

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

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

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude de l'effet immunomodulateur des lectines extraites à partir de la
plante : *Narcissus tazetta* avec des tests biologiques**

Présenté par :

Mebarek Rayene

Medjroubi Sofia Chahinez

Jury d'évaluation :

Encadrant : Mme BAHY A

(MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mr NECIB Y

(Pr- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mme DJEMAI ZOUGHLACHE S

(MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

*Année universitaire
2021 - 2022*

Remerciement

Tout d'abord nous remercions Le Bon Dieu Le Tout Puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour terminer nos études, ainsi que nos parents qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite.

Nos vifs remerciements s'adressent à notre encadrant Mme Bahi A pour sa patience, ses conseils et ses corrections. Elle nous a guidées tout au long de ce travail. À lui, nous exprimons notre profond respect.

Nos profonds remerciements vont aux membres de jury qui nous ont consacré leurs temps précieux pour lire ce modeste travail.

Un remerciement particulier à Mme B.Sanaa pour sa disponibilité, leur témoignage et sa gentillesse. Elle nous a aidées pour réaliser les objectifs de cette étude.

Enfin, nous remercions infiniment tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cet humble travail.

Merci

Dédicace

À nos parents biens aimés

À nos chers frères et sœurs

Résumé

Les lectines forment une famille de protéines ubiquitaires d'origine non immunitaire, qui se lient de manière réversible et spécifiquement aux hydrates de carbone. Notre étude est basée sur la recherche, l'extraction, et l'étude des différentes spécificités des lectines contenues dans les fleurs d'une plante médicinale : *Narcissus tazetta* Par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par la chromatographie sur colonne.

Le traitement thermique des lectines de *Narcissus tazetta* du 40°C jusqu'à 100°C n'a pas été suffisant pour inactiver totalement. L'activité hémagglutinante de la plante reste stable toute au long de la gamme du pH de 1 à 7. Le test d'inhibition avec différents monosaccharides a montré que les lectines de *Narcissus tazetta* ont été spécifiquement et seulement inhibées par le glucose et le manitol.

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

Les résultats de l'activité immunomodulatrice ont montré que notre lectine a un effet positif sur l'activité phagocytaire des souris testées.

Mots clés : Lectines, Extraction, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, activité immunomodulatrice.

Abstract

Lectins are a family of ubiquitous proteins of non-immune origin, which bind reversibly and specifically to carbohydrates. Our study is based on the research, extraction, and study of the different specificities of lectins contained in the flowers of a medicinal plant: *Narcissus tazetta* by the hemagglutination test and their biological study. The extraction was done by grinding and maceration in a buffer solution followed by column chromatography.

Heat treatment of *Narcissus tazetta* lectins from 40°C to 100°C was not sufficient to fully inactivate. The hemagglutinating activity of the plant remained stable throughout the pH range of 1 to 7. The inhibition test with different monosaccharides showed that the lectins of *Narcissus tazetta* were specifically and only inhibited by glucose and manitol.

For the ABO test, the lectins extracted from our plant have no specificity towards human blood groups.

The results of the immunomodulatory activity showed that our lectin has a positive effect on the phagocytic activity of the tested mice.

Key words: Lectins, Extraction, Hemagglutination, ABO system, Inhibition, immunomodulatory activity.

ملخص

اللكتينات هي عبارة عن مجموعة من البروتينات من أصل غير مناعي والتي ترتبط بشكل عكسي بالكربوهيدرات على وجه التحديد. تعتمد دراستنا على البحث والاستخلاص ودراسة الخصائص المختلفة للكتينات الموجودة في أزهار نبات طبي

Narcissus tazetta

بواسطة اختبار التراص الدموي ودراستها البيولوجية. تم الاستخلاص عن طريق الطحن والنقع في محلول ملحي متبوعاً بالعمود الكروماتوغرافي.

المعالجة الحرارية للمستخلص من 40 درجة مئوية إلى 100 درجة مئوية لم تكن كافية لإبطال مفعولها تماماً. يظل نشاط التراص الدموي للنبات مستقرًا عند درجات الحموضة من 1 إلى 7. أظهر اختبار التثبيط باستخدام السكريات المختلفة أن لكتين النرجس تم تثبيطه بشكل خاص بواسطة الجلوكوز والمانيتول .

بالنسبة لاختبار *ABO*

فإن الليكتين المستخرج من نباتنا ليس له خصوصية فيما يتعلق بفصائل الدم البشرية. أظهرت نتائج النشاط المناعي أن الليكتين المدروس له تأثير إيجابي على نشاط البلعمة للفئران المختبرة.

الكلمات المفتاحية: اللكتينات ، الاستخلاص ، التراص الدموي ، نظام ، التثبيط ، النشاط المناعي.

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Revue bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les lectines

| | |
|---|---|
| 1. Définition des lectines | 1 |
| 2. Historique des lectines | 2 |
| 3. La structure des lectines..... | 3 |
| 3.1 Les lectines simples | 3 |
| 3.2 Les lectines en mosaïque..... | 4 |
| 3.3 Les assemblages macromoléculaires..... | 5 |
| 4. La spécificité et l'affinité des lectines..... | 5 |
| 5. Les sites de liaisons des lectines | 6 |
| 6. Les types des lectines..... | 6 |
| 6.1 Les lectines végétales..... | 7 |
| 7. La classification des lectines..... | 7 |
| 7.1 Chez les animaux..... | 7 |
| 7.2 Chez les végétaux..... | 7 |
| 7.2.1 Les mérolectines..... | 7 |
| 7.2.2 Les hololectines..... | 8 |
| 7.2.3 Les superlectines..... | 8 |
| 7.2.4 Les chimérolectines..... | 8 |
| 8. Les fonctions des lectines..... | 9 |

