'Activité de la limite d'hémagglutination de *Gelidium sesquipedale*

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												
<i>Gelidium sesquipedale</i>	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-

++ : Forte agglutination

+ : Faible agglutination

- : Absence d'agglutination



**Photo 03** : test de la limite d'hémagglutination *Gelidium sesquipedale*

Dans le but d'évaluer l'activité hémagglutinante de l'extrait *Gelidium sesquipedale* nous avons réalisé le test de limite d'hémagglutination. Nos résultats ont montrées que l'activité hémagglutinante de l'extrait *Gelidium sesquipedale* a été de 1 :4 (16 UH. ml<sup>-1</sup>) ce résultat est similaire à *Terfezia bouderei* dont la concentration a été (128 UH. ml<sup>-1</sup>) (Zitouni *et al.*, 2014).

### 3. L'effet de la température sur l'hémagglutination

Les résultats obtenus après l'exposition de nos extraits à différent température sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 07** : L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait *Gelidium sesquipedale*

Température	40°C	60°C
Extrait		
<i>Gelidium sesquipedale</i>	-	-

- : Absence d'agglutination

## Résultats et discussions



**Photo 04** : l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait *Gelidium sesquipedale*

En incubant nos extraits à température 40 présentent une absence de résistance, sont dénaturées dans des températures plus faible donc il ne nécessite pas l'achèvement de l'incubation, par contre les lectines extraites à partir de l'algue rouge *Pterocladia capillacea* qui pousse jusqu'à 100°C (Necib *et al.*, 2015).

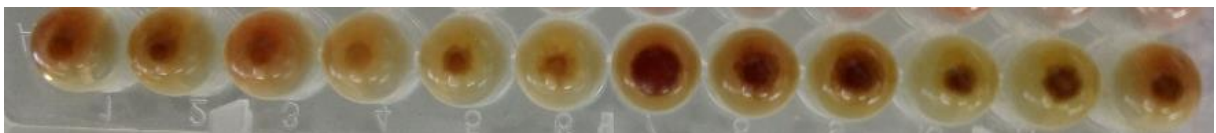
### 4. L'effet du pH sur l'hémagglutination

**Tableau 08** : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait *Gelidium sesquipedale*

Ph \ Extrait	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Gelidium sesquipedale</i>	+	+	+	+	+	+	++	++	++	+	+	+

++ : Forte agglutination

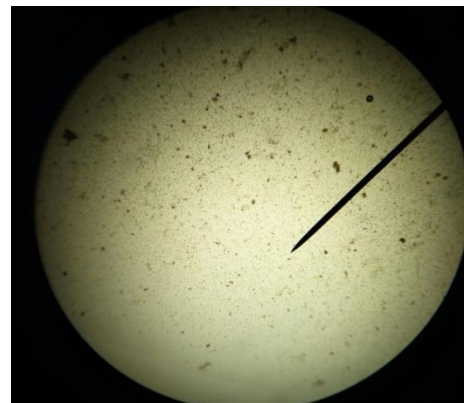
+ : Faible agglutination



**Photo 05** : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait *Gelidium sesquipedale*



Observation microscopique à PH 1 (G x40)



Observation microscopique à PH 12 (G x40)

**Photo 06** : observation microscopique d'agglutination a Ph1 et Ph12

## Résultats et discussions

L'activité d'héماغglutination des lectines *Gelidium sesquipedale* reste stable dans toute la gamme de pH testée de 1 à 12. Par contre les lectines de *Ruta graveolens* perdent l'activité à pH de 1 à 3 (Necib *et al.*, 2015).

### 5. Le test d'inhibition d'héماغglutination par des saccharides et glycoprotéines

Pour déterminer la spécificité de nos extraits vers une structure glucidique particulière, on a réalisé un test d'inhibition de l'héماغglutination par des saccharides. Sur le plan qualitatif ce test a permis d'évaluer la spécificité de ces lectines aux glucides et aussi pour identifier le saccharide qu'on peut utiliser pour son purification.

**Tableau 09 :** Inhibition de l'activité d'héماغglutination par des sucres simples

Sucre \ Extrait	<i>Gelidium sesquipedale</i>
Fructose	-
Glucose	-
Mannitol	-
Galactose	-
Lactose	-
Glucosamine	-
D.Manose	-
Cellulose	-
Mélibiose	-
Inoline	-
Inositol	-
Raffinose	-
Glucnac	-
Mucine	-

+ : inhibition, - : pas d'inhibition.

Les extraits *Gelidium sesquipedale* ne présentent aucune spécificité pour les saccharides testés, ce qui résulte par la suite leur agglutination aux hématies. C'est le cas des lectines purifiées à partir des graines de *Phaseolus acutifolius* (Valadez *et al.*, 2011). Par contre *Astragalus mongholicus* présente une spécificité pour le D-galactose et le lactose (Lam *et Ng*, 2011).

## Résultats et discussions

**Tableau10** : Inhibition de l'activité d'hémagglutination par les glycoprotéines

Extrait Glycoprotéine	<i>Gelidium sesquipedale</i>
BSA	-
Casiene	+
Ovalbumine	+

+ : inhibition, - : pas d'inhibition.



**Photo 07** : Inhibition de l'activité d'hémagglutination par les glycoprotéines

L'extrait de *Gelidium sesquipedale* montré une inhibition avec les glycoprotéine ovalbumine et caséine, par contre les résultats a été obtenu avec les lectines extraite à partir de *Morus nigra* et montré une inhibition avec les glycoprotéine : fétuine et caséine (Necib *et al.*, 2015) .

