



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

جامعة الإخوة منتوري Constantine

كلية علم الطبيعة و الحياة Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention 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 des plantes : *Agaricus bisporus* -
*Lepidium sativum***

Présenté et soutenu par :
Bourega Sadjed Abdelmoumen
Zeghdoud Haithem

Jury d'évaluation :
Dr. Abdelbaki Zitouni (MCA UFM Constantine)
Dr. Elouar Ibtissem (MCA UFM Constantine)
Bahi Ahlem (MC UFM Constantine)

Année universitaire

2016 – 2017

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 BAH
Ahlem Maitre 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, ces encouragements, sa gentillesse nous sommes très honoré de travailler avec elle.*

Nos remerciements vont aussi aux membres de notre jury de mémoire. C'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider notre jury de mémoire.

Enfin nous présentons tous nos remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire par leurs connaissances et leurs conseils.

Merci



Dédicaces

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

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas, la couronne sur ma tête et le bonheur de ma vie, ma mère qui m'a apporté son appui durant toute ma vie, pour ses sacrifices et son soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité.

A mon grand frère, Djawad, qui a toujours su m'inspirer, me guider et me conseiller.

A ma sœur, Assia, qui a su m'aider et me soutenir malgré la distance.

A mon petit frère qui n'a jamais hésité à jouer le rôle du grand frère.

A toute ma famille Bourega, Atmani.

A ma très chère Assia qui a toujours su me donner le sourire.

A mon neveu et ma nièce, les plus beaux anges sur terre.

A mon oncle Yacine, qui a été un vrai père pour moi.

A mes cousins : Amine, Sid Ali, Idriss

A mes oncles et mes tantes.

*A mes très chers amis : Ehab, Wassim, Wail, Maamar,
Seif, Ilyes, Badro.*

A toute ma famille, proche ou éloignée.

Enfin à mon frère et ami, Haithem, qui a été avec moi à travers toutes les difficultés de la vie et des études.

Sadjed

Dédicaces

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

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

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

A mes tantes ,mes oncles.

A toute ma famille Zeghdoud, Souilah.

A mes très chères sœurs :Sarah, Rihab.

A mon très cher frères :Amine, Walid, Raouf, Ehab.

A mon très cher cousin « Amir ».

A toute ma famille, proche ou éloignée.

A ma très chère Nabiha qui compte énormément pour moi.

A tous mes amis :Seif, Badro, Mohamed, Ilyes, Amir et Amir

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

Sans oublier mes braves amies de la promotion de Biochimie moléculaire et santé.

Haithem

Introduction

Les lectines constituent un groupe de protéines ou de glycoprotéines d'origine non-immunitaire, qui se lient de façon réversible aux hydrates de carbone et le plus souvent agglutinent les cellules ou précipitent les polysaccharides et des glycoconjugués. (**Goldstein et al., 1980**). Les lectines ont été redéfinies par Peumans & Van Damme (1995) en tant que protéines possédant au moins un domaine non catalytique, qui se lie de façon réversible à un mono ou oligosaccharide spécifique. Toutefois, selon Cummings (1997), des protéines à activité enzymatique liés à des hydrates de carbone ne peuvent être considérés comme des lectines. En conséquence de leurs propriétés chimiques, ils sont devenus un outil dans plusieurs domaines de la recherche biologique (immunologie, biologie cellulaire, structure de la membrane, recherche sur le cancer et le génie génétique). Les lectines sont présentes dans un large éventail d'organismes de la bactérie aux animaux, étant présentes dans toutes les classes et les familles, mais pas dans tous les genres et espèces (**Lis et Sharon, 1994**). Beaucoup de plantes à fleurs de groupes taxonomiques divers s'accumulent de grandes quantités de ce qu'on appelle VSP (végétatif stockage protéines) dans divers organes de stockage végétatif. Ces VSP jouent un rôle primordial dans l'accumulation d'azote, le stockage et la distribution dans les plantes bisannuelles et vivaces, et en conséquence, on pense à contribuer à la survie de la plante dans son environnement naturel (**Staswick, 1994**). En outre, certains VSP avec une activité enzymatique particulière ou autre activité biologique agissent comme des protéines de défense contre les animaux herbivores spécifiques ou des invertébrés phytophages par exemple, et peut donc jouer un double rôle de stockage / défense (**Peumans et Van Damme, 1995 ; Yeh et al., 1997**).

Plusieurs arbres de légumineuses non seulement ont démontré l'apparition de VSP spécifique à écorce abondante, mais aussi conduit à l'identification de certains de ces VSP d'écorce.

- La présente étude a été réalisée afin d'étudier la présence des lectines dans les plantes :
Agaricus bisporus, *Lepidium sativum*. Ces plantes 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 agglutination avec le sang des lapins.
- Etude l'effet de la température, pH et métaux sur l'activité de ces lectines.

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

Mots clés : Lectines, Extraction, Agglutination, Système ABO, Inhibition, Sucres.

Abstract

Lectins are a group of proteins or glycoproteins of non-immune origin which bind reversibly to carbohydrates and usually agglutinate cells or precipitate polysaccharides and glycoconjugates. (Goldstein et al., 1980). Lectins have been redefined by Peumans & Van Damme (1995) as proteins having at least one non-catalytic domain that reversibly binds to a specific mono or oligosaccharide. However, according to Cummings (1997), proteins with enzymatic activity linked to carbohydrates can not be considered as lectins. As a result of their chemical properties, they have become a tool in several fields of biological research (immunology, cell biology, membrane structure, cancer research and genetic engineering). Lectins are present in a wide range of organisms from bacteria to animals, occurring in all classes and families, but not in all genera and species (Lis and Sharon, 1994). Many flowering plants Taxonomic organisms accumulate large amounts of so-called VSP (vegetative storage proteins) in various vegetative storage organs. These PSVs play an important role in nitrogen accumulation, storage and distribution in biennial and perennial crops, and therefore contribute to the survival of the plant in its natural environment (Staswick, 1994). Moreover, some VSPs with a particular enzymatic activity or other biological activity act as protective proteins against specific herbivorous animals or phytophagous invertebrates, for example, and can thus play a dual role of storage / defense (Peumans

And Van Damme, 1995; Yeh et al., 1997).

Several legume trees not only demonstrated the appearance of abundant bark-specific VSP, but also led to the identification of some of these bark VSPs.

□ This study was carried out to study the presence of lectins in plants:

Agaricus bisporus, Lepidium sativum. These plants have never been studied in Algeria on lectin extraction, for which reason we have set the following objectives:

□ Study the presence of lectins by the agglutination test with the blood of rabbits.

□ Study the effect of temperature, pH and metals on the activity of these lectins.

□ Study the affinity of these lectins to the carbohydrate and the glycoproteins by the test of inhibition on the one hand and towards the red blood cells of the human being by the ABO test on the other hand.

Keywords :Lectines, Extraction, Hemagglutination, ABO system, Inhibition, Sugars.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction

Etude bibliographique

Chapitre I :Généralités sur les lectines

1. Définition des lectines.....	Page 1
2. Historique.....	Page 2
3. La structure des lectines.....	Page 4
4. Les sites de liaisons des lectines.....	Page 6
5. La spécificité et l'affinité des lectines.....	Page 7
6. La classification des lectines.....	Page 9
7. Distribution des lectines dans le monde vivant.....	Page 10
8. Fonction biologique des lectines.....	Page 14
9. Propriétés des lectines.....	Page 14
10 . L'intérêt des lectines.....	Page 17
11. Le rôle des lectines dans l'immunité.....	Page 18

Chapitre II :Le systeme sanguin

1. Historique.....	Page 20
2. Le système ABO.....	Page 20

3. Facteur rhésus.....Page 21

4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....Page 21

5. Détermination du groupe sanguin.....Page 22

Chapitre III : Généralités sur les plantes

1. Agaricus.....Page 23

2. Lepidium sativumPage 25

Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes des tests phytochimiques.....Page 27

1.2.2.Le test d'agglutination.....Page 30

1.2.3.La limite d'agglutination.....Page 31

1.2.4. L'effet de la température sur l'agglutination.....Page31

1.2.5.L'effet du pH sur l'agglutination.....Page 31

1.2.6. Le test d'inhibition d'agglutination par des saccharides et des glycoprotéines.....Page 31

1.2.7.Le test de la limite d'inhibition d'agglutination par les saccharides.....	Page 32
1.2.8.Le test des métaux.....	Page 32
1.2.9.Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	Page 32
1.2.10.La purification des lectines par la chromatographie échangeuse d'ions.....	Page 32
1.2.11L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G75 et G25.....	Page 33

Résultats et discussion

1. Le test d'agglutination.....	Page 35
2. La limite d'agglutination.....	Page 36
3. L'effet de la température sur l'agglutination.....	Page 37
4. L'effet du pH sur l'agglutination.....	Page 38
5. Le test d'inhibition d'agglutination par des saccharides et des glycoprotéines.....	Page 39
6. Le test de la limite d'inhibition d'agglutination par les saccharides.....	Page 40
7. Le test des métaux.....	Page 41
8. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	Page 42

Conclusion et perspective	Page 45
Références bibliographiques	Page 48
Annexes.....	Page 66
Résumé.....	Page 93

LISTE DES ABRÉVEATIONS

Con A : Concavaline A lectine

ConBr : Lectine de Canavaliabrasiliensis

EUC : *Eucalyptus globulus*.

Man: Mannose

PBS : Phosphate Buffer Saline

PIN : *Pinus sylvestris*.

R : rhésus

VIH : human immuno deficiency virus

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

- Tableau 01** : les lectines et leurs applications.....Page 1
- Tableau 02** : Historique de la découverte des lectines.....Page 3
- Tableau 03** : La Spécificité osidique de certaines plantes a lectines.....Page 8
- Tableau 04** : La classification structurale des lectines des plants.....page 10
- Tableau 05** : Les Lectines spécifiques des groupes sanguins.....Page 22
- Tableau 06** : L'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait *d'Agaricus bisporus et Lepidium*.....Page 35
- Tableau 07** : Activité de la limite d'agglutination *d' Agaricus bisporus, Lepidium sativum*Page 36
- Tableau 08** : L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait *d'Agaricus bisporus Lepidium sativum*Page 37
- Tableau 9** : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait *d' Agaricus bisporus et Lepidium Sativum*Page 38
- Tableau 10** : Inhibition de l'activité d'agglutination par des sucres simples..
.....Page 39
- Tableau 11** : Inhibition de l'activité d'agglutination par les
glycoprotéines.....Page 40
- Tableau 12** : Les concentrations minimales en galactose provoquant l'inhibition
d'agglutination d'extrait *d' Lepidium Sativum*.....Page 40
- Tableau 13** : Les concentrations minimales en galactose provoquant l'inhibition
d'agglutination d'extrait *d' Lepidium Sativum*.....Page 40

Tableau 14 : Résultats du test des métaux avec *Agaricus bisporus*, *Lepidium sativum*
.....Page 41

Tableau 15: L'agglutination des hématies humaines (A,B,O,AB) par l'extrait
brute d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium Sativum*Page 42