Chapitre II : Généralités sur la plante

| | |
|--|----|
| 1. Généralité..... | 12 |
| 2. Noms commun..... | 12 |
| 3. Classification scientifique..... | 12 |
| 4. Description botanique..... | 13 |
| 5. Les propriétés médicinales de <i>Narcissus tazetta</i> L..... | 14 |

Chapitre III: Le système sanguin

| | |
|--|----|
| 1. Historique..... | 15 |
| 2. Le système ABO..... | 15 |
| 3. Les facteurs rhesus..... | 15 |
| 4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO..... | 16 |

Matériels et Méthodes

| | |
|--|----|
| I. Matériels et méthodes des tests phytochimiques..... | 17 |
| 1. Matériel végétal..... | 17 |
| 2. Les méthodes..... | 17 |
| 2.1 La préparation de la plante..... | 17 |
| 2.2 L'extraction de la plante..... | 18 |
| 2.3 Le test d'héماغglutination..... | 18 |
| 2.4 Le test de limite d'héماغglutination..... | 18 |
| 2.5 L'effet de la température sur l'héماغglutination..... | 19 |
| 2.6 L'effet du pH sur l'héماغglutination..... | 19 |
| 2.7 Le test d'inhibition d'héماغglutination par les glucides..... | 19 |
| 2.8 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO..... | 19 |
| 2.9 L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G 150..... | 20 |

II Matériels et méthodes des tests biologiques

| | |
|--|----|
| 1. Test d'activité immunomodulatrice des lectines <i>in vivo</i> | 20 |
|--|----|

| | |
|---|----|
| 1.1 Le traitement des souris..... | 20 |
| 1.2 Prélèvement sanguin..... | 21 |
| 1.3 Activité phagocytaire..... | 21 |
| 1.4 Analyse statistique..... | 21 |
| Résultats et discussion | |
| 1. Le test d'hémagglutination..... | 23 |
| 2. Le test de limite d'hémagglutination..... | 23 |
| 3. L'effet de la température sur l'hémagglutination..... | 24 |
| 4. L'effet du pH sur l'hémagglutination..... | 25 |
| 5. Le test d'inhibition d'hémagglutination par les glucides..... | 25 |
| 6. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO..... | 26 |
| 7. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G 150..... | 27 |
| 8. Activité immunomodulatrice de la lectine de <i>Narcissus tazetta in</i> <i>vivo</i> | 28 |
| 8.1 L'effet d'extrait de <i>Narcissus tazetta</i> sur l'activité phagocytaire..... | 28 |
| 8.2 L'effet d'extrait de <i>Narcissus tazetta</i> sur l'index phagocytaire corrigé..... | 29 |
| Conclusion et perspectives | 30 |
| Références bibliographiques | 31 |
| Annexes | 38 |

Liste des abréviations

Con A : Concanavaline A.

Fuc : Fucose.

JNK : c-Jun N-terminal Kinase.

Gal : Galactose.

GalNac : N-acétylgalactosamine.

Glc : Glucose.

KDa : kilo Dalton.

Man : Mannose.

PAMPs : Pathogen Associated Molecular Pattern.

PBS : Phosphate buffer saline.

R : Rhésus.

RIP : Ribosomin inactivating protein.

TLR : Toll-Like Receptor.

Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 01 : la spécificité osidique de certaines plantes..... | 6 |
| Tableau 02 : principales application des lectines..... | 10 |
| Tableau 03 : l'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de <i>Narcissus tazetta</i> | 23 |
| Tableau 04 : Activité de la limite d'hémagglutination de <i>Narcissus tazetta</i> | 23 |
| Tableau 05 : Effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de <i>Narcissus tazetta</i> | 24 |
| Tableau 06 : Effet du pH sur l'activité agglutinante de l'extrait de <i>Narcissus tazetta</i> | 25 |
| Tableau 07 : Inhibition de l'activité hémagglutinante de la lectine extraite de <i>Narcissus tazetta</i> par les glucides..... | 26 |
| Tableau 8 : Test d'agglutination de l'extrait brut de <i>Narcissus tazetta</i> par les hématies humaine ABO..... | 26 |

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Représentation schématique d'exemple d'interaction lectines-Glucides..... | 1 |
| Figure 02 : historique de lectinology..... | 3 |
| Figures 03 : Représentation graphique d'un monomère de Concanavalline A en Complexe avec de l'acide sialique..... | 4 |
| Figure 04 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus Influenza en complexe avec de l'acide sialique..... | 4 |
| Figure 05 : Représentation schématique de différents fimbriales de la bactérie <i>D'Escherichia coli</i> | 5 |
| Figure 06 : Représentation schématique des types de lectines végétales..... | 9 |
| Figure 07 : la plante de <i>Narcissus tazetta</i> | 12 |
| Figure 08 : Vue latérale d'une fleur sectionnée de <i>Narcissus tazetta</i> à long style..... | 14 |
| Figure 09 : la structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO..... | 16 |
| Figure 10 : représente le matériel végétal de <i>Narcissus tazetta</i> (fleurs)..... | 17 |
| Figure 11 : poudre de la plante <i>Narcissus tazetta</i> | 17 |
| Figure 12 : schéma récapitulatif présentant les différentes étapes de test de l'activité immunomodulatrice <i>in vivo</i> | 22 |
| Figure 13 : Agglutination des lectines extraites de <i>Narcissus tazetta</i> avec une suspension des hématies du lapin..... | 23 |
| Figure 14 : Test de limite d'hémagglutination de <i>Narcissus tazetta</i> | 24 |
| Figure 15 : Effet du pH sur l'activité hémagglutinante de <i>Narcissus</i> | 25 |
| Figure 16 : Test d'inhibition de l'hémagglutinante de la lectine extraite de <i>Narcissustazetta</i> par les glucides..... | 26 |

| | |
|---|----|
| Figure 17 : Courbe d'absorbance de l'extrait de <i>Narcissus tazetta</i> après leur passage à travers la colonne de séphadex G150..... | 27 |
| Figure 18: l'effet de <i>Narcissus tazetta</i> sur l'activité phagocytaire..... | 28 |
| Figure 19 : l'effet de <i>Narcissus tazetta</i> sur l'index phagocytaire corrigé..... | 29 |

Introduction

Introduction

Au cours des deux dernières décennies, la recherche sur les lectines végétales est passée d'une étude analytique vers une étude plus fonctionnelle, visant à déchiffrer l'importance physiologique des lectines dans la plante. Des progrès significatifs ont été réalisés dans la compréhension de l'activité biologique de différentes lectines.