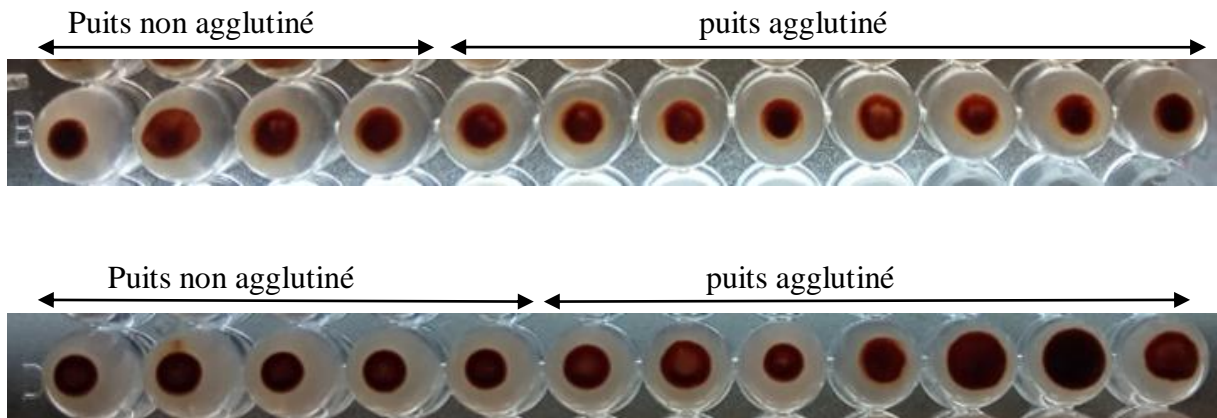
### 6. Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination par les Glycoprotéines

**Tableau 11** : Les concentrations minimales en caséine, ovalbumine provoquant l'inhibition D'hémagglutination d'extrait *Gelidium sesquipedale*

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/182	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
Glycoprotéines												
Casiene	-	-	-	-	+	+	+	++	++	++	++	++
Ovalbumine	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++	++	++



## Résultats et discussions



**Photo 08** : Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination par caséine(B) ovalbumine(D)

La concentration minimale de caséine capable d'inhiber l'activité hémagglutinante de l'extrait de *gelidium sesquipedale* a été respectivement 0.0031g/ml au niveau du 5eme puits en utilisant une concentration initial de 0 ,1 g/ml ; alors que l'ovalbumine prouve une concentration de au niveau du 6eme ce qui prouve que la caséine et l'ovalbumine des faibles inhibiteurs.

## Résultats et discussions

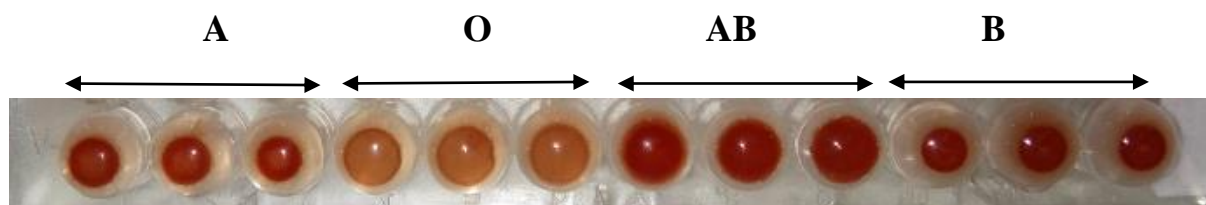
### 7. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

**Tableau 12 :** L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brute *Gelidium sesquipedale*

Groupe sanguin \ Extrait	A	B	O	AB
<i>Gelidium sesquipedale</i>	+	+	++	++

++ : Forte agglutination

+ : Faible agglutination



**Photo 09 :** L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brute *Gelidium sesquipedale*

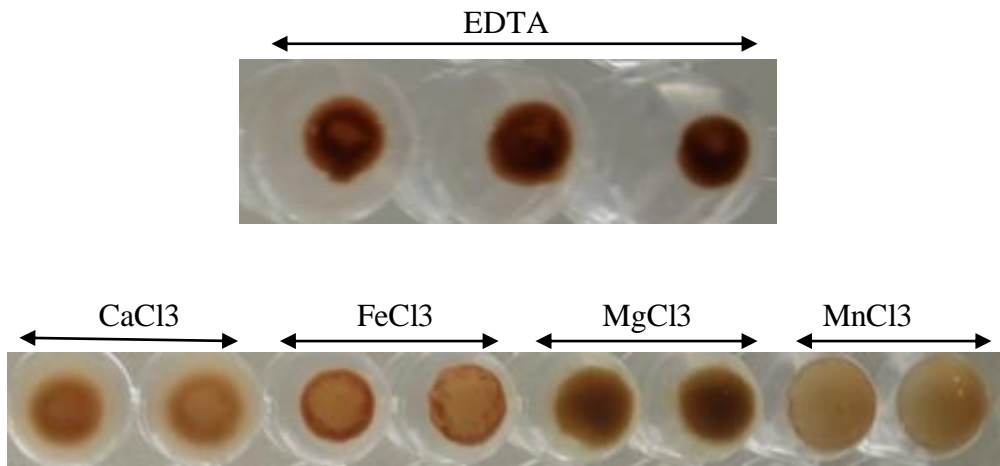
L'extrait de *Gelidium* Agglutinent avec tous les types de groupe sanguins humains, Ce résultat est en accord avec les études réalisées sur *Geotrupes stercorarius* et sur *Diplotaxis assurgens* et *Raphanus sativus* qui ont la même propriété (Devi *et al.*, 2014 ; Deeksha *et al.*, 2015). Alors nous pouvons classer les lectines de *Gelidium* dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains, qui sont généralement désignées comme non spécifique.