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

- Figure 01** : Représentation graphique d'un monomère de concanavale A de canavaliensiformis en complexe avec le trimannosoïde.....Page 5
- Figure 02** : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique.....Page 6
- Figure 03** : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie d'Escherichia coli.....Page 6
- Figure 04** : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides.....Page 7
- Figure 05** : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le SialylLewisX (PDB 1G1T).....Page 11
- Figure 06** : Tétramère de la protéine ConM de Canavalia maritima complexée avec le tréhalose(code PDB 2CY6).....Page 12
- Figure 07** : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....Page 22
- Figure 08** : La Classification scientifique de *Lepidium sativum*.....Page 24
- Figure 09** : La Classification scientifique de *Agaricus bisporus*.....Page 25
- Figure 10** : la technique d'extraction de l'extrait brut.....Page 29
- Figure 11** : La filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G75 de l'extrait *Lepidium sativum*Page 48
- Figure 12** : La filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G75 de l'extrait *Agaricus bisporus*Page 48

LISTE DES PHOTOS

Liste des photos

Photo 01 : représente les matériels végétales la plante de *Lepidium sativum*.....**page 27**

Photo 02 : l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B), *Abelmoschus esculentus* (C), *Saussurea costus* (D)**page35**

Photo 03 : test de la limite d'agglutination d'*Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B).....**Page 37**

Photo 04 : l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B).....**Page 37**

Photo 05: l'effet du PH sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B).....**Page 38**

Photo 06: Le test d'inhibition d'agglutination par les saccharides sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B).....**Page 39**

Photo 07: l'effet des glycoprotéines *Fetaine* (1), *Caseine* (2) sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B).....**Page 40**

Photo 08: Le test de limite d'agglutination par le galactose des extraits *Lepidium sativum*.....**Page 41**

Photo 09: l'effet des métaux *MnCl2* (1), *CaCl2* (2), *FeCl2* (3), *MgCl2* (4), sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B).....**Page 42**

Photo 10: L'agglutination des hématies humaines (A,B,O,AB) par l'extrait brute d'*Agaricus bisporus*(A) et *Lepidium sativum* (B)**Page 43**

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

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 «lectine» dérivée du mot latin «lectus» qui est le participe passé du verbe «légère», qui veut dire «sélectionner» ou «choisir» (**Liener et al., 1986**). Les lectines sont relativement petites, leurs masses moléculaires étant comprises entre 50 et 120 KD. Elles sont habituellement formées de deux (dimères) ou quatre (tétramères) sous-unités identiques (**Ghopkins et Evrard, 2003**) Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Cette caractéristique très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes, car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissances par molécule, ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination de cellules diverses (**Liener et al., 1986**). Les lectines provoquent l'hypertrophie de l'intestin grêle et du pancréas et l'atrophie de la rate et de thymus. Ces effets néfastes des lectines sont inactivés (principalement) par leur traitement thermique dont l'efficacité est fonction de la température et de la durée de traitement (**Meite et al., 2006**). Bien qu'il existe des lectines 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	Concanavalline A, 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	Lectines 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 agglutinante 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 concanavaleine 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'agglutination de la concanavaleine A par des saccharoses (Sumner et Howell, 1936).

En 1954, Boyd et Shapleigh ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des érythrocytes humains d'un groupe sanguin donné (Boyd et Shapleigh, 1954). L'étape importante dans l'histoire des hémagglutinines est la découverte que certaines d'entre elles agglutinent les globules rouges appartenant uniquement à un groupe sanguin donné (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 agglutinante de la graine de Ricinus communis toxicité de la graine de Croton triglium
1890	Erlich	Utilisation de l'abrine et la ricine dans les recherches immunologiques
1891	Hellin	Activité agglutinante de la graine d'Abrus Precatorius
1897	Elfstrand	Introduction du terme d'hémagglutinine
1902	Landsteiner	La réversibilité de l'agglutination par la Chaleur
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la Concanavaleine A (Con A)
1926-7	Marcusson-Begun/Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins
1947-9	Boyd & Reguera /Renkonen	Spécificité groupe de sang des plantes à Hémagglutinines

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 lectines
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**)

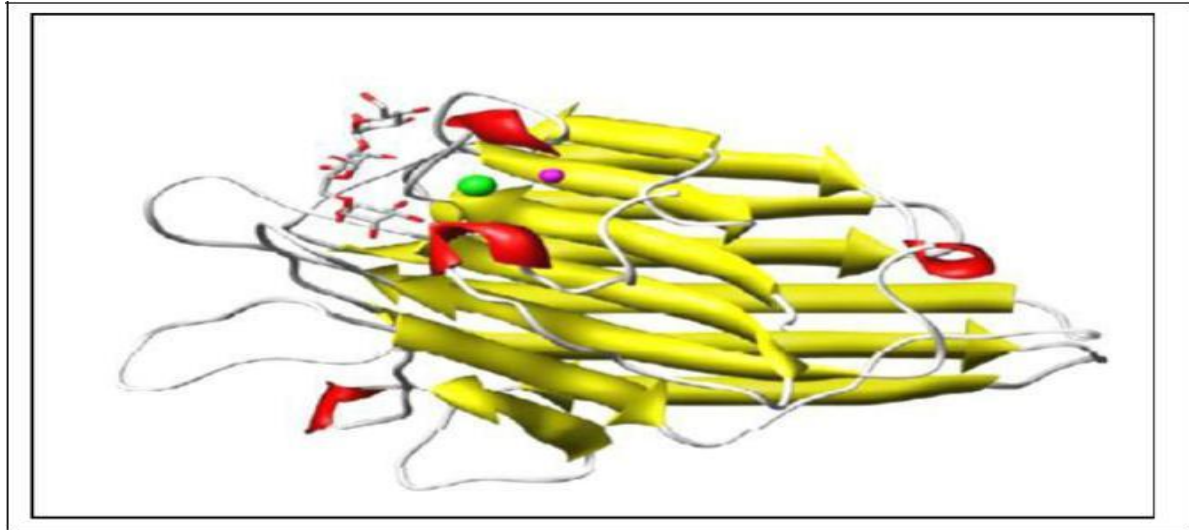


Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de concanavoline A de *canavalia ensiformis* en complexe avec le tri mannoïde (Lenka , 2006).

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

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).

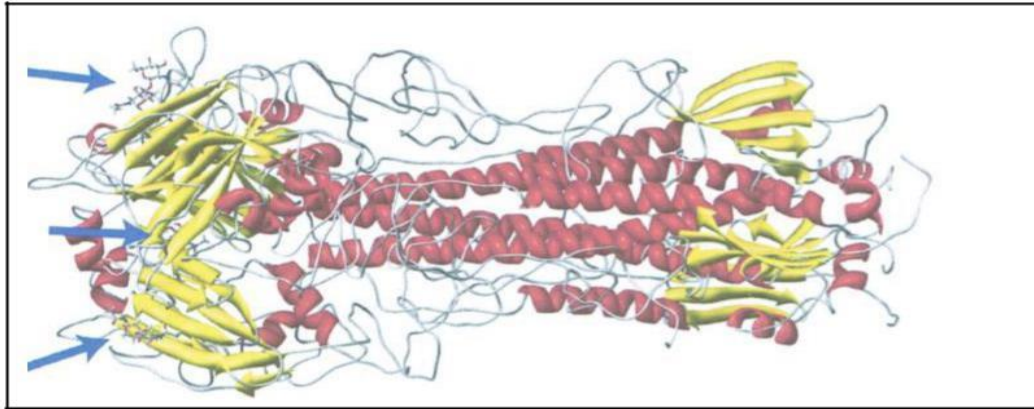


Figure 02: Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (Lenka *et al.*, 2006).

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) (Figure03).

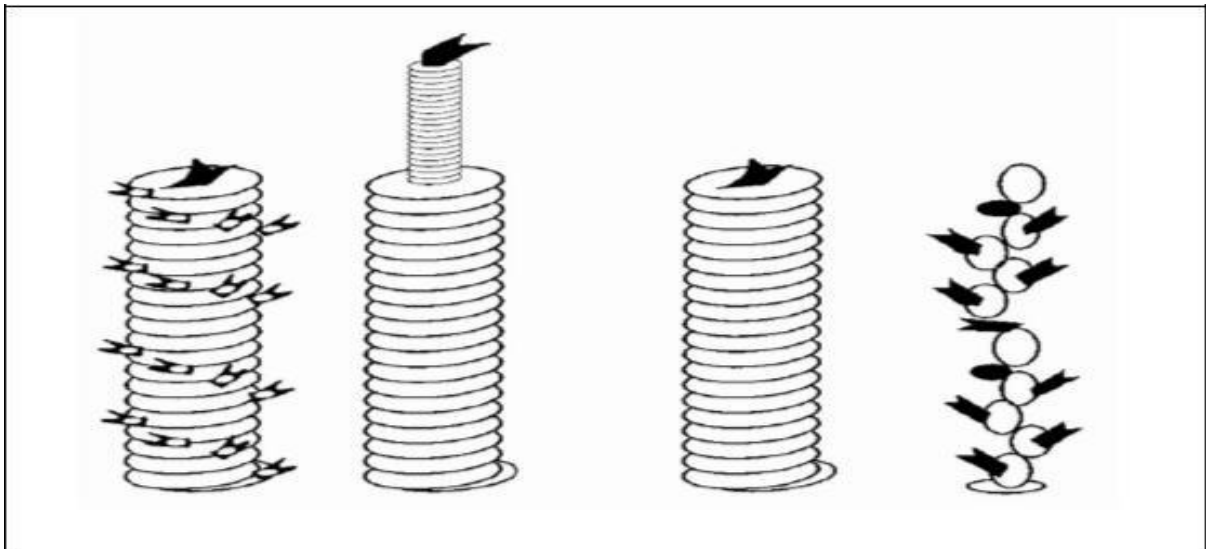


Figure 03: Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *d'Escherichia coli*.

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 lectine-sucre sauf pour des glucides chargés comme l'acide sialique (**Pontet, 1996**). Les lectines ne modifient pas biochimiquement les hydrates de carbone aux quels se lieent (**Gabius, 1985**).