Les lectines sont des protéines naturelles bioactives et des glycoprotéines ayant la capacité de se lier spécifiquement aux sucres (**Kennedy *et al.*, 1995 ; Goldstein *et Hayes*, 1978 ; Lis *et Sharon*, 1977 ; Gallagher, 1984 ; Brown *et Hunt*, 1978**). Ces protéines liant les sucres sont d'origine non immunitaire et peuvent agglutiner les cellules ou précipiter les glycoconjugués (**Goldstein, 1980 ; Nilsson, 2007**). Elles sont présentes dans la nature et sont connues pour jouer un rôle central dans de nombreux processus vitaux (**Kennedy *et al.*, 1995**). Jusqu'à présent, de nombreuses lectines ont été isolées de diverses sources telles que des plantes, des algues, des champignons, des liquides organiques d'invertébrés et de vertébrés inférieurs. Les lectines peuvent être utilisées comme modèles pour étudier les interactions protéine-glucide et comme outil subtil pour analyser les glucides sous forme libre ou liée aux lipides ou aux protéines. En raison de leur spécificité de liaison aux glucides, les lectines sont également utilisées pour délivrer des médicaments sur leur site d'action. De nombreux rapports ont montré les caractéristiques particulières des lectines végétales et animales comme molécules de reconnaissance dans les interactions cellule-molécule et cellule-cellule dans divers systèmes biologiques (**Sharon *et Lis*, 2004**). En outre, elles jouent également un rôle important dans l'élucidation des processus biologiques, du système de diagnostic clinique et de la structure des glucides (**Sharon *et Lis*, 2004 ; Moreira *et al.*, 1991**).

L'objectif principal de ce travail est de chercher la présence de lectine dans l'extrait de *Narcissus tazetta*, l'extraction des lectines à partir de cette plante médicinale et leur étude biologique. Cet objectif se décompose en plusieurs étapes :

- Mettre en évidence la présence des lectines par test d'hémagglutination sur les érythrocytes de lapin.

Introduction

-Inhibition d'héماغglutination en présence de différents monosaccharides pour déterminer la spécificité.

- Etude l'effet de la température et le pH sur l'activité de ces lectines.

-Etude la spécificité de ces lectines vers les globules rouges de l'être humain par le test ABO.

-Réaliser des tests biologiques d'immunomodulation et déterminer l'effet immunomodulateur des lectines de *Narcissus tazetta*.

Chapitre I :
Généralités sur les lectines

1. Définition des lectines

Les lectines sont définies comme étant des protéines d'origine non immunitaire capable de se lier spécifiquement de façon réversible et non covalente à des glucides complexes (Lis et Sharon, 1998). Elles ne montrent aucune activité enzymatique vis-à-vis de leur ligand (Lis et Sharon, 1998). Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Le nom de lectine vient du latin *légère* qui veut dire « sélectionner » ou « choisir », un nom bien approprié pour cette classe de protéines (Boyd et Sharpleigh, 1954). Les lectines sont des molécules ubiquitaires, car elles se retrouvent dans toutes les classes d'organisme, chez les microorganismes chez les plantes chez les insectes et les animaux. Elles sont habituellement formées de deux (dimère) ou quatre (tétramère) sous unités identique (Hopkins et Evrard, 2003). Les interactions sucre-lectine se produisent en général via des liaisons hydrogène, des contacts hydrophobes ou par l'intermédiaire de cations (Kocourek et Horejsi, 1981).