### 8. Le Test des métaux (oligoéléments)

**Tableau 13 :** Résultats du test des métaux avec *Gelidium sesquipedale*

Métaux \ Extrait	EDTA	CaCl <sub>3</sub>	FeCl <sub>3</sub>	MgCl <sub>3</sub>	MnCl <sub>3</sub>
<i>Gelidium sesquipedale</i>	++	++	++	++	++

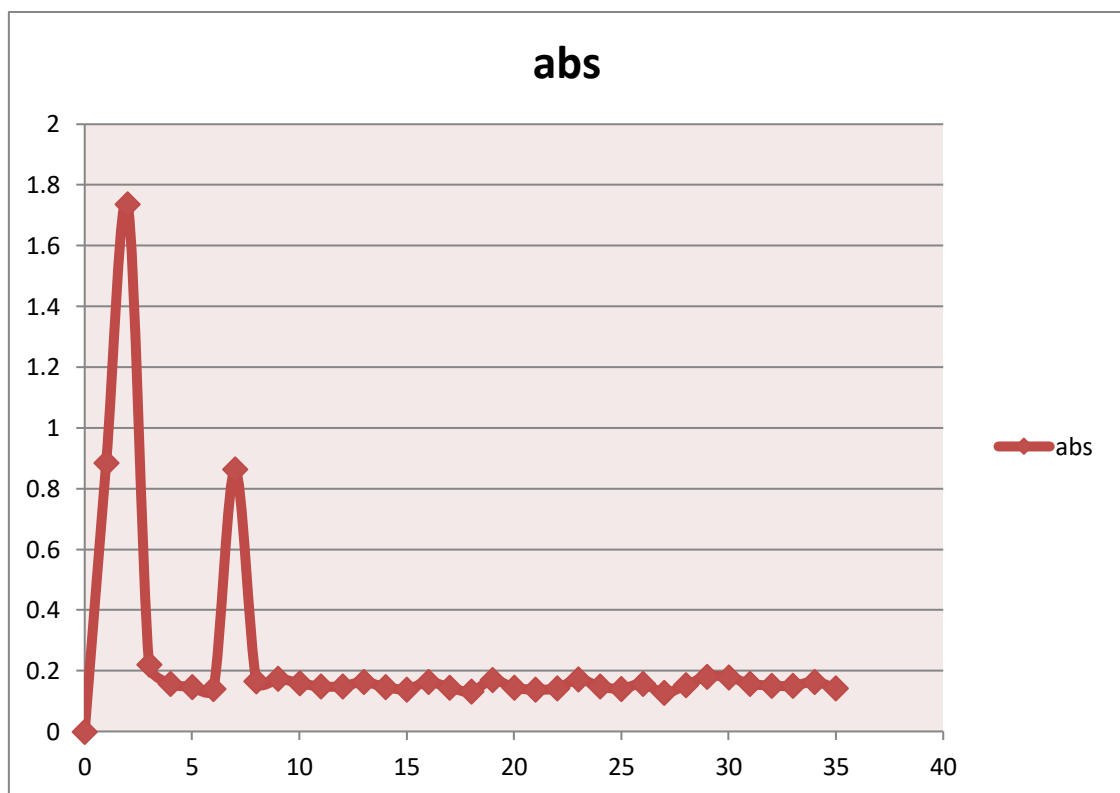
## Résultats et discussions



**Photo 10:** Résultats du test des métaux avec *Gelidium sesquipedale*

Avec l'EDTA on observe une agglutination avec l'extrait de *Gelidium sesquipedale* montre une agglutination avec tout les métaux Ce résultat montre que notre lectine est une non métallopeptéine et ressemble a red alga *Pterocladia Capillacea* (Necib *et al*, 2014).

### 9. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de Sephadex G75



**Figure 13 :** La filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G75 de l'extrait *Gelidium sesquipedale*

## Résultats et discussions

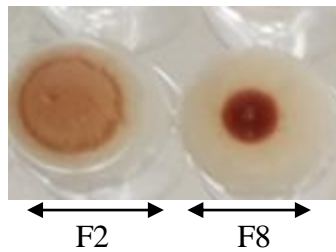
---

Eluant : PBS (pH7, 4).

Absorbance à 280 nm.

Volume de la fraction : 5 ml.

Les résultats de séparation en utilisant le séphadex G 75 ont montrées un bon fractionnement des extraits (pics séparées), dont *Gelidium* a donner 2 pics. Afin de confirmer la présence des lectines au niveau de ces deux tubes, un test d'hémagglutination a été effectué avec les hématies de lapin, Les résultats obtenus par la suite ont réellement confirmé la présence de lectines avec une forte hémagglutination dans le tube (2) et une faible hémagglutination dans le tube (8) (**photo 11**). Ces résultats ont en accord avec celle des lectines de *Ruta Graveolens* fractionné sur gel sephadex G75 (*Necib et al ., 2015*) ; par contre les résultats et différents avec les lectines de *Cyperus Rotundus* et *Pistacia Lentiscus* en marquer un seul pic (*Necib et al. 2015*).