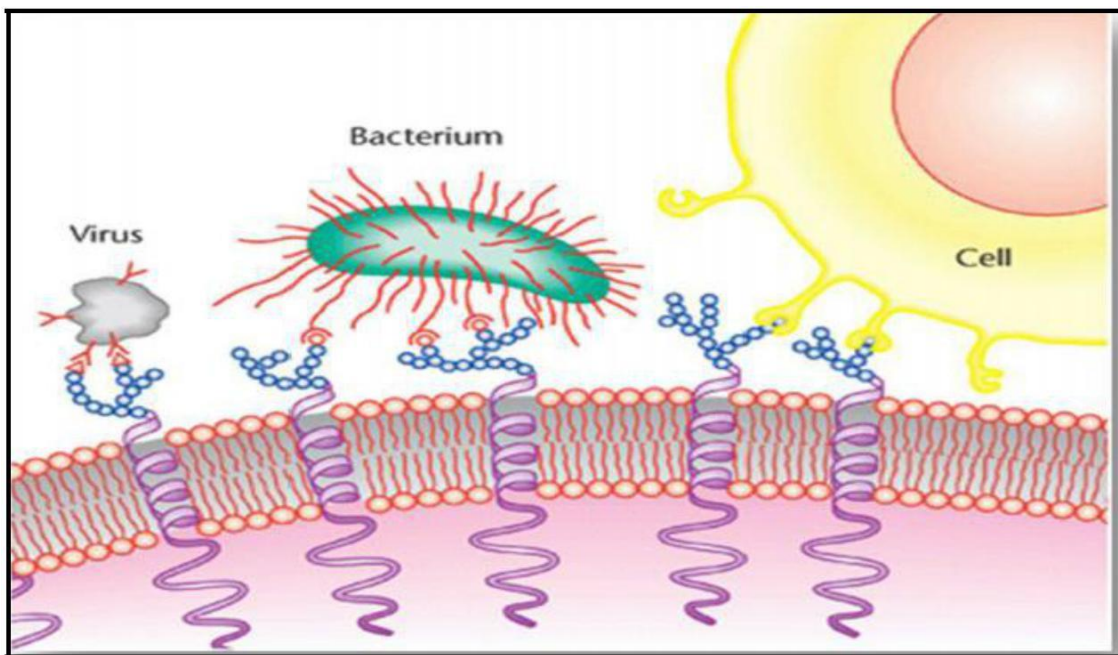


Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (**Sharon et Lis, 1993**)

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 épitopes 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**)

Espèces	Spécificité
<i>Abrus precatorius</i>	Gal
<i>Adenia digitata</i>	Gal
<i>Aleuria aurantiaca</i>	L-Fuc
<i>Canavalia brasilensis</i>	Man >Glc
<i>Canavalia ensiformis</i>	Man >Glc
<i>Dolichos biflorus</i>	GalNAc
<i>Phaseolus vulgaris</i>	GalNAc
<i>Vicia sativa</i>	Man
<i>Ulex europaeus I</i>	L Fuc
<i>Momordica charantia</i>	GalNAc
<i>Cytissus essilifolia</i>	GlcNAc>Fuc>Gal
<i>Datura stramonium</i>	GlcNAc

6. La Classification des lectines

6.1. Chez les animaux

a) Les lectines extracellulaires

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

b) Les lectines intracellulaires

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

6.2. Chez les végétaux

a) Les mérolectines

Les mérolectines sont de petits peptides, formés d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides, dit monovalentes (exemple : héveine, protéines d'orchidées), et ils sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules, donc non agglutinantes (**Peumans *et Van Damme*, 1995**).

b) Les hololectines

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

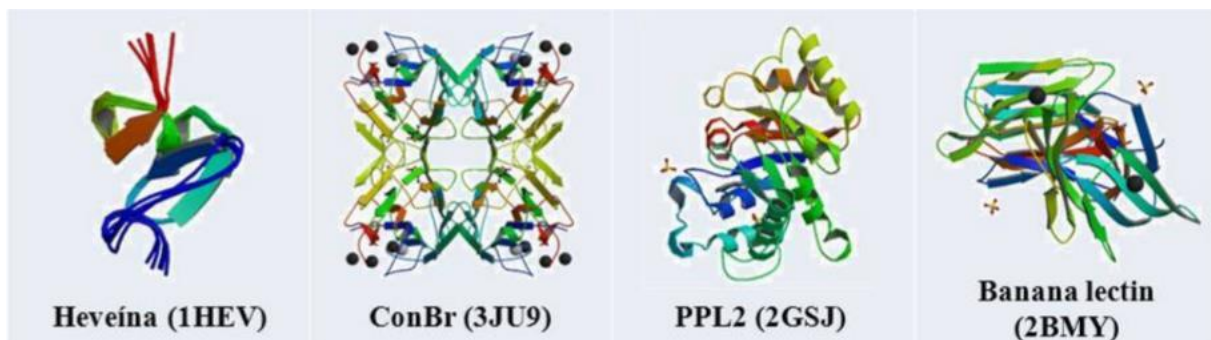
c) Les chimérolectines

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

d) Les superlectines

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

Tableau 04 : 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 *sigles*.

- Les structures de *galectines* sont relativement simples. Ces protéines sont spécifiques pour le β -galactose et plus précisément pour le lactose (β Gal1-4Glc) et le Nacetyllactosamine (β Gal1-4GlcNAc) (**Leffler et al., 2004**).
- Les lectines du *type C* présentent un CRD (*Carbohydrate Recognition Domain*) bien conservé qui implique un atome de calcium dans l'interaction protéine-sucre (**Drickamer, 1993**). Les lectines de type-C sont soit en circulation dans le plasma, soit attachées aux surfaces cellulaires par la présence d'un segment transmembranaire. Un exemple de la structure 3-D d'une lectine du type C est la E-selectine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (**Somers et al., 2000**) (**Figure 05**).

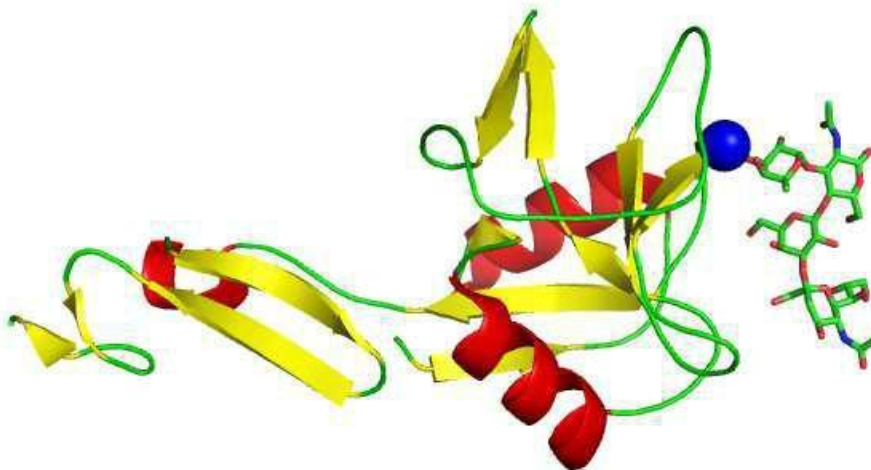


Figure 05 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (**Somers et al., 2000**). Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

- Les *Sigles*, ou lectines de type I, constituent une famille de lectines qui reconnaissent l'acide sialique (**Crocker, 2002**).
- Les autres classes de lectines animales comprennent les lectines du *type P* qui sont formées par les lectines qui fixent le mannose-6-phosphate, comme la lectine bovine

CDMPR (**Roberts *et al.*, 1998**). Les *pentraxines* qui sont une famille des lectines capables de se lier à des ligands de manière Ca^{2+} dépendante (**Emsley *et al.*, 1994**) La plupart des lectines des vertébrés ont une localisation extracellulaire et sont capables de détecter les modifications de glycosylation sur les cellules environnantes. Elles jouent donc un rôle dans la vie sociale des cellules et sont impliquées dans des processus tels que la fécondation, la migration et le développement cellulaire (**Aragao, 2009**).

Par exemple, dans le processus de fécondation, un glycoconjugué de la surface de l'ovule interagit avec une lectine (spermathésine) 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**)

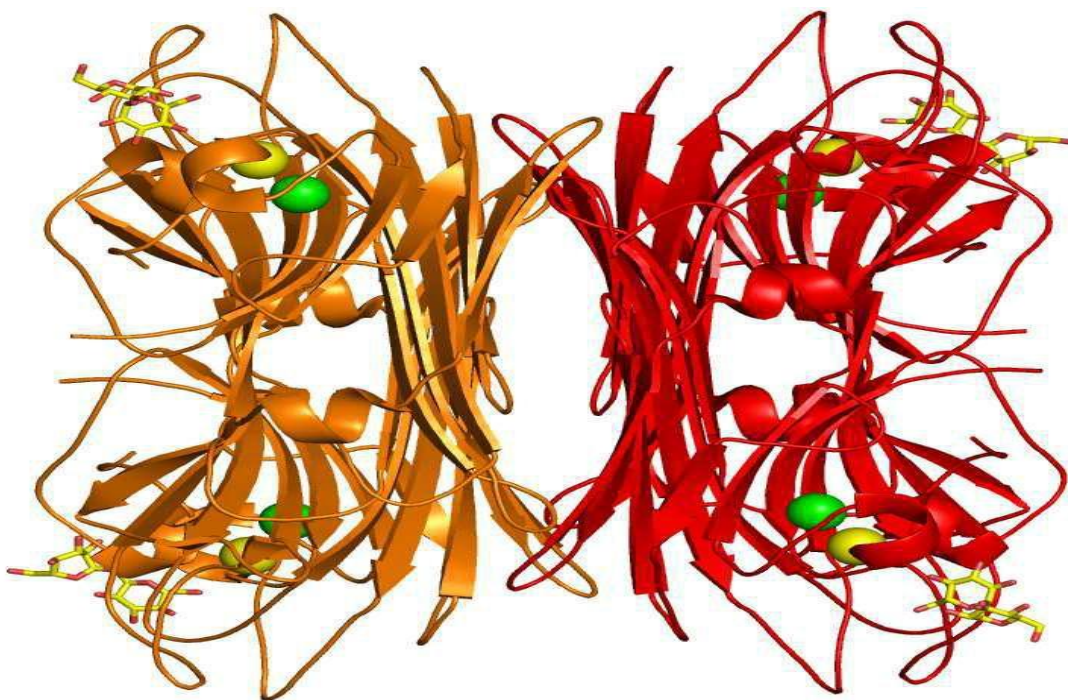


Figure 06 : Tétramère de la protéine ConM de *Canavalia maritima* complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6) (**Delatorre, *et al.*, 2006**). Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets

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* (**Sankaranarayanan, et al. 1996**). La famille Amaranthaceae contient la lectine ACA de *Amaranthus caudatus* qui a été cristallisée à 3.6 Å (**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 lectine de virus est l'hémagglutinine du virus de la grippe (Influenza virus). Cette hémagglutinine interagit avec un récepteur de la surface des cellules hôtes, l'acide 5-N-acétylneuraminique (l'acide sialique). Sa structure 3-D a été résolue

En complexe avec son récepteur naturel et avec 12 analogues de ligands (**Weis et al., 1990**). Les bactéries qui s'attachent aux surfaces s'agglutinent dans une matrice 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 Nac lectine se lie au galactose et au Nacétylgalactosamine permettant l'adhérence des amibes aux cellules hôtes (**Boettner et al., 2002**). Les lectines des champignons ont

principalement des propriétés pharmacologiques intéressantes, par exemple la stimulation du système immunitaire contre l'hypertension et contre l'hypercholestérolémie mais aussi antivirales et anticancéreuses (She *et al.*, 1998 ; Sze *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'agglutination en pratique clinique pour distinguer les types du sang (A, B et O), exemple : la lectine de haricot de lima (*Phaseolus lunatus*) se lie à N-acétyl-D galactosamine et agglutine seulement des globules rouges de type A (Goker *et al.*, 2008). Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses présentent des propriétés anti-inflammatoires (Alencar *et al.*, 2005 ; Gomes *et al.*, 2012). Elles contrôlent les niveaux des protéines dans le sang (Rydz *et al.*, 2013) car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs (Sutapa *et Gopa*, 2013). Les lectines ont la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses, La récente découverte suggère que les cellules malignes sont plus facilement agglutinées par des lectines que les cellules normales. Ces agglutinations sélectives pourraient être utilisées dans le traitement du cancer (Voet *et Voet*, 2005).