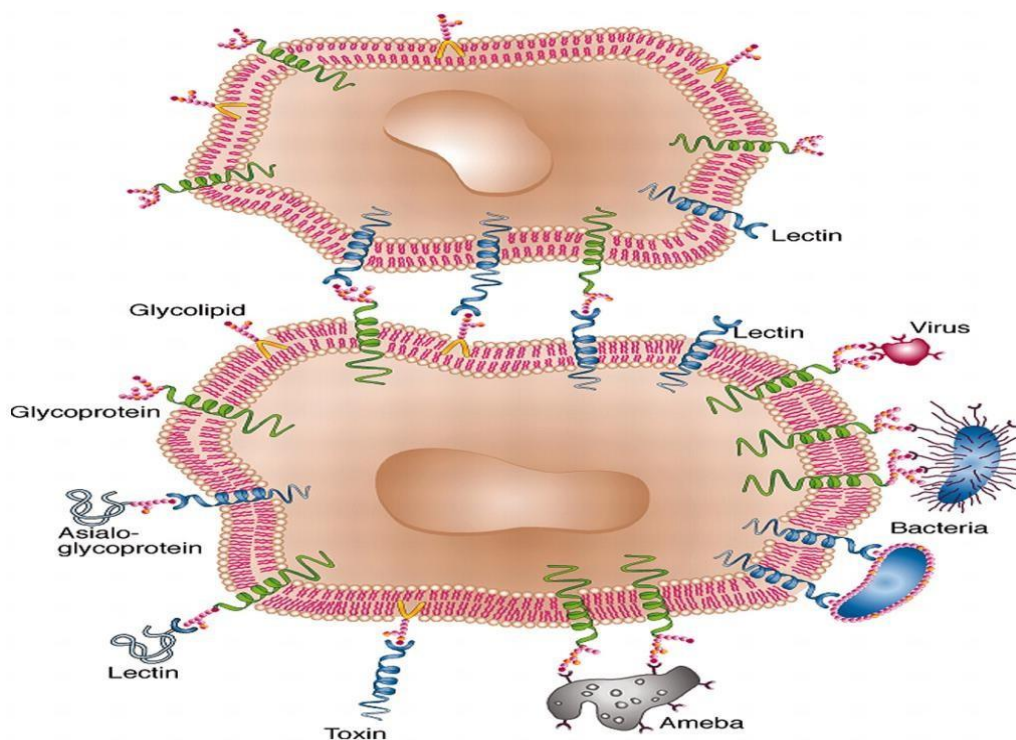


Figure 01 : représentation schématique d'exemple d'interaction lectines-glucides (Sharon et Lis, 2004).

2. Historique des lectines :

Vers la fin du 19^{ème} siècle, les preuves ont commencé à s'accumuler sur la présence dans la nature des protéines possédant la capacité d'agglutiner les érythrocytes. Ces protéines étaient appelées hémagglutinines ou phytoagglutinines, car elles se trouvaient à l'origine dans des extraits de plantes. La première découverte d'une telle hémagglutinine a été faite par Stillmark en 1888 qui décrit dans sa thèse de doctorat que des extraits de graines de ricin (*Ricinus communis*) agglutinaient des érythrocytes et a été nommé ricin (**Sharon et Lis, 2004**). D'autres substances d'origine végétale possédant la même activité sont découvertes après. Par la suite, H. Hellin, a mis en évidence la présence d'une autre hémagglutinine, l'abrine, dans des extraits de (*Abrus precatorius*). C'est d'ailleurs par des recherches menées simultanément avec ses deux lectines qu'Ehrlich établit certains des concepts fondamentaux de l'immunologie telle que la spécificité de la réponse immunitaire, le phénomène de la mémoire immunologique, et le transfert de l'immunité humorale d'une mère à sa progéniture. En 1919, James B. Sumner de l'Université Cornell (Ithaca, New York), isola à partir du (*Canavalia ensiformis*) la première hémagglutinine pure qu'il nomma Concanavaline A (**Sumner, 1919**). Cependant, près de deux décennies se sont écoulées avant que Sumner et Howell ont rapporté que l'hémagglutination par la Concanavaline A était inhibée par le saccharose, démontrant pour la première fois la spécificité glucidique des lectines (Sumner et Howell, 1936). 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 A.B.O) sans affecter les cellules sanguines des autres groupes (**Boyd et Sharpleigh, 1954**). Cette découverte amène Boyd à remplacer le terme d'hémagglutinine par celui de **lectine**.