**Photo 11** : Le test d'hémagglutination des fractions

# CONCLUSION & PERSPECTIVES



### Conclusion et perspectives

Ces dernières années, de nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, qui sont considérés comme de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit. A l'issue de ce travail, une étude d'extraction de nouvelles lectines des espèces *Gelidium sesquipedale* a été réalisée. La recherche des lectines à partir de notre algue a conduit à une activité d'hémagglutination.

- L'extrait *Gelidium sesquipedale* ne montrent aucune spécificité pour les hématies des groupes sanguins du système ABO.
- Le test d'inhibition d'hémagglutination révèle qu'il y a une affinité différente chez les glycoprotéines, les lectines *Gelidium sesquipedale* sont inhibés par la caséine et ovalbumine, cette affinité de la lectine pour cette glycoprotéine peut être utilisée pour sa purification.
- Nos résultats indiquent que les lectines *Gelidium sesquipedale* sont pas thermorésistants et faible résistant.
- les lectines *Gelidium sesquipedale* présentent une agglutination avec les quatre métaux testée ( $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ).
- la chromatographie sur sephadex G75 a donné deux pic pour *Gelidium sesquipedale*.

Les perspectives de notre travail sont nombreuses et variées, et la poursuite des recherches sur ces lectines implique au préalable l'utilisation de techniques et méthodes capables de fournir une très bonne purification et caractérisation de ces glycoprotéines. Tous ces paramètres pourraient mieux nous orienter pour l'évaluation du potentiel biologique et thérapeutique de ces lectines. Les résultats obtenus encourageant la poursuivre des études par :

- Des tests de l'activité antimicrobienne, l'activité antivirale, l'activité anticancéreuse et l'activité immunomodulatrices.
- La purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC.
- La détermination des poids moléculaire des lectines par électrophorèse et leur séquençage.



**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**



### Références bibliographiques

**A**lencar NM, CavalcanteCF, Vasconcelos MP, Leite KB, Aragao KS, Assreuy AM,

Nogueira NA, Cavada BS and Vale MR. (2005). Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpussericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J PharmPharmacol.*(57) , 919-922.

Aragao K S. (2009). études structure-fonction de lectine (Disc I et Disc II) de *Disctyosteliumdiscoideum*. *Biomolécules*. Université Joseph-Fourier-Grenoble I. France. P:17-27.

Araujo R, Bárbara I, Tibaldo M, Bercibar E, Tapia PD, Pereira R, Santos R, Pinto IS (2009). Checklist of benthic marine algae and cyanobacteria of northern Portugal. *Bot Mar.* 52. 24-46.

AssreuyAMS (1997)Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectinsisolated from Brazilian beans. *Mediators of inflammation* 6, 201-210.

Ayméric J-L, Lefranc G. (2009). *Immunologie Humaine*. De Boeck&Laccier S.A.Paris.24.

**B**abbini L, Bressan G (1997). Recensement de Corallinacées de la Mer Méditerranée et

considérations phytogéographiques. *Bibliot Phycol.* 103. 1-421.

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

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

Béziat D, Courbil R, Faure C, Meudec J-M. (1996) .La thérapeutique transfusionnelle comprendre pour réussir. *HEURES DE FRANCE* , 226.

Boettner DR, Huston C, Petri JR, William A. (2002). Galactose/ Nacétylgalactosaminelectin : the coordinator of host cell killing. *J. Biosci*27 , 553-557.

## Références bibliographiques

---

**Bothan MB, Weil K R. (2011).** Biochimie de harper. 4ème édition. DE BOECK ,510.

**Bouchara J-P ,Trouchin G. (2003)** .Lectines fongiques et adhérence In Les Mycoses.ELSEVIER.Paris,167.

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

**Boyd WC, Shapleigh E. (1945)** .Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins).Science 119 .4193 Sumner J. B. (1919) The globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis*. J. Biol. Chem. 37, 137-142.

**Boyd WC and Shapleigh E .(1954).** Specific precipitation activity of plant agglutinins(lectins). Science.119, 419.

**Brodie J, Walker RH, Williamson C, Irvine LM. (2013).** Epitypification and redescription of *Corallina officinalis* L., the type of the genus, and *C. elongata* Ellis et Solander (Corallinales, Rhodophyta)Cryptogam Algal. 34:49–56. doi: 10.7872/crya.v34.iss1.2013.49.

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

**Cavaillon J-M. (2005)** .Médiateurs de l'inflammation In Vincent J-L .Martin C. Sepsissévère et choc septique. SPINGER-VERLAGE. France.23.

**Chabrol E, Fieschi F, Girard E. (2012)** .caractérisation structurale et fonctionnelle d'unelectines de type C des cellules de langerhans : la langérine. Chimie et sciences du vivant. Université de grenoble. p 63-64.

**Chrispeels MJ and Raikhel NV. (1991)** .Lectins, lectin genes, and their role in plant defense. Plant Cell. 3. 1-9.

**Crocker, PR. (2002)** .Siglecs: sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in cell-cellinteractions and signalling. Curr. Opin. Struct. Biol. 12. 609-615.