9.Propriétés des lectines

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 glycannes interagissent par des liaisons non-covalentes avec les acides aminés formant la cavité de reconnaissance saccharidique de la lectine (**Jeyaprakash *et al.*, 2003**). La partie non glycanique des glycoconjugués peut également interagir avec les acides aminés avoisinant la cavité de reconnaissance (**Jeyaprakash *et al.*, 2003**).

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'activités mitogène

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

9.4.Effets mimétiques des hormones

Les lectines des graines d'haricot rouge (*Phaseolus vulgaris*), qui ont une haute réactivité avec les membranes cellulaires et leurs récepteurs peuvent mimer les effets des

hormones. En effet, les lectines pures des graines de haricot rouge sont connues pour avoir une activité insuline-like sur les grosses cellules isolées (**Greer et coll.,1985**).

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 antivirales

Les lectines peuvent avoir des actions antivirales comme celles observées par les RIPs (Ribosomes inactivant les protéines) (**Wang et coll ., 1998**). Les lectines mannose-spécifiques isolées de bulbes de 15 espèces sauvages du genre *Narcissus* cultivées en Espagne ont une activité inhibitrice anti-VIH1. L'activité anti-VIH-1 la plus efficace est obtenue avec les extraits de l'espèce *Narcissus tortifolious* (**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 de type C résistent contre la bactérie *Listeria monocytogenes* (**Mukherjee et al., 2014**). Concernent les lectines humain de type L (LTLs), elles ont la capacité d'agglutinées les bactéries par une manier calcium dépendent ou par leurs opsonisation en fixent sur les glycoconjugués de ces micro-organismes (**Zhang et al., 2012 ; Huang et al., 2014 ; Xu et al., 2014**)

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

10.2. Dans le domaine biomédical

a) *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.

b) *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**).

c) Biologie cellulaire

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

d) Cancérologie

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

10.3. Dans le domaine agronomique

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

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 bindinglectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la voie lectine 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 β -glucane (**Guénard *et al.*, 2001**).

Chapitre II : Système Sanguin

Chapitre II : Le système sanguin

Les groupes sanguins

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 des quelles 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 oligosacchridique pour former l'antigène A, alors que les sujets du groupe B ont une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment en plus la structure de base dépourvue des glucides terminaux, ce qui explique pourquoi des alloanticorps ne sont pas produits contre le groupe O (**Parham, 2000**) (**figure 07**)

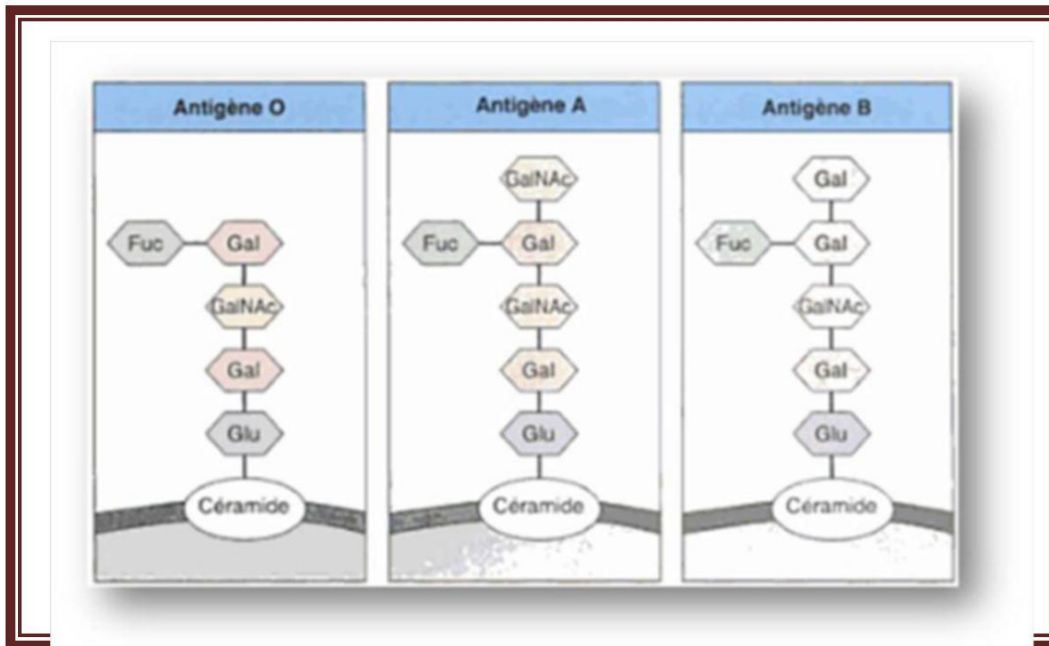


Figure 07 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Parham,2000).

5. Détermination du groupe sanguin

La détermination des groupes sanguins ABO se fait à l'aide de deux épreuves : L'épreuve globulaire dite de Beth-Vincent (consiste à détecter les antigènes présents sur les globules rouges du patient grâce à des anticorps de spécificité connue = sérum test) et l'épreuve sérique dite de simonin (consiste à détecter les anticorps naturels présents dans le plasma grâce à des globules rouges de groupe connu (globules tests). La détermination du groupe sanguin ABO d'un patient est systématiquement associée à la recherche de l'antigène D (Béziat *et al.*, 1996) (Tableau 05).

Tableau 05: 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	Goker <i>et al</i> , 2008

Chapitre III :
généralités sur
les plantes

Chapitre III : Généralités sur les plantes

1. Cresson alénois (*Lepidium sativum*)1.1. La description botanique de *Lepidium sativum* :

L'origine du cresson alénois est assez floue : Afrique du Nord ou de l'Est, Moyen-Orient, Asie de l'Ouest, mais on pense qu'il pourrait s'agir de l'Ethiopie et des pays avoisinants. Sa domestication s'est probablement faite en Asie occidentale. Il était cultivé dans l'Antiquité en Grèce et en Italie et peut-être aussi en Egypte. On le cultive aujourd'hui dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, mais surtout à petite échelle dans les jardins familiaux. On le trouve aussi dans la nature, échappé des cultures, mais on ne sait pas s'il existe quelque part à l'état sauvage (Jansen, 2007).



Figure 08 : La plante de *Lepidium sativum*

1.2. La Classification scientifique de *Lepidium sativum*

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Dilleniidae</i>
Ordre	<i>Capparales</i>
Famille	<i>Brassicaceae</i>
Genre	<i>Lepidium</i>

1.3. Propriétés pharmacologiques :

Cette plante se révèle efficace contre de nombreux troubles digestifs en raison de son action stimulante, laxative et diurétique. De plus, il lutte contre la constipation et les hémorroïdes et il apaise les maux de ventre. Par ailleurs, le *Lepidium sativum* est utile en cas d'asthme ou de toux (Aouadhi, 2010).

1.4. Propriétés chimiques :

La tige et les feuilles de *Lepidium sativum* contiennent des glucosinolates, le composant principal étant la glucotropéoline (benzyl glucosinolate). Distillée à la vapeur, la plante produit environ 0,1% d'huile essentielle incolore, à l'odeur piquante.

La graine donne près de 25% d'une huile brun jaunâtre semi-siccative à odeur particulière et déplaisante. L'huile est riche en acides oléique, linoléique et urique, et contient également des alcaloïdes imidazoles. Le tégument de la graine germée contient beaucoup de mucilage, lequel présente une substance allélopathique, le lépidimoïde (Jansen, 2007).

2. L'Agaric (*Agaricus bisporus*.)

2.1. La description botanique d'Agaricus :

Le genre *Agaricus*, appartenant à la famille des Agaricaceae, est généralement décrit avec un piléus blanc, jaune ou brun; charnu, généralement lisse et blanc chez les exemplaires jeunes. Il se recouvre ensuite de fibrilles ou de squames de couleur ocrée à mesure qu'il s'ouvre. Les lamelles libres sont roses lorsque le champignon est jeune, puis brun-noir à noires lorsqu'il vieillit, avec une trame régulière quand elles sont jeunes, devenant plus tard irrégulières; et elles portent une sporée qui va du brun pourpre à brun foncé. Les basidiospores sont lisses avec une paroi pseudo-amyloïde (Mitchell et Bresinsky, 1999). Les *Agaricus* appartiennent à la Division (ou Phylum) des Basidiomycota (Hibbett *et al.* 2007) lesquels se caractérisent par la formation de leurs spores sexuelles à l'extrémité des structures appelées basides qui sont situés dans la partie fertile du corps fructifère ou hyménium.



Figure 09 : Corps fructifères d'*A. bisporus*

2.2. La Classification scientifique de *Agaricus bisporus*.

La classification botanique du palmier dattier donnée par **Djerbi, (1994)** est la suivante:

Régne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Basidiomycota</i>
Classe	<i>Agaricomycetes</i>
Ordre	<i>Agaricales</i>
Famille	<i>Agaricaceae</i>
Sous classe	<i>Agaricomycetidae</i>

2.3. Contexte écologique

Agaricus bisporus est un champignon saprophytique humicole, autrement dit un décomposeur secondaire des litières de feuilles qui intervient donc dans les successions microbiennes après l'activité des décomposeurs primaires. Ainsi, dans la nature, *A. bisporus* est généralement trouvé associé avec les fumiers de cheval, les déchets agricoles, sur des pelouses, dans les litières forestières d'arbres des genres *Cupressus*, *Picea*, et *Prosopis* (Callac, 1994; Kerrigan, 1995). Ce champignon pousse à l'état naturel au début de l'été ou en automne sous les climats tempérés comme en France, beaucoup de souches sauvages ont été isolées en Europe, dans la région méditerranéenne, et en Amérique du Nord. L'aire de répartition géographique connue d'*A. bisporus* s'étend de la région boréale de l'Alaska (Geml *et al.* 2008) au climat équatorial du Congo (Heinemann 1956) et de dunes côtières à des montagnes culminant à plus de 3000 m d'altitude (Callac, communication personnelle). Cependant très peu de souches vivantes issues de milieux extrêmes sont disponibles dans les collections.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériels et méthodes des tests phytochimiques

1.1. Matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur deux plantes médicinale :

A- *L'Agaricus bisporus* (Plante)

B- *Lepidium sativum* (Graines)



A- **Photo 01** : représente les matériels végétales *Agaricus bisporus* (Plante) (A) et *Lepidium sativum* (Graines) (B).

L'Agaricus a été collecté à partir de la région de Setif au mois de Avril 2017, Pour *Lepidium sativum* elle est récoltée à partir de la région de Djelfa (Fôrter Moudjbara), à la même periode.

1.2. Les méthodes

1.2.1. La Préparation des plantes

Pour *Lepidium sativum* les graines ont été rincées à l'eau et séchées à l'air pendant 7 jours ; broyées dans un mortier afin d'obtenir une poudre qui a été conservé dans une boîte fermé. Ainsi que pour *Agaricus bisporus*, les plantes Ont été séchées puis broyées dans un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre qui a été ensuite conservé dans un flacon fermé. Alors que pour

A

- **L'Extraction des plantes**

Le Principe :

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

La Technique d'extraction

9g des poudre obtenues à partir des deux plantes ont été mises dans des flacons contenant chaqu' une 30 ml solution tampon PBS (0.1M pH 7.2) (**annexe 1**) 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 (**Figure 19**).