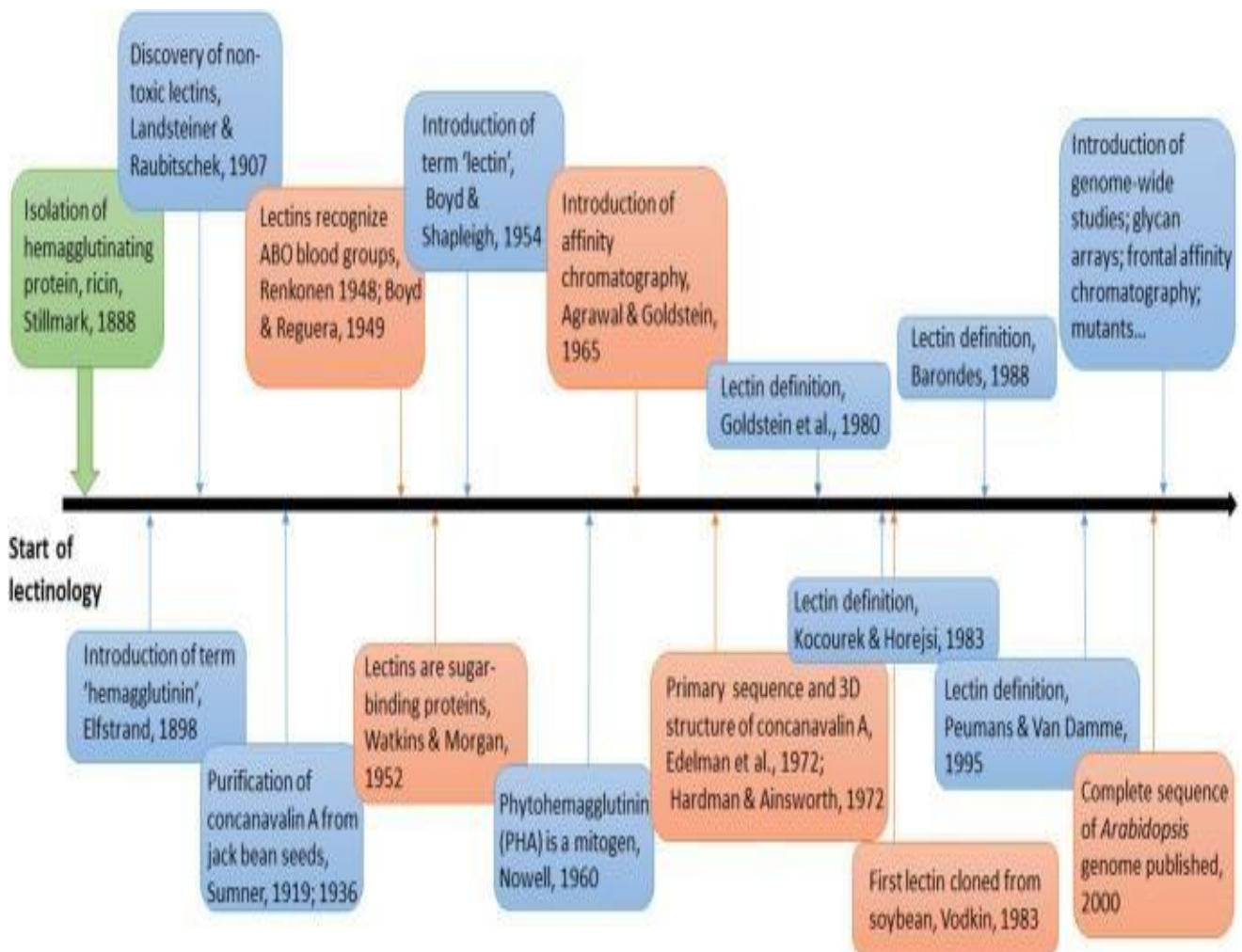


Figure 02 : historique de lectinology (Tsaneva *et* Van Damme, 2020)

3. La structure des lectines

Les lectines sont classés en trois grandes classes :

3.1 Les lectines simples

Ces lectines sont formées de plusieurs monomères (pas forcément identique), dont la masse moléculaire 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).

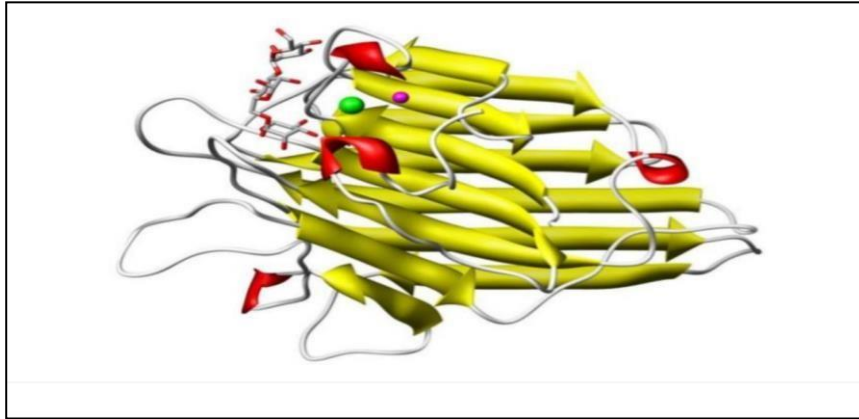


Figure 03 : Représentation graphique d'un monomère de Concanavaline A en complexe avec le trimannoside (Lenka, 2006).

La protéine est représentée par un ruban rouge pour les hélices, 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 molécule complexe composés de plusieurs types de domaines ou modules, dont un seul possède le site de liaison (Lenka *et al.*, 2006).

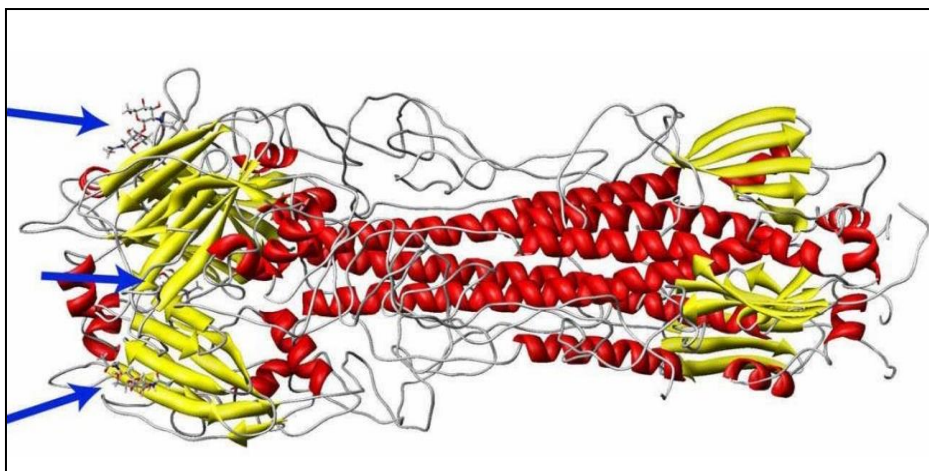


Figure 04 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (Lenka *et al.*, 2006).

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, appelés fimbriale ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbriale 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 fimbriale (**Lenka, 2006**).

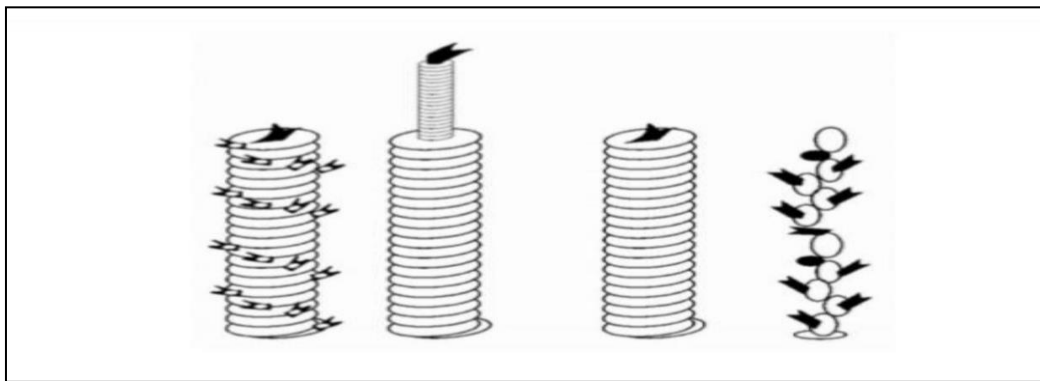


Figure 05 : Représentation schématique de différents fimbriales de la bactérie d'*Escherichia coli*.