**Cummings R D. (1997).** Lectins as tools for glycoconjugate purification and characterization.In Glyco-science, status and perspectives. (H.J. Gabius & S. Gabius, eds.) Champman & Hall GmbH .Weinheim.1981. 191-199.

**D**am TK and Brewer CF. (2002) . Thermodynamics of lectin-carbohydrate interactions

by isothermal titration calorimetry. Chem. Rev. **102**, 387-429.

**Danic B, Lefrère J-J. (2011)** .La transfusion sanguine et le don de sang traité par le cinéma. *Hématologie* **17** ,402-409 .

**Deeksha M, Sangha K, Khurana D S, Kaur G, Bala M, Singh B. (2015)** .Screening for Lectin Quantification in BrassicaSpp and VegetableCrops. *Journal of Environmental and AppliedBioresearch.* **3** , 20-24.

**De Hoff PL, Brill LM, Hirsch AM. (2009)** .Plant lectins: the ties that bind in root symbiosisand plant defense. *Mol. Genet. Genomics.* **282**. 1-5.

**Delatorre P et al. (2006)**. Crystal structure of a lectin from Canavaliamaritima (ConM) incomplex with trehalose and maltose reveals relevant mutation in ConA-like lectins. *J Struct Biol.* **154**. 280-286.

**DEVI. P. R., KOMBIAH. P., SUDHAKAR. R. G., BABU. G.** Purification And Characterization Of A Novel Lectin From GeotrupesStercorarius. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research.* **15**. 157-162.

**Dole A et Lindeberg S. (2005)**.Agrarian diet and diseases of affluence-do evolutionary noveldietrylectins cause leptinresistance. *Bio, mad central lid.*doi .10.1186 ,1472-6823-5-10 .

**Drickamer K. (1993)**. Ca<sup>2+</sup>-dependent carbohydrate-recognition domains in animalproteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **3**. 393-400.

**E**delman GM, Cunningham BA, Reeke GN, Becker JW, Waxdal MJ and WangJL.

(1972) .The covalent and three-dimensional structure of concavalin A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **69**. 2580-2584.

**Emsley J, White HE, O'Hara BP, Oliva G, Srinivasan N, Tickle IJ, Blundell TL, Pepys MB and Wood SP. (1994)** . Structure of pentameric human serum amyloid P component. *Nature.* **367**. 338-345.

## Références bibliographiques

---

**Etzler ME. (1986).** Distribution and function of plant lectins in The lectins: properties, functions and applications in biology and medicine. Orlando (USA) : Liener IE, Sharon N, Goldstein IJ. Academic Press. Inc. pp 371-437.

**Evangelista V., 2008.** Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection. Springer. P : 399.

**Falasca A I. (1989).** Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz. *FEBS Lett.* **246.** 159 -162.

**Gabius HJ, Springer WR and Barondes SH. (1985).** Receptor for the cell binding site of discoidin I. *Cell.* **42.** 449-456.

**Garon-Lardiere S., 2004.** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de Doctorat en Chimie. Université de Bretagne occidentale école doctorale des sciences de la matière, de l'information et du vivant. P : 226.

**Ghopskins W, Evrard C-M. (2003).** *Physiologie Végétale.* DE BOECK. 1ère édition, 104-105.

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

**Goldstein I J , Hughes R C , Monsigny M , Ozawa T & Sharon N. (1980).** What should be called a lectin? *Nature.* **285.** 60.

**Goldstein I J, Poretz R D. (1986).** Isolation physico-chemical, characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins In Liener I. *The lectin: properties, function and applications in biology and medicine.* ELSEVIER. INC, 49-50.

**Gomes B S, Siqueira A B S, Maria R C C , Teisceira V G E H, Anuda F V S, Naximmento K S D, De Lima A N, Souza-Motta M, Porto A L F. (2012).** Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. *Braz. J. Microbiol.* **43.** 770-778.

## Références bibliographiques

---

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

**Greer F, Brewer AC, Pusztai A. (1985).** Effect of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) toxin on tissue weight and composition and some metabolic functions of rats. *Brit. J. Nutr.* **54**. 95-103.

**Guénard H et al.(2001).** *Physiologie humaine*. 3ème édition. PARDEL. 497.

**Guillaume J. (1993).** *Nutrition et Alimentation des Poisson et Crustacés*. Terrain. 396.

**Guillot J, Guerry M, Kanska G, Caldefie-Chezet F, De Latour M and Penault-Llorca F. (2004).** Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation : cas de carcinomes mammaires. *Bull Cancer*. **91**. 141-158.

**Hardman KD and Ainsworth CF. (1972).** Structure of concanavalin A at 2.4 Å resolution. *Biochemistry*. **11**. 4910-4919.

**Hirabayashi J.(2004).** Lectin-based structuralglycomics: glycoproteomics and glycanprofiling. *Glycoconj. J.* **21**. 35-40.

**Hung Y, Tan J M, Wang Z Y I S W, Hung X, Wang W, Ren Q. (2014).** Cloning and characterization of two different L-type lectin genes from the Chinese mitten crab *Eriocheirsinensis*. *Dev. Comp. Immunol.* **46**. 255–266.

**Imberty Anne. (2011).** Les bactéries aiment nos sucres : approche structurale et thermodynamique des interactions protéines et glucides In « De la recherche à l'enseignement 8 Septembre 2012 ». Société Chimique de France. Paris Tech. 1-12.