Matériels et méthodes

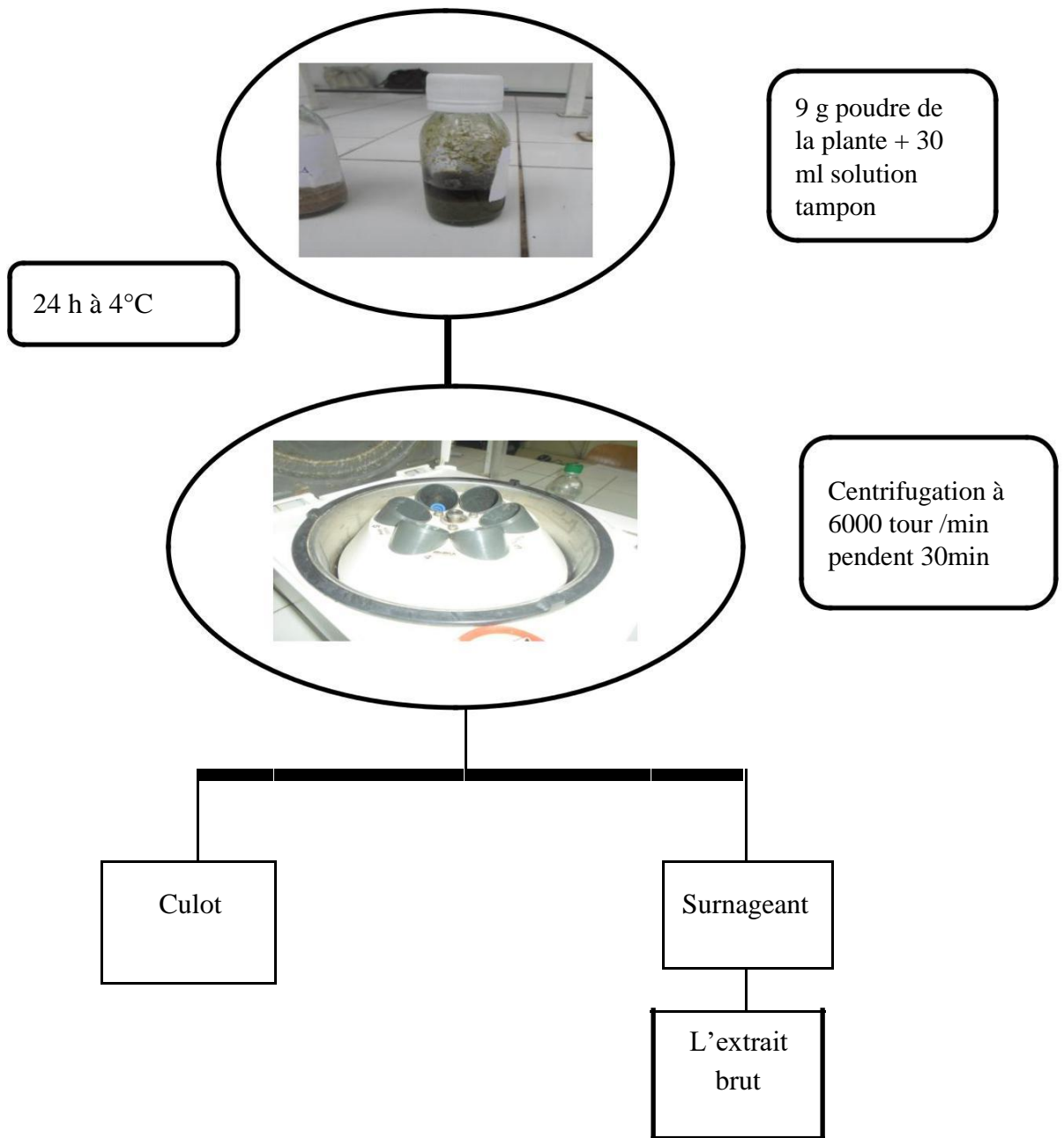


Figure 19 : représente la technique d'extraction de l'extrait brut.

1.2.2. Le test d'agglutination

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 du laboratoire d'analyse médicale de l'hôpital HUC Constantine, le sang du lapin est collecté à partir des lapins 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 globules rouges est dilué par une solution saline d'eau physiologique sachant que 1.5 ml des hématies dans 48.5 ml d'eau physiologique afin d'obtenir des hématies à 3%.

- **La technique d'agglutination**

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

1.2.3. La limite d'agglutination

Dans chaque puits, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés suivis de 50 µl de l'extrait brute (*Lepidium sativum Agaricus*) 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 hématies du lapin ont été ajoutés dans tous les puits. L'observation de l'activité agglutinante a été effectuée à l'œil nu après 1 h d'incubation à une température ambiante (25° C).

1.2.4. L'effet de la température sur l'agglutination

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 brut chauffé a été refroidi à température ambiante, enfin le test d'agglutination a été effectué.

1.2.5. L'effet du pH sur l'agglutination

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

1.2.6. Le test d'inhibition d'agglutination 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%) (Xylitol, Fucose , Melibiose , Rhamnose , Glucose , Galactose , Mannose , Lactose , manitol , saccharose , rhamnose, raffinose , sorbose , fétuine, caséine) . Le mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante, cela permet 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.

1.2.7. Le test de la limite d'inhibition d'agglutination 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 01**) 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'agglutination a été faite à l'œil nu après une heure de temps.

1.2.8. Le Test des métaux (oligoéléments)

Premièrement, l'EDTA est ajouté à l'extrait *Lepidium sativum* , *Agaricus bisporus* (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 (MgCl₃, CaCl₃ , MnCl₃) (**Annexe 01**).enfin 50 µl de sang de lapin sont ajoutés au mélange, la lecture a été faite à l'œil nu après 1h d'incubation .

1.2.9. 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.

1.2.10. La purification des lectines par la chromatographie échangeuse d'ions

Le surnageant de l'extrait brute a été récupéré puis réparti en trois fraction, la première est versé au niveau de la colonne contenant le Gel cellulose DEAE, l'élution a été faite par un tampon phosphate (0,1M, pH7,2), les fractions de séparation ont été recueillies dans des tubes secs (5ml/tube). La mesure de l'absorbance des extraits issus d'échangeuse d'ions a été réalisé dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est 280 nm, lorsque l'absorbance atteindre le 0, la lecture est arrêtée. Ensuite, une 2^{ème} élution a été effectués par l'NaCl a une concentration croissante (0,1M ; 0,2M ; 0,3M) (**Annexe 01**). Les fractions ont été recueillies dans des tubes secs (5ml/tube). L'absorbance des extraits issus d'échangeuse d'ions a été mesurée dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est 280 nm. Finalement, on a tracé la courbe d'absorbance en fonction des tubes. Les fractions récupérés ont été testés sur les hématies du lapin, pour assurer que l'activité agglutinanteest améliorée.

1.2.11. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G75 et G25



La préparation de la colonne de Sephadex G75 et G25

4 g de Sephadex G75 et G25 ont été mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,2). 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 plantes a été versé lentement dans la colonne Sephadex G25 et G75 , puis il a été recueilli par l'élution avec le tampon phosphate (0,1M ; pH7,2) dans des tubes secs (5ml/tube) . Les fractions récupérées ont été testés sur les hématies du lapin, pour assurer que l'activité agglutinanteest améliorée. L'absorbance des extraits récupéré à partir de la chromatographie sur colonne a été mesurée dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est de 280 nm. Puis on a tracé la courbe d'absorbance en fonction des tubes.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion

1. Le test d'agglutination

Le tableau 07 présente l'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de notre plantes

Tableau 07: L'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium*.

Plante	Test d'agglutination
<i>Agaricus bisporus</i> (Plante)	+++
<i>Lepidium sativum</i> (Graines)	++
<i>Abelmoschus esculentus</i>	-
<i>Saussurea costus</i>	-

- : Agglutination absente

+ : faible agglutination.

++ : Forte agglutination.

+++ : très forte agglutination.

L'extrait *Agaricus bisporus* (Plante), *Lepidium sativum* (Graines), montre une très forte agglutination vis-à-vis les hématies du lapin par contre l'extrait *Lepidium sativum* (Graines) montre une forte agglutination. Cette agglutination a été observée à l'œil nu ce qui prouve que notre plantes contient des lectines, en général l'interaction entre les lectines et les hématies se manifeste lors du dépôt des lectines au niveau du puits contenant les globules rouges, ces derniers vont sédimenter au niveau du puits dès lors dépôt et former un amas homogène sous forme d'une phase gélatineuse ; c'est le phénomène d'agglutination.

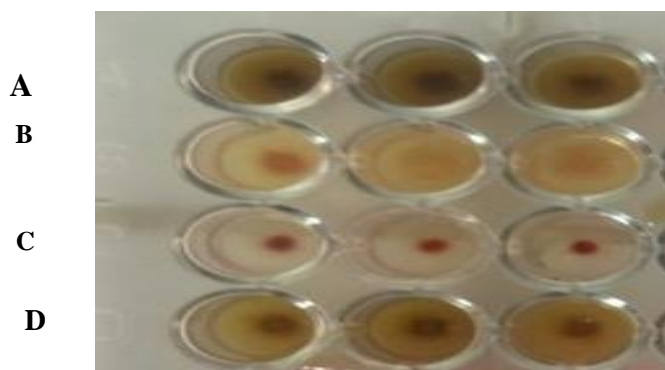


Photo 02 : l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B), *Abelmoschus esculentus* (C), *Saussurea costus* (D)

Résultats et discussion

Le potentiel d'agglutination des lectines a été étudié en utilisant des érythrocytes natifs de lapin ce qui a montré une bonne agglutination. Ces 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* (Deeksha *et al.*, 2015) .

2. La limite d'agglutination

La limite d'agglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une agglutination.

Tableau 08: Activité de la limite d'agglutination d'*Agaricus bisporus*, *Lepidium sativum*

dillution	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>Agaricus bisporus</i> (Plante)	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+
<i>Lepidium sativum</i> (Graines)	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+++ : Très forte agglutination

++ : Forte agglutination

+ : Faible agglutination

Résultats et discussion

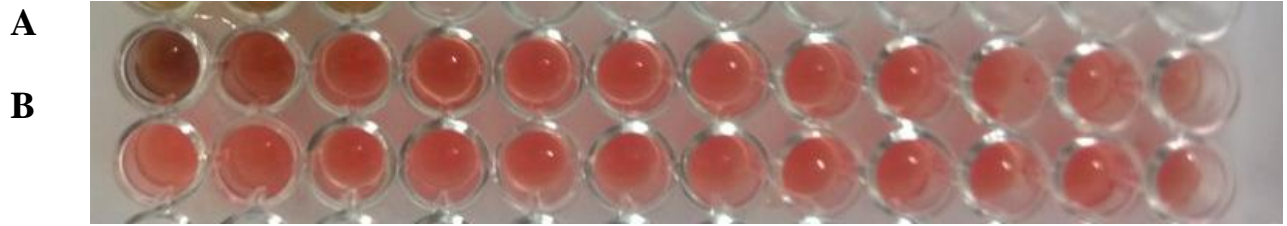


Photo 03 : test de la limite d'agglutination d'*Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B)

Nos résultats ont montrées que l'activité agglutinante des extraits d'*Agaricus bisporus* (A), a été de 2 ;12 (4096 UH. ml⁻¹) tandis que les extrais *Lepidium sativum* a été de 1 ;12 (4096 UH. ml⁻¹). Ce résultat est semblable aux extraits de *Geotrupes stercorarii* (P. RAMA DEVI, ET AL.)