4. La spécificité et l'affinité des lectines

Les lectines reconnaissent de manière spécifique des mono et oligosaccharides. L'affinité des lectines pour les monosaccharides est généralement assez faible en comparaison avec leur affinité pour les oligosaccharides (**Dam et Brewer, 2002**). La spécificité des lectines se définit par la concentration minimale des sucres nécessaire pour inhiber l'agglutination ou la précipitation des cellules animales induit par ces molécules (**Robert, 2008**). Les protéines spécifique pour des monosaccharides sont classifiés en cinq groupes, selon le sucre pour lequel la lectine présente la plus forte affinité : Mannose(Man), Galactose(Gal), N-acétylgalactosamine(GalNAc), le Fucose (Fuc), l'Acide sialique(acide N-acétylneuraminique) (**Lis et Sharon, 1998**). Ces monosaccharides et leurs dérivés sont ceux qui sont le plus souvent présents sur les épitopes glycanique des surfaces cellulaires. La similarité structurale entre certains monosaccharides est déterminante pour la spécificité des lectines : par exemple, la plupart des lectines, qui reconnaissent le (Gal), se lient aussi au (GalNAc).

Tableau 01 : la spécificité osidique de certaines plantes (**Rüdiger et Gabius, 2001**).

| Espèces | Spécificité |
|----------------------------------|-------------|
| <i>Canavalia ensiformis</i> | Man/Glc |
| <i>Ricinus communis</i> | Gal |
| <i>Vicia cracca I</i> | Man/Glc |
| <i>Phaseolus lunatus</i> | GalNac |
| <i>Bauhinia purpurea</i> | GalNac |
| <i>Vicia taha</i> | Man/Glc |
| <i>Ulex europaeus I</i> | Fuc |
| <i>Maclura pomifera</i> | GalNac |
| <i>Arachis hypogaea</i> | Gal |
| <i>Griffonia simplicifolia I</i> | Gal/GalNac |

5. Les sites de liaisons des lectines

Le site de liaison d'une lectine est généralement constitué par un creux sur la surface de la protéine, dont la forme ne varie pas beaucoup après la liaison du ligand. La lectine interagit avec le ligand par un réseau de liaisons hydrogènes 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**).

6. Les types de lectine

Comme les lectines sont produites par un large éventail d'organismes vivants, des microbes aux mammifères, elles peuvent être regroupées en fonction de leur espèce

d'origines, comme les lectines algales, les lectines fongiques, les lectines bactériennes, les lectines animales et les lectines végétales.

6.1 Les lectines végétales

Possèdent au moins un domaine non catalytique qui se lie de manière réversible à un mono ou oligosaccharide spécifique (**Damme et al., 1998 ; Van Damme, 2007**). Elles ont été les premières protéines à être étudiées en raison de leur vaste distribution et de facilité d'isolement. Jusqu'à présent 500 lectines végétales différentes ont été isolées et caractérisées (**Van Damme et al., 1998**). Ces lectines se trouvent principalement dans les graines (**Horejsi et Kocourek, 1978 ; Peuppkke, 1982 ; Young et al., 1982 ; Tollefsen et Kornfeld, 1983**), les racines (**Gade et al., 1981 ; Kalsi et al., 1992**), les organes de stockage (**Allen et Neuberger, 1973 ; Cammue et al., 1986**) ou les feuilles (**Cammue et al., 1985 ; Suzuki et al., 1979 ; Yanagi et al., 1990**). Elles peuvent aider à reconnaître les glycoconjugués à la surface des cellules, à séparer et à analyser la structure des glycoprotéines et des oligosaccharides. En outre, ces lectines sont d'une grande importance dans l'interaction hôte-pathogène, le développement, la signalisation cellulaire et la communication cellule-cellule (**Sharon et Lis, 2004**). Elles protègent en outre les plantes contre les micro-organismes phytopathogènes nuisibles, les insectes et les animaux prédateurs (**Bohloul et Schmidt, 1974**).

7. La classification des lectines

7.1 Chez les animaux

- Les lectines extracellulaires
- Les lectines intracellulaires

7.2 Chez les végétaux

7.2.1 Les mérolectines

Les lectines ayant un seul domaine de liaison aux hydrates de carbone sont caractérisées comme des mérolectines. Par exemple, la petite protéine de liaison à la chitine du latex de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*) est une mérolectine. L'hévéine est le seul domaine de liaison aux glucides de cette protéine (**Van Parijs et al, 1991**). Les

mérolectines sont incapable de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules car elles sont monovalentes (**Peumans et Van Damme, 1995**).

7.2.2 Les hololectines

Les hololectines possèdent au moins deux domaines de liaison aux glucides identiques et similaires. Comme les hololectines sont divalentes et multivalentes par nature, elles provoquent l'agglutination des cellules et la précipitation des glycoconjugués.

7.2.3 Les superlectines

Les superlectines constituent une classe distincte des hololectines et sont également considérées un groupe spécial de chimérolectines. Elles possèdent deux domaines de liaison aux hydrates de carbone non identiques qui reconnaissent des sucres structurellement différents. Par exemple, la lectine du bulbe de tulipe TxLCl, qui contient deux domaines de liaison aux hydrates de carbone dissemblables, se lie spécifiquement aux résidus de sucre mannose et GalNAc (**Van Damme et al., 1997**).

7.2.4 Les chimérolectines

Les chimérolectines ne contiennent pas de domaines glucidique en tant que tels, mais sont des protéines "chimérique" contenant un domaine de liaison aux glucides qui marqué par un autre domaine ayant une activité enzymatique. Le domaine enzymatique fonctionne indépendamment du domaine de liaison des glucides. En fonction du nombre de site de liaison aux sucres présents, les chimérolectines peuvent agir comme des mérolectines ou des hololectines. Par exemple, comme les protéines d'inactivation du ribosome (RIP) de type 2 sont multivalentes, elles agglutinent facilement les cellules, alors que les chitinases végétales de classe 1, qui sont monovalentes, n'ont pas cette activité (**Barbieri et al., 1993 ; Collinge et al., 1993**).