**Imberty A and Varrot A. (2008).** Microbial recognition of human cell surface glycoconjugates. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **18**. 567-576.

**Imberty A, Mitchell EP and Wimmerová M. (2005).** Structural basis for high affinity glycan recognition by bacterial and fungal lectins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **15**. 525-534.



## Références bibliographiques

---

**Jaffe WG. (1980).** hemagglutinins (Lectins) . In toxic constituents of plant foodstuffs. New-York. Academic Press. p 502.

**Jain D, Kaur K J, Salunke D M. (2001).**Plasticity in protein-peptide recognition: crystalstructures of two different peptides bound to concanavalin A. *Biophys J.* **80.** 2912-2921.

**Jeyaprakash A A, Katiyar S, Swaminathan C P, Sekar K, Surolia A. (2003).** Structuralbasis of the carbohydrate specificities of jacalin: an X-ray and modeling study. *J Mol Biol.* **332.** 217-228.

**KaminskiPA ,Buffard D et Strosberg A D. (1987).** The pea lectin gene family containsonly one functional gene. *Plant molec. Biol.* **5.** 497-507.

**Kawsar S A, Aftabuddin S, Yasuimitsu H, Ozeki Y. (2010).** The cytotoxic activity oftwo D-galactose bindinglectins purified from marine invertebrates. *Arch. Biol. Sci. Belgarde* **62.** 1027-1034.

**Kenoth R et al. (2001).** Thermodynamic and kinetic analysis of porphyrin binding toTrichsanthescucumerina seed lectin. *Eur.J. Biochem.***268.** 5541-5549.

**Kulkarni S R, Tayade V J. (2013).** Bacteriostaticactivity of CON A lectinfromCanavaliaensiformis. *Indian J. Pharm. Biol. Res.* **1.** 59 -63.

**Kulkarni GV. (1998).** Role of mitochondrial membrane potential in concanavalinA inducedapoptosis in human fibroblast. *Experimental cell.Research.* **245.** 170-178.

**Kylin H., 1923.** Studien fiber die Entwicklungsge schichte der Florideen. *Kungl.Svenska Vetensk. Handl.* **63.** 1-139.

**LAIJA. S. N., MAHESH. S., SMITHA. L. S., REMANI. P.** Isolation and partialcharacterization of two plant lectins. *CurrentResearch Journal of Biological Sciences.* **2.** 232-237.

**LAM. S. K. NG. T. B. (2011).** Lectins: production and practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* **89.** 45-55.

**Leffler H ,Carlsson S, Hedlund M, Qian Y and Poirier F. (2004).** Introduction to

## Références bibliographiques

---

galectins. *Glycoconj. J.* **19**. 433-440.

**Lenka S, Imberty A, Jaroslave K. (2006)**,modélisation moléculaire des lectines et desglycosyltransferases. *Biologie cellulaire*. Université de Grenoble I. France. pp 56- 58.

**Liener I, Sharon N, Goldstein J. (1986)**. The lectins Properties. Functions andApplications in biologieand medicine. Academic Press INC. London LID. pp 13-24.

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

**Lopez S. (2003)**. Anti-humainimmunodeficiency virus type 1 (HIV-1) activity of lectins fromNarcissus species. *Planta medica.* **69**. 109-112.

**MeiteA ,Kauame K G , Kati-Coulibaly S. (2006)**. Substances antinutritionnelles. *Méd.Nut.* **42**. 179-187.

**Mouradi A., Chikhaoui M., Fekhaoui M., Akallal R., Guessous A. GivernauT., 2006**. Variabilité interspécifique de trois algues rouges : *Hypnea musciformis*, *Gracilaria multipartita* et *Gelidium sesquipedale* (Rhodophycées) de la côte atlantique marocaine. *Afrique Science.* **2**. 365-389.

**MukherjeeS , ZhengH , DerebeM G, CallenbergK M , PartchC L, RollinsD ,Propheter D C, Jiang Q X.(2014)**. Antibacterial membrane attack by a pore-formingintestinal C-type lectin. *Nature.* **505**. 103–107.

**Murdock LL, Shade RE .(2002)**. Lectins and protease inhibitors as plant defenses againstinsectects. *J.Agric. food. Chem.* **50**. 6605-6611.

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

**Necib. Y., Bahi A .,Derri. N, FatehMerouan. F, Bouadi. H.,Boulahrouf. K. (2015)**. ImmunomodulatoryActivity Of LectinExtractedFromBark Of TheBlack Mulberry (*MorusNigra*). *World Journal of Pharmaceutical Research.* **4**. 1707-1719.

## Références bibliographiques

---

**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**. 1720-1733.

**Necib Y, Bahi A, Merouane F, Bouadi H, Boulahrouf K. (2014).** Immunomodulatory activity of lectin extrated from THE RED MARINE ALGA PTEROCLADIELLA CAPILLACEA. **4**. 1693-1706.

**O**DEKANYIN. O. O., KUKU. A. (2014). Characterization of galactose specific lectin from the skin mucus of african catfish *Larias gariepinus burchell*, 1822. *Academic Journals*. **9**. 869-879.

**Ouhssine K., Ouhssine M. & Mohammed El yachioui M., 2006.** Caractérisation chimique et microbiologique des déchets de *Gelidium sesquipedale* avant et après fermentation. *Société de Pharmacie de Bordeaux*. **145**. 31-40.