3. L'effet de la température sur l'hmagglutination

Tableau 09: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d'*Agaricus bisporus* *Lepidium sativum*

Température	40°C	60°C	80°C	90°C
Extrait				
<i>Agaricus bisporus</i> (A)	+++	+++	+++	+++
<i>Lepidium sativum</i> (B)	+++	+++	+++	+++

+++ :très forte agglutination.

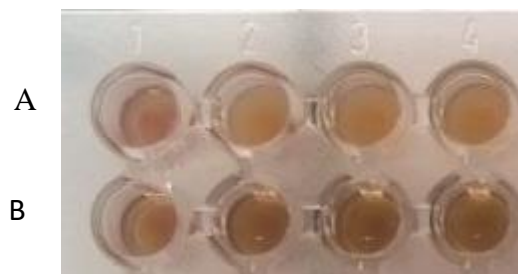


Photo 04 : l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B)

Résultats et discussion

En incubant nos extraits à différentes températures 40,60,80,90°C, *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B) ont une résistance allant jusqu'à 90°C. Ce résultat indique que nos hémagglutinines sont très résistantes à la température, comme est le cas des 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'agglutination :

Tableau 10 : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium Sativum*

PH \ Extrait	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Agaricus bisporus</i>	+	+	+	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+
<i>Lepidium Sativum</i>	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	-

+++ : Très forte agglutination .

++ : Forte agglutination

+ : Faible agglutination.

- : Absence d'agglutination.



Photo 05 : l'effet du pH sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B)

L'activité d'agglutination des lectines d'*Agaricus bisporus* (plante) est stable dans un intervalle allant de [4 à 11] alors qu'elle est plus faible de [1 à 3] et à pH 12.

L'extrait de *Lepidium Sativum* reste stable dans une large gamme du pH de [2 à 7], avec une perte totale d'activité à pH 12 et faible et de [8 à 11] ce qui est en accord avec celle trouvée avec la lectine de *Geotrupes stercorarius* (P. RAMA DEVI, ET AL.).

Résultats et discussion

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

Le test d'inhibition a été effectué avec certain sucre simple et de glycoprotéines pour déterminer la spécificité des extraits en sucre

Tableau 11 : Inhibition de l'activité d'agglutination par des sucres simples

Extrait	<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Lepidium Sativum</i>
Monosaccharide		
Glucose	+	+
Galactose	+	-
Melibiose	+	+
Fructose	+	+
Arabinose	+	+
Glucosamine	+	+

+ : Faible agglutination

- : Absence d'agglutination

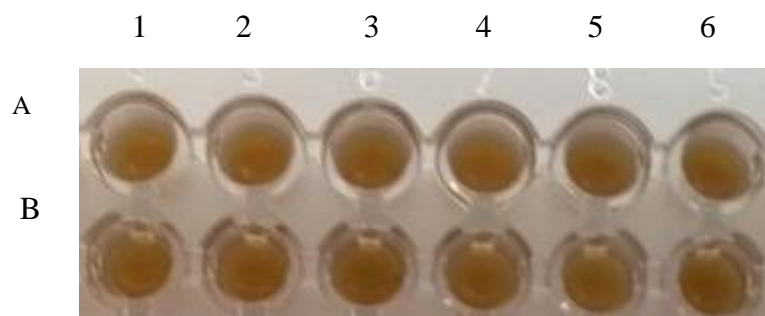


Photo 06: Le test d'inhibition d'agglutination par les saccharides *Glucose* (1), *Galactose* (2), *Melibiose*(3), *Fructose* (4), *Arabinose* (5), *Glucosamine*(6) sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B)

Résultats et discussion

L'extrait d'*Agaricus bisporus* ont montré une agglutination avec tous les sucres testés. C'est le cas des lectines purifiées à partir des graines de *Phaseolus acutifolius* (Valadez *et al*, 2011) et à partir de bactérie *Canavalia ensiformis* (Kulkarni *et Tayade*, 2013).

Les extraits *Lepidium Sativum* ont montré une agglutination avec tous les sucres testés sauf le galactose qui a donné une agglutination.

Tableau 12 : Inhibition de l'activité d'agglutination par les glycoprotéines

Extrait	<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Lepidium Sativum</i>
Glycoprotéines		
Fetaine	++	++
Caseine	+++	+++

+++ : Forte agglutination

++ : Agglutination.

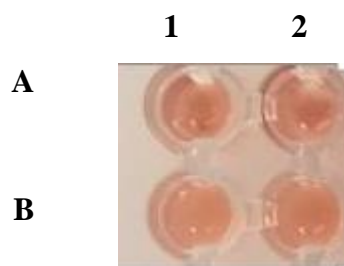


Photo 07: l'effet des glycoprotéines *Fetaine* (1), *Caseine* (2) sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A), *Lepidium sativum* (B)

L'extrait *Agaricus bisporus et Lepidium sativum* n'a montré aucune inhibition avec les glycoprotéines, , ce resultat est en accord avec *Pistacia Lentiscus* (Necib *et al.*,2015)

6. Le test de limite d'inhibition d'agglutination par les saccharides

Tableau 13 : Les concentrations minimales en galactose provoquant l'inhibition d'agglutination d'extrait de *Lepidium sativum*

Dilution \ Saccharide	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
Galactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+:Faible agglutination

- :Absence d'agglutination.



Photo 08: Le test de limite d'agglutination par le galactose des extraits *Lepidium sativum*

L'extrait *Lepidium sativum* a démontré une inhibition avec un certain sucres (galactose) ce qui prouve la différenciation de ses récepteurs.la concentration minimale a été calculée avec le galactose et a été démontré qu'elle été $< 0,000024$ g/ml au niveau du dernier puits , en utilisant une concentration initiale de 0,1g/ml , ce qui indique que le galactose est un très fort inhibiteur.

Résultats et discussion

7. Le Test des métaux (oligoéléments) (même test que hmed)

Tableau 15 : Résultats du test des métaux avec *Agaricus bisporus* , *Lepidium sativum*

Oligoéléments Extrait	EDTA	MnCl ₂	CaCl ₂	FeCl ₂	MgCl ₂
<i>Agaricus bisporus</i>	++	++	+	++	+
<i>Lepidium Sativum</i>	++	+	++	++	+

+++ : Très forte agglutination .

+ : Faible agglutination .

- : Absence d'agglutination.

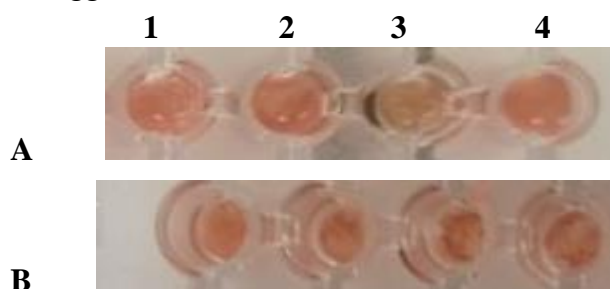


Photo 09: l'effet des métaux *MnCl₂* (1), *CaCl₂* (2), *FeCl₂* (3), *MgCl₂* (4), sur l'activité agglutinante des extraits *Agaricus bisporus* (A) , *Lepidium sativum* (B)

L'agglutination n'a pas été influencée par l'addition de Ca²⁺ , Mn²⁺, Mg²⁺ ou de l'agent Chélatant EDTA, ce qui suggère que les cations divalents ne sont pas essentiels à l'activité agglutination, Ces résultats sont cohérents avec les études menées sur *Geotrupes Stercorarius* (Deviet *al*, 2014), et *Clarias gariepinus* (Odekanyin *et* Kuku, 2014).

8. Le test les hématies humaines ABO :

Tableau 16 : L'agglutination des hématies humaines (A,B,O,AB) par l'extrait brute d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium Sativum*

Groupe sanguin Extrait	A	B	O	AB
<i>Agaricus bisporus</i>	++	++	++	++
<i>Lepidium Sativum</i>	++	++	++	++

. ++ : Forte agglutination.

Les extraits d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium sativum* agglutinent avec tous les types de groupe sanguins humains, Ce résultat est en accord avec les études réalisées sur *Diplotaxis assurgens*, *Raphanus sativus*, *Brassica tournifortii* et *Geotrupes Stercorarius* (Devi et al, 2014 , Deeksha et al, 2015) respectivement qui ont la même Propriété. Sur la base de ces résultats nous pouvons classer les lectines d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium sativum* dans la catégorie des lectines Agglutinent les érythrocytes de tous les groupes Sanguins humains, qui sont généralement Désignées comme non spécifique.

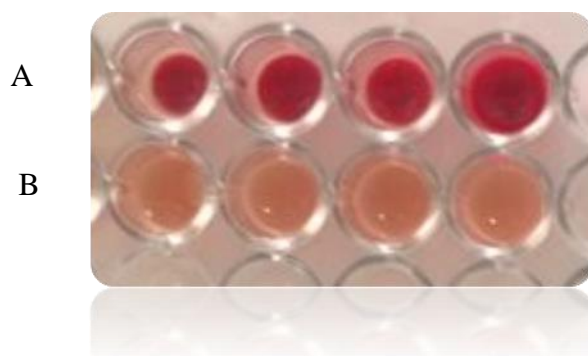


Photo 10: L'agglutination des hématies humaines (A,B,O,AB) par l'extrait brute d'*Agaricus bisporus*(A) et *Lepidium sativum* (B)

Résultats et discussion

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

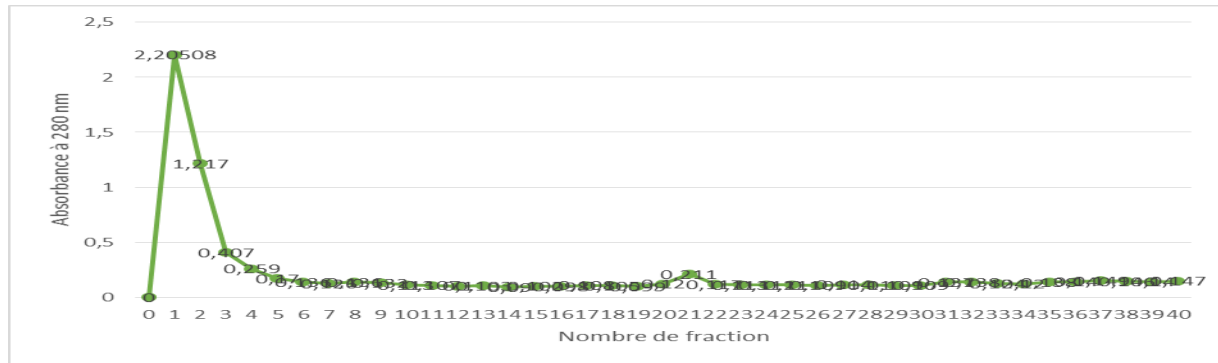


Figure 08 : La filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G75 de l'extrait *Lepidium sativum*

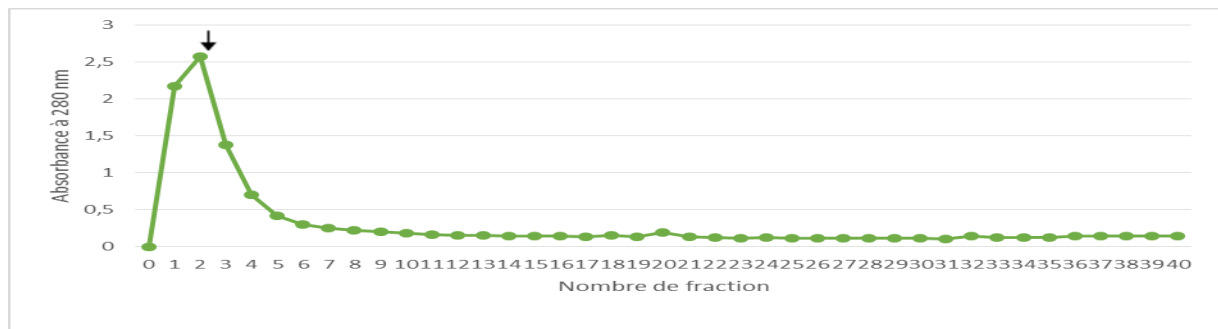


Figure 09 : La filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G75 de l'extrait *Agaricus bisporus*

Eluant : PBS (pH7, 4).