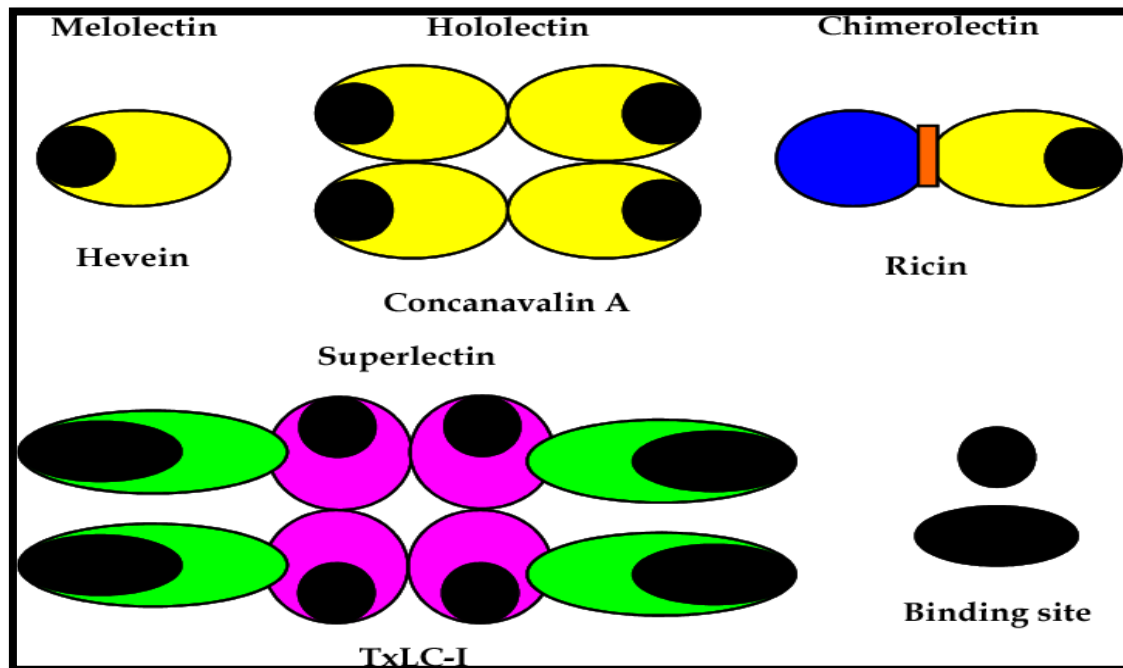


Figure 06 : Représentation schématique des types de lectines végétales. (Peumans *et Van Damme*, 1995).

8. Les fonctions des lectines

Comme les lectines possèdent la capacité de se lier à des glucides spécifique elles ont été utilisées dans de nombreux domaines biologiques qui font appel à l'interaction protéine-glucide. Certains des principales contributions des lectines sont décrite ci-dessous.

- L'activité anti insectes des lectines
- L'activité anticancéreuse des lectines
- L'activité antidiabétique des lectines
- L'activité antimicrobienne des lectines
- L'Activité antifongique des lectines
- L'activité antivirale des lectines
- L'Activité antiparasitaire des lectines
- L'Activité antibactérienne des lectines végétales

➤ L'activité immunomodulatrice des lectines

L'activité immunomodulatrice des lectines végétales dans diverses cellules immunitaires a été bien documentée dans la littérature qui suggère clairement que beaucoup de ces lectines ont la capacité d'améliorer l'activité phagocytaire des cellules immunitaires vis-à-vis de leur production de cytokines en réponse à une infection bactérienne (**da Silva et al., 2015**). Le Con A est l'une des lectines végétales les plus étudiées avec des propriétés immunomodulatrices majeures (**Agrawal et Goldstein, 1968**). Son traitement dans des macrophages murins a montré qu'il augmentait l'expression de divers récepteurs à péage (TLR) (**Da Silva et Correia, 2014 ; Sodhi et al., 2007**) par la voie de signalisation JNK, p38 et NF-κB-dépendante. En outre, ces macrophages traités ont également sécrété différentes cytokines pro-inflammatoires et de l'oxyde nitrique (NO) dans la voie médiée par les TLR qui a aboli la survie de l'agent pathogène infectieux (**Sodhi et al., 2007 ; Keshewani et Sodhi, 2007**). Les TLR sont un récepteur majeur du système immunitaire inné et, en reconnaissant les PAMPs de différentes bactéries, ils activent la réponse immunitaire contre elles (**Sodhi et al., 2007**). Ainsi, l'induction des TLR par la lectine est très utile pour éliminer l'infection. Un autre groupe a rapporté l'effet du ConA sur la pneumonie à *Klebsiella* chez les souris. Le prétraitement avec une dose unique de ConA a augmenté la survie des souris de 55% tandis que le traitement avec des doses consécutives a augmenté la survie de 83%. De plus, il a été observé que l'adversité de la nécrose du foie était très faible chez les souris traitées par ConA par rapport aux souris non traitées. L'administration de ConA a également entraîné une inhibition de la nécrose hépatique, une diminution de l'alanine aminotransférase et de l'aspartate aminotransférase dans le sang et le foie des souris infectées respectivement (**Kuo et al., 2007**). Cela indique que le ConA doit renforcer l'immunité de l'hôte qui augmente sa capacité à lutter contre l'agent pathogène.