**Ozenda P., 1990.** Les organismes végétaux, 1. Végétaux inférieurs. Masson. P :219.

**P**arham P. (2000). Le système immunitaire. De BOECK Université , 340 .

**Papenfuss G.F.,1966.** Notes on algal nomenclature yo Yarious Chlorophyceae and Rhodophyceae. *Phykos*. **5**. 95-105.

**Peumans WJ, Vandamme JM(1995).** lectine as plant defense proteins. *Plant Physiol*. **109**. 347-352.

**Poiroux G. (2011).** Evaluation du potentiel de lectines végétales dans le ciblage de médicaments anticancéreux: Application à la Photochimiothérapie. *Biologie cellulaire et Biochimie*. Toulouse. Université Toulouse III - Paul Sabatier. p 35-50.

**Pontet M. (1996).** Structure et activité biologique d'une nouvelle famille de lectines **Prix**

**R**A, Liston A, Strauss SH (1998) Phylogénie et systématique de *Pinus*. Dans: Richardson DM (ed) *Ecologie et biogéographie de Pinus*. Cambridge University Press, Cambridge, Royaume-Uni, pp. 49-68. males: les galectines. *Immunoanal. Biol. Spéc*. **11**. 297-305.

## Références bibliographiques

---

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

**Ramé A, Naccache P. (2001).** Transfusion sanguine. LAMARRE ,05 .

**Renato De A, Moreira. (1991).** Plant lectins, chemical and biological aspects. Mem.Inst.Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. **86.** 211-218.

**Richard H T. (1998).** Application of lectin histochemistry and cytochemistry in diagnostic and prognosis. Methods molecular medicine **9,** 73-94.

**Robert K, Marry MD, PhD. (2008).** Les glycoprotéines in Biochimie de Harper. DEBOECK ,527.

**Roberts DL, Weix DJ ,Dahms NM and Kim J J.(1998).** Molecular basis of lysosomal enzyme recognition: three-dimensional structure of the cation-dependent mannose 6-phosphate receptor. Cell. **93.** 639-648.

**Roos A, Daha M R, Vanpelt J, Berger S P. (2007).** Lectine liant le mannose dans les maladies rénales. Flammarion-Médecine-Science-Actualités Néphrologiques **13.** 134- 157.

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

**Ruiz G., 2005.** Extraction, Détermination Structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'Algue rouge, thèse de doctorat en Chimie appliquée-Chimie des Substances Naturelles, université de Limoges, Ecole Doctorale Sciences-Technologie-Santé

**Rydz N, Swytun L L, Notley C , Paterson A D, Riches J J, Sponagle K , Booyawat B ,Montgomery R R , James P D, Lillicrap D. (2013).** The c-type lectin receptor clec4m binds, internalizes, and clears von willebrand factor and contributes to the variation in plasma von willebrand factor levels. Blood. **12.** 5228–5237.

**Sankaranarayanan R , Sekar K , Banerjee R , Sharma V , Surolia A and Vijayan M. (1996).** A novel mode of carbohydrate recognition in jacalin, a Moraceae plant lectin with a b-prism fold. Nature Struct. Biol. **3.** 596-603.

**Shaista. R., Sakeena. Q., Ishfak. H. W., Showkat. A. G., Akbar. M.,**

## Références bibliographiques

---

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

**Sharon N. (1983)**. Lectin receptors as lymphocyte surface markers. *Advances in immunology.* **34**. 213-291.

**Sharon N, Lis H. (1993)**. Carbohydrate in cell recognition. *Scientific American.* **268**. 82-89.

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

**Sharon N, Lis H. (2004)**. History of lectin : from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology.* **14**. 53R-62R . 11. (Sharon. N., Lis. H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology.* **14**. 53-62.

**Sharon N and Halima, Lis. (2003)**. *Lectins*. Kluwer Academic Publishers.

**She Q B, NG T B, Liu W K A.(1998)**. novel lectin with potent immunomodulatory activity isolated from both fruiting bodies and cultures mycelia of the edible mushroom *Volvariella volvacea*. *Biochemical and Biophysical Research Communication.* **247** , 106-111.

**Singh J (2012)** Zoonotic malaria: *Plasmodium knowlesi*, an emerging pathogen. *Curr Opin Infect Dis.* **25**. 530–536

**Somers WS , Tang J , Shaw GD and Camphausen RT. (2000)**. Insights into the molecular basis of leukocyte tethering and rolling revealed by structures of P- and E-selectin bound to SLe<sup>x</sup> and PSGL-1. *Cell.* **103**. 467-479.

**Sumner J B. (1919)**. The globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis*. *J. Biol. Chem.* **37**. 137-142.

**Sumner J B, Howell SF. (1936)**. Identification of hémagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. *J. Bacteriol.* **32**. 227-237.

**Sutapa B M, Gopa R P. (2013)**. exploring plant lectines in diagnostic. Pophylaxis and therapie. *Journal of medicinal plants research.* **7**. 3444-3451.

**Sze S C W, Ho J C K, Liu W K. (2004)**. *Volvariella volvacea* lectin activates mouse T lymphocytes by a calcium dependent pathway. *J. Cell. Biochem.* **92**. 1193-1202.