Absorbance à 280 nm.

Volume de la fraction : 3 ml.

Les résultats de séparation en utilisant le séphadex G 75 ont montrés un bon fractionnement des extraits (pics séparées), dont *Agaricus bisporus* et *Lepidium sativum* ont donner un seul pic chacun , ce résultat est en accord avec celle des lectines de *Cyperus Rotundus* et *Pistacia Lentiscus* en marquer un seul pic (Necib *et al.* 2015).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Ces dernières années, de nombreux chercheurs ont été vraiment intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, qui sont comme de véritables usines chimiques dont il faut tirer un maximum de profit.

A l'issue de ce travail, une étude d'extraction de nouvelles lectines des espèces *Lepidium sativum* (Graines), *Agaricus bisporus* (Plante) a été réalisée. La recherche des lectines à partir de notre plantes a conduit à une activité d'agglutination.

1. Les extraits d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium Sativum* agglutinent avec tous les types de groupe sanguins humains, Alors nous pouvons classer les lectines d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium Sativum* dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains, qui sont généralement désignées comme non spécifique.

 - Nos résultats indiquent que les lectines d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium Sativum* sont thermorésistants et plus résistant à la température.
 - Nôtres lectines ont été partiellement purifiées par chromatographie échangeuse d'ions en utilisant le cellulose DEAE.
 - La chromatographie sur sephadex G75 a donné un seul pic pour d'*Agaricus bisporus* et *Lepidium sativum*.
 - L'extrait d' *Agaricus bisporus* ont montré une inhibition avec tous les sucres testés.
 - L'extrait *Lepidium Sativum* ont montré une inhibition avec tous les sucres testés sauf le galactose qui a donné une agglutination.
 - Les perspectives à court terme de ce travail sont nombreuses. La purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC, la détermination des poids moléculaire des lectines par électrophorèse et leur séquençage, Des tests de l'activité antivirale, l'activité anticancéreuse.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- A**bourashed EA, El-Alfy AT, Khan IA et Walker L.(2003).Ephedra in perspective—a current review. *Phytother. Res.* Vol. 17. PP 703-712 .
- Abuja PM, Albertini R. (2001).** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins.*Clinica Chimica Acta.* 306, 1-17.
- Ait Youssef M. (2006).**Plantes Médicinales de Kabylie.IBIS.Paris.
- Albert L. (1998).** La santé par les fruits. Ed. Veechi. Paris. 44-74 p.
- Alencar NM, Cavalcante CF,Vasconcelos MP, Leite KB, Aragao KS, Assreuy AM, Nogueira NA, Cavada BS and Vale MR. (2005).** Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J Pharm Pharmacol.*(57) , 919-922.
- Al-Qarawi AA, Abd Allah EF et Hashem A. (2012).** Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus* . *Pak. J. Bot.*Vol. 44.N°1. pp. 425- 428 .
- AL-Qarawi AA, Abd_Allah EF et Abeer H. (2011).** *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research,* Vol. 5. N°16. pp. 2297-2303 .
- Andrew S A, Randy C F, Xiuli D, Yau SC, Wenliang P, Tzi BN. (2014) .**Purification and Characterization of a Glucosamine- Binding Antifungal Lectin from *Phaseolus vulgaris* cv. Chinese Pinto Beans with Antiproliferative Activity Towards Nasopharyngeal Carcinoma Cells. *Appl Biochem Biotechnol.*172, 672–686.
- Angel GR, Vimala B, Nambisan B ,Phytopharm.(2013).**4(1), 96-105.
- ARAGAO K S. (2009).** études structure-fonction de lectine (Disc I et Disc II) de *Disctyostelium discoideum*. *Biomolécules.* Université Joseph-Fourier-Grenoble I. France. Pp:17-27.

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

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

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

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

Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences* n°3.22, 266-72.

Baskin SI, Salem H. (1994). *Oxidant, Antioxydant and Free Radicals.* Academic press Inc. 363, pp 25-62.

Beaudeau JL, Delattre J, Peynet J. (2003). Lipoprotéines et athérosclérose : mécanismes moléculaires et cellulaires. In : Delattre J, Durand G, Jardillier JC. *Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires.* Médecine-Sciences Flammarion.Paris. pp 91-107.

Benchelah AC et Maka M. (2008). Les Dattes, intérêt et nutrition. *Phytothérapie (ethnobotanique).* 6,117 -121.

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/ Nacétylgalactosamine lectin : the coordinator of host cell killing. *J. Biosci* 27 , 553-557.

Bonnefont-Rousselot D, Théron P, Beaudeau JL, Peynet J, Legrand A, Delattre J.

(2001). Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ? . Ann Biol Clin. 59(4), 453-459.

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

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

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.

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

Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget JP, Ravanat JL, Sanvaigo.

(1999). Hydroxyl radicals and DNA base damage. Mutat. 424, 9-21.

Cappelli A. (1984). Fungi Europaei:Agaricus (in Italian). Saronno, Italy: Giovanna Biella. pp. 123–25.

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

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

Chaudhary H, Sood N. (2008). Purification and partial characterization of lectins from in vitro cultures of *Ricinus communis*. Plant Tissue Cult & Biotech 18(2) ,89-102

Cherian MG, Hursh JB, Clarkson TW, Allen J. (1978). Radioactive mercury distribution in biological fluids and excretion in human subjects after inhalation of mercury vapor. *Arch Environ Health.* 33, 109–14.

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

Chung YC, Chang CT, Chao WW, Lin CF, Chou ST, (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* pp 2454–2458.

Coskuner Y, Tekin A, (2003) . Seed composition of prickly pear fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* pp 846-849.

Crocker, PR. (2002) .Siglecs: sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in cell-cell interactions 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.

Curtin J F, Donovan M, Cotter TG. (2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J of Imm Methods.* 265, 49-72.

Dam 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(16) ,402-409 .

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

Deeksha M, Sangha K, Khurana D S, Kaur G, Bala M, Singh B. (2015) .Screening for Lectin Quantification in Brassica Spp and Vegetable Crops. *Journal of Environmental and Applied Bioresearch.* 3(1) , 20-24.

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

Delattre J. (2005). Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris – new york. pp 620.

Derbel S, Touzard B, Triki MA et Chaieb M. (2010) .Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora.* Vol. 205, pp 471–474 .

Devi PR, Kombiah P, Sudhakar R G, Babu G. (2014) . Purification And Characterization Of A Novel Lectin From *Geotrupes Stercorarius*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research.* 15 (2), 157-162.

Diana XD. (1988). Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic response in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water . *Toxicol Environ Health.* 24(3), 357-72.

Djerbi M. (1994). Précis de phéniculture, F.A.O, Rome. P191 .

Djouab A. (2007). Contribution à l'identification des constituants mineurs de la datte Mech-Degla. *Memoire de Magister.option génie alimentaire. Université de Boumerdès .pp 24 .*

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

Drickamer K. (1993) . Ca²⁺-dependent carbohydrate-recognition domains in animal proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3, 393-400.

Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, Avimadj M. (2008). Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine.* Gvozdjakova A (ed) pp 19-43.

Edelman GM, Cunningham BA, Reeke GN, Becker JW, Waxdal MJ and Wang

JL. (1972) . The covalent and three-dimensional structure of concanavalin 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.

Ennouri M, Evelyne B, Laurence M, Hammadi A. (2005) . Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. Food Chemistry. pp 431-437.

Espiard E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc. Lavoisier. Paris. pp 147-155.

Essig DA and Nosek TM. (1997). Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species. Can J Appl Physiol. 22, 409-428.

Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Rad Biol Med. 13, 341 - 349.

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.

Evans WC. (2009) .Trease and Evans' Pharmacognosy. Saunders (16eme Ed).

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

Favier A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Ann Biol Clin. 55 (1), 9 - 16.

Favier A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'act Chim. 108 - 115.

François Couplan, Les plantes et leurs noms. Histoires insolite, Éditions Quae, 2012 ([archive]), p. 95.

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

- Gajula D, Verghese M, Boateng J, LT Walker LT, Shackelford L, Mentreddy SR, Cedric S.(2009).** Int J of Cancer Res.5: 130-143.
- Galan P, Preziosi P, Triol I. (1997).** Antioxydant et prevention cahiers de nutrition et de diététique. 359-370.
- Garrel C, Ceballos-Picot I, Germain G, Al-Gubory K H. (2007).** Oxidative stressinducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2alpha-induced luteal cell death in vivo. Free Rad Res. 41, 251-9.
- Ghopskins W, Evrard C-M. (2003).** Physiologie Végétale. DE BOECK.1ère édition , 104-105.
- Ghourri M, Zidane L, Douira A. (2013).**Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). Journal of Animal &Plant Sciences.Vol.17, pp 2388-2411.
- Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S et al. (2008).**Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract ankaferd blood steeper. Jint. Med. Res (36) , 163-170.
- Goldstein I J , 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-chimical, characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins In Liener I. The lectin: properties, function and applications in biologie and médecine. 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(2) ,770-778.
- 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 des carcinomes mammaires. *Bull Cancer*. 91, 141-158.

Gutteridge J. (1992). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Rad Res Comm*. 19, 598-620.

Han H J, Jung M G, Kim M J, Yoon S K, Lee P K, Kim G H.(2010). Purification and characterization of a D-mannose specific lectin from the green marine alga, *Bryopsis plumosapre*. *Phycological Research*. 58,143–150.

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

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

Holzenberger M, Dupont J, Ducos B, Leneuve P, Geloën A, Even PC, Cervera P, Le bouc Y. (2003). IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nat*. 421(6919), 182-187.

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 *Eriocheir sinensis*. *Dev. Comp. Immunol*. 2014. 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.

Jaccot B et Campillo B. (2003). Nutrition humaine. Ed. Masson. Paris. pp 311 .

Jaffe WG. (1980). hemagglutinins (Lectins) . In toxic constituents of plant foodstuffs. New – York. Academic Press. pp 502.

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

Jenkins AJ, Hill MA, Rowley KG. (2007). Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. Holtzman J.L (ed) pp123-160.

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

Ji LL, Fu R, Mitchell EW. (1992) . Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. J Appl Physiol. 73, 1854-1859.

Kagi J H R. (1993). Evolution ,structure and chemical activity of class 1 metallothioneins: an overview. in: Suzuki. KT. Imura. N. Kimura.M. (Eds), Metallothionein III: Biological roles and medical implications. Birkhauser verlag. Berlin.29-56.

Kalinowski L, Matys T, Chabielska E, Buczek W, Malinski T.(2002). Hyp. 40: 521–527.

Kaminski PA , Buffard D et Strosberg A D. (1987). The pea lectin gene family contains only one functional gene. Plant molec. Biol. Vol. 9.N°5, pp 497-507.

Kawsar S A, Aftabuddin S, Yasuimitsu H, Ozeki Y. (2010). The cytotoxic activity of two D-galactose binding lectins purified from marine invertebrates. Arch. Biol. Sci. Belgarde 62(4), 1027-1034.

Kehrer JP. (1993). Free radcals as mediators of tissue injury and disease. Crit Review in Toxicol. 23 (1), 21-48.

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

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

Kulkarni S R, Tayade V J. (2013). Bacteriostatic activity of CON A lectin from *Canavalia ensiformis*. *Indian J. Pharm. Biol. Res.* 1(4),59 -63.

Lazo JS, Pitt BR. (1995). Metallothionein and cell, death by anticancer drug. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 35, 655-677.

Leffler H , Carlsson S, Hedlund M, Qian Y and Poirier F. (2004). Introduction to galectins. *Glycoconj. J.* 19, 433-440.

Lehucher-Michel MP, Lesgards JF, Delubac O, Stocker P, Durand P, Prost M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse méd.* 30, 1076-1081.

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

Levine RL. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease. *Free Radic Biol Med.* 32, 790-796.

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

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

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

Lucienne D. (2007).Les Plantes Médicinales de l'Algérie.Berti.

Marnett L J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by Malondialdehyde. *Mutat Res.* 424, 83-95.

Martínez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Bioch.* 77, 147-161.

Meite A , Kauame K G , Kati-Coulibaly S. (2006). Substances antinutritionnelles. Méd.Nut 42(4), 179-187.

Milbury P E et Richer A C. (2008). Understanding the Antioxidant Controversy.Ed: PRAEGER. pp 81-100.

Montagnier L, Olivier R, Pasquier C. (1998). Oxidative stress in cancer. AIDS, and neurodegenerative diseases. Free Radic Biol Med. 22, 359-378.

Mukherjee S , Zheng H , Derebe M G, Callenberg K M , Partch C L, Rollins D , Propheter D C, Jiang Q X.(2014). Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. Nature. 505, 103–107.

Murdock LL, Shade RE .(2002). Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insectects. J.Agric. food. Chem. 50 (22),6605-6611 .

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

Nair J, Barbin A, Velic I, Bartsch H. (1999). Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. Mutat. 424, 59-69.

Nawwar M A M, El-Sissi H I , Barakat H H.(1984).Flavonoid constituents of Ephedra alata. Phytochemistry.Vol. 23. N°. 12, pp 2937-2939 .

Necib Y, Bahi A, Merouane F, Bouadi H, Boulahrouf K. (2014). Immunomodulatory activity of lectin extrated from THE RED MARINE ALGA PTEROCLADIELLA CAPILLACEA .Volume 4. Issue 1, 1693-1706.

Necib Y, Bahi A, Merouane F, Bouadi H and Boulahrouf K. (2014). Comparative Study of a new lactin extrated from roots of plants: Cyperus rotundus, Pistacia lentiscus and Ruta Graveolens.Volume 4. Issue 1, 1720-1733.

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

Necib Y, Bahi A , Merouane F , Bouadi H , Boulahrouf K.(2015). immunomodulatory activity of lectin extracted from the red marine alga *pterocladia capillacea*. World Journal of Pharmaceutical Research. 4(1), 1693-1706.

Necib Y, Bahi A, Merouane F, Bouadi H , Boulahrouf K. (2016).Antioxydant ,Anti-inflammatory and antimicrobial properties of new lectins purified from roots of Algerian plants: *Morus Nigra*, *Ruta Graveolens*, *Cyperus Rotundus* and *Pistacia Lentiscus*. World Journal of Pharmaceutical Research. 5(2), 39-53 .

Necib Y , Bahi A, Derri N, Merouane F, Bouadi H, Boulahrouf K.(2015). Immunomodulatory Activity Of Lectin Extracted From Bark Of The Black Mulberry (*Morus Nigra*). World Journal of Pharmaceutical Research. 4(1) , 1707-1719.

Odekanyin O O, Kuku A. (2014). caracterization of galactosespecific lectin from the skin mucus of african catfish *clarias gariepinus burchell*. 1822. Acadimic jornsals. 9(20), 869-879.

Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Simons A. (2009). Agroforestree Database: a tree reference and selection guide version 4.0 .

Ould El Hadj MD, Hadj-Mahammed M et Zabeirou H. (2003). place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional est). Courrier du savoir. n°3, pp 47-51 .

Ozenda P. (1991). Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique. Paris (3éme Ed.),pp 662.

Packer T, Ritschler HJ, Wessel K. (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. Free Radic Biol Med. 22, 359-378.

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

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

Pimienta-Barrios E.(1993). Vegetable cactus (Opuntia). In Underutilized Crops: Pulses and Vegetables. Ed J. Williams. London.UK. pp 177-191.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. Vaiss Coeur Poumons. 4(5), 359-370.

Piquet M A et Hébuterne X. (2007). Nutrition en pathologie digestive . Ed : DOIN .pp 16-20.

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.pp 35-50.

Pontet M. (1996). Structure et activité biologique d'une nouvelle famille de lectines animales: les galectines. Immunoanal.Biol. Spéc 11,297-305.

Powers SK , Lennon SL. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. Proc Nutr Soc. 58, 1025-1033.

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. PP 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. Vol. 86. Suppl. II, 211-218.

Reyes-Aguero JA, Aguirre JR, Valiente-Banuet A. (2006). Reproductive biology of Opuntia: A review. Journal of Arid Environments. pp 549-585.

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.

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. 121, 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.

Sen CK. (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction. Med Sci Sports Exer. 33 (3), 368-370.

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

Sharon N. (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(1), 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*, 2004. 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.

Sies H. (1993). Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Amer J of Med*. 91, 31S-38S.

Simonian N A, Coyle JT. (1996). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann review of Pharmacol and Toxicol*. 36, 83-106.

Singh U, Devaraj S and Jialal I. (2005). Vitamine E, Oxidative stress, and inflammation. *Ann Rev of Nut*. 25, 151-175.

Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad Biol Med*. 33 (5), 575-586.

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 SLex and PSGL-1. *Cell*. 103, 467-479.

Sorg O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Ren a Biol*. 327, 649-662.

Souza ME, Pinto MM.(2005) Síntesis of xanthones: an overview. *Curr Med Chem*, 12: 2447–2479.

Stevnsner T, Tharslund T, De souza-pinto NC, Bohr VA. (2002). Metochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp Gerontol*. 37, 1189-1196.

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(2), 227-237.

Sutapa B M, Gopa R P. (2013). exploring plant lectines in diagnostic. Pophylaxis and therapie. Journal of medicinal plants research.7(47),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.y. 92, 1193-1202.

Sadananda T S, Govindappa M and Ramachandra Y L. In vitro Antioxidant Activity of Lectin from Different Endophytic Fungi of Viscum album L. British Journal of Pharmaceutical Research. 2014 .4(5), 626-643 .

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 , Ekhlasi-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.

Valadez 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, 2011. 16, 2561-2582.

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

Vandamme E J, Peumans W J , Barre A, Rougé P.(1998). Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. Critical Reviews in Plant Sciences.17(6) , 575-692.

Velasquez (Ernesto). (1998).El Nopal y su historia, Clio, Mexico (1998).

Vican P. (2001).Encyclopédie des plantes médicinales.2.Ed. Larousse. Paris.

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

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

Weis W I , Brunger A T, Skehel J J and Wiley D C. (1990). Refinement of the influenza virus hemagglutinin by simulated annealing. J Mol Biol.212, 737-761.

Welch WJ. (1992). Mammalian stress response: cell physiology, structure,function of stress proteins, and implications for medicine and disease. Physiol Rev. 72, 1063-1081.

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 model. Structure.4,1339-1352.

X **u 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 hemocyte phagocytosis. Dev. Comp. Immunol. 2014. 44, 397–405 .

Y **eh 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 .

Yıldırım A, Mavi A, Oktay M, Kara AA, Algur OF, Bilalolu V.(2000). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tilia argentea* Desf Ex DC), sage (*Salvia triloba* L) and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. Journal of Agriculture and Food Chemistry.48, 5030-5034.

Z **elko IN, Marian TJ, Folz RJ. (2002).** Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free Rad Biol & Med. 33. 337-349.

Références bibliographiques

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.* 2012. 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 ₂ HPO ₄)	0,435 g
Monosodium phosphate (NaH ₂ PO ₄)	5 g
Chlorure de sodium (Na Cl)	45 g
Eau distillée	5 L

Annexe 02:

Préparation des Monosaccharides et glycoprotéines .

- Préparation des monosacchari et desglycoprotéines .

Sucre/glycoprotéines	Na Cl
0,1 g	1 ml

Annexe 03 : Préparation des Métaux et NaCl.

- Préparation des métaux (0,1M)

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

- Préparation du NaCl 0,9 M :

NaCl	Eau distillée
0,9	0,1L

Résumé :

Ces dernières années, de nombreux chercheurs ont été vraiment intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, qui sont comme de véritables usines chimiques dont il faut tirer un maximum de profit.

A l'issue de ce travail, une étude d'extraction de nouvelles lectines des espèces Lepidium sativum (Graines), Agaricus bisporus (Plante) a été réalisée. La recherche des lectines à partir de notre plantes a conduit à une activité d'agglutination.

1. Les extraits d'Agaricus bisporus et Lepidium Sativum agglutinent avec tous les types de groupe sanguins humains, Alors nous pouvons classer les lectines d'Agaricus bisporus et Lepidium Sativum dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains, qui sont généralement désignées comme non spécifique.
- Nos résultats indiquent que les lectines d'Agaricus bisporus et Lepidium Sativum sont thermorésistants et plus résistants à la température.
 - Nôtres lectines ont été partiellement purifiées par chromatographie échangeuse d'ions en utilisant le cellulose DEAE.
 - La chromatographie sur sephadex G75 a donné un seul pic pour d'Agaricus bisporus et Lepidium sativum.
 - L'extrait d'Agaricus bisporus ont montré une inhibition avec tous les sucres testés.
 - L'extrait Lepidium Sativum ont montré une inhibition avec tous les sucres testés sauf le galactose qui a donné une agglutination.
 - Les perspectives à court terme de ce travail sont nombreuses. La purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC, la détermination des poids moléculaire des lectines par électrophorèse et leur séquençage, Des tests de l'activité antivirale, l'activité anticancéreuse.