**Tanne A , Neyrolles O.(2010).** C-type lectins in immune defense against pathogens:

The murine dc-sign homologue signr3 confers early protection against mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence*. 1, 285–290

**Topfer-Petersen E , Romero A , Varela PF , Ekhlas-Hundrieser M, Dostalova Z, Sanz L and Calvete JJ. (1998).** Spermadhesins: a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. *Andrologia*. **30**, 217-224.

**Transue T R , Smith A K , Mo H , Goldstein I J and Saper M A. (1997).** Structure of benzyl T-antigen disaccharide bound to *Amaranthus caudatus* agglutinin. *Nat. Struct. Biol.* **10**. 779-783.

**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 , Zuniga 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.

**Vandamme E J, Peumans W J ,Barre A, Rougé P.(1998).** Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionarily related proteins with diverse biological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **17**. 575-692.

**Voet D, Voet J G. (2005).** *Biochimie*. 2ème édition. DE BOECK . 378.

**Wangh NG T G. (1998).** Ribosome inactivating protein and lectin from bitter melon (*Momordica charantica*) seeds: sequence comparison with related protein. *Biochemical and biophysical research communication*. **253**. 143- 146.

**Wright C S and Hester G. (1996).** The 2.0 Å structure of a cross-linked complex between snowdrop lectin and a branched mannopentaose: evidence for two unique binding models. *Structure*. **4**. 1339-1352.



## Références bibliographiques

---

**Xu S , Wang L , Wang X W , Zhao Y R B I W J , Zhao X F , Wang J X**

**L.(2014).**Type lectin from the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* promotes hemocytaphagocytosis. *Dev. Comp. Immunol.* **44.** 397–405.

**Yeh KW, Chen JC, Lin MI, Chen YM, Lin CY. (1997).** Functional activity of

sporamin from sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity. *Plant Mol Biol.* **33.** 565–570.

**Zhang H , Peatman E , Liu H , Feng T , Chen L , Liu Z.(2012).**

Molecular characterization of three L-type lectin genes from channel catfish, *Ictalurus punctatus* and their responses to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Fish Shellfish Immunol.* **32.** 598-608.

**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.

# ANNEXE



### 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 <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	<b>0,435 g</b>
Monosodium phosphate (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	<b>5 g</b>
Chlorure de sodium (Na Cl)	<b>45 g</b>
Eau distillée	<b>5 L</b>

#### Annexe 02 : Préparation des Monosaccharides et glycoprotéines.

- Préparation des monosacchari et desglycoprotéines .

Sucre/glycoprotéines	Na Cl
<b>0,1 g</b>	<b>1 ml</b>

#### Annexe 03 : Préparation des Métaux et NaCl.

- Préparation des métaux (0,1M)

glycoprotéines	Quantité	NaCl
MgCl <sub>2</sub>	<b>0,095g</b>	<b>10 ml</b>
Ca Cl <sub>2</sub>	<b>0,11g</b>	<b>10ml</b>
Mn Cl <sub>2</sub>	<b>0,125g</b>	<b>10ml</b>
Fe Cl <sub>2</sub>	<b>0,164g</b>	<b>10ml</b>

- Préparation du NaCl 0,9 M

NaCl	Eau distillée
<b>0,9</b>	<b>0,1L</b>

Année universitaire : 2016-2017

Présenté par : NEMOUCHI Saad Eddine  
MERIEM Yahia

## Extraction des lectines à partir des algues marines : *Ulva lactuca*, *Gelidium sesquipedale*, *Corallina elongata*

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

Résumé : Les lectines forment une famille de protéines et de glycoprotéines hétérogène qui reconnaissent certaines structures oligosaccharidiques et qui peuvent être d'origine animale, végétale, bactérienne ou virale.

Le but de cette recherche consiste en une caractérisation partielle des lectines extraites à partir d'algue rouge *Gelidium sesquipedale*. Dans notre étude, nous avons commencé par extraire en premier lieu les lectines en mettant en évidence leur activité hémagglutinante. Le traitement thermique des lectines de *Gelidium sesquipedale* a révélé qu'elles ne résistent pas aux températures allant au-delà de 40°C, Cette activité hémagglutinante de *Gelidium sesquipedale* est stable dans la gamme de pH allant de 1 à 12. Le test d'inhibition réalisé avec différents monosaccharides n'a montré aucune spécificité par contre avec les glycoprotéines ce test a mis en évidence la compatibilité des lectines de *Gelidium sesquipedale* avec la caséine et l'ovalbumine. Lors du test ABO, il a été constaté que les lectines de l'extrait de *Gelidium sesquipedale* sont compatibles avec tous les groupes et avec une haute sélectivité particulièrement avec les groupes AB et O. Le test des métaux n'a révélé aucune influence des lectines de *Gelidium sesquipedale* sur les métaux. L'application de la chromatographie sur colonne de séphadex G 75 sur l'extrait de *gelidium sesquipedale* a donné un 2 pics, avec une amélioration de leur activité hémagglutinante.

**Mots clés** : Lectines, *Gelidium sesquipedale*, l'extraction, activité hémagglutinante, monosaccharide, inhibition, ABO.

Laboratoire : BIOCHIME, ENZYMOLOGIE, GENIE MICROBIOLOGIQUE ET APPLIQUATION

### Membres du jury

**Président du jury** : NECIB Y (Pr-UFM Constantine)

**Rapporteur** : BAH I A (MC-UFM Constantine)

**Examineurs** : DJEMAI ZOUGHLACHE S (MAA-UFM Constantine)

**Date de soutenance** : 18/06/2017