Tableau 02 : principales application des lectines (**Sharon et Lis, 2004**).

| |
|--|
| Identification et séparation des cellules |
| Détection, isolement et étude structurale des glycoprotéines |

Etudes des glucides sur les cellules et les organites subcellulaires

Cartographie des voies neuronales

Stimulation mitogène des lymphocytes

Purge de la moelle osseuse pour la transplantation

Sélection des mutants résistants à la lectines

Etudes de la biosynthèse des glycoprotéines

Chapitre II :
Généralités sur la plante

Narcissus tazetta* L*1. Généralité**

Narcissus tazetta est une plante vivace rustique à floraison printanière. C'est l'espèce la plus répandue de ce genre. Elle occupe une aire géographique assez vaste, s'étendant de part et d'autre de la méditerranée, en allant des régions littorales du Portugal jusqu'à la péninsule ibérique et la Grèce, et de l'Afrique du nord jusqu'en Syrie et en Asie mineure (**Fernandes, 1951**). Son nom *Narcissus* donné par Linné en 1753 est dérivé du grec « narkissos » venant de « narkao » qui signifie enivrer, assoupi, assoupissement en référence à son parfum qui monte à la tête et son nom spécifique *Tazetta* un mot d'origine italienne implique petite tasse qui indique leur petites couronnes jaunes formée comme une tasse placées au centre de la fleur.



Figure 07 : la plante de *Narcissus tazetta* (**Boukhenane, 2013**).

2. Noms commun

Egalement nommé «narcisse à bouquet» car chaque plante seule correspond presque à un bouquet. Narcisse de constantipole, narcisse de chypre, hermione.

Arabe : nargis ; Anglais : bunchflower daffodil, bunchflower narcissi, tazettadaffodil, polyanthus narcissus ; Portugais : narciso ; Suédois : tazett.

3. Classification scientifique

| | |
|--------------|----------------------------|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Sous-règne | <i>Viridaeplantae</i> |
| Infra-règne | <i>Streptophyta</i> |
| Classe | <i>Equisetopsida c</i> |
| Sous-classe | <i>Tracheophyta</i> |
| Super ordre | <i>Lilianaes</i> |
| ordre | <i>Aspargales</i> |
| famille | <i>Amaryllidaceae</i> |
| Sous famille | <i>Amaryllidoideae</i> |
| tribu | <i>Narcisseae</i> |
| genre | <i>Narcissus L</i> |
| Espèce | <i>Narcissus tazetta L</i> |

4. Description botanique

Narcissus est un genre de la famille des Amaryllidaceae comprend environ 80 espèces réparties en 12 sections (Mathew, 2002) qui est bien connu en horticulture pour ses plantes ornementales et en médecine pour son contenu en métabolites secondaires biologiquement actifs appelés alcaloïde (Bastida *et al.*, 2011).

Selon Maire (1959), *N. tazetta* est une plante herbacée verte ou plus ou moins glauque, glabre a bulbe ovoïde ou subglobuleux (2,5 à 7 cm de diamètre).

-Hauteur de 20à 80 cm.

-Tige arrondie ou aplatie, sillonnée en long

-Fleurs blanches et jaunes à pédoncules allongés, groupées par 2 à 12 au sommet de la tige.

-Les feuilles sont au nombre de 3 à 6, vertes, linéaires, plus longues ou plus courtes que la tige, large de 3 à 18 mm, plates ou en gouttière en dessus, obtuse à l'extrémité, lisses, atteignant 80 cm.

-Le périanthe est ordinairement très odorant, blanc ou jaune, ou bicolore et le tube est cylindrique, souvent verdâtre, pouvant atteindre 2 cm de longueur.

-La fleur compte 6 étamines, inégales, à filets très courts, filiformes, les 3 inférieures sont incluses dans le tube et les 3 supérieures insérées sur la gorge de celui-ci.

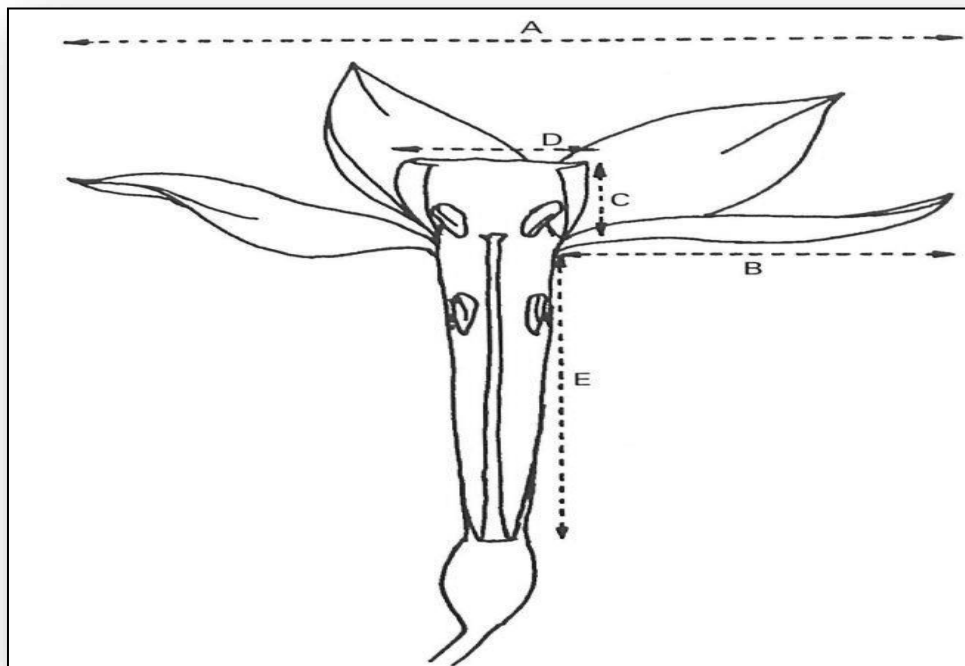


Figure 08 : Vue latérale d'une fleur sectionnée de *Narcissus tazetta* à long style, avec une explication des mesures utilisées. (A) diamètre de la fleur ; (B) longueur des tépales externes ; (C) profondeur de la couronne ; (D) diamètre de la couronne ; (E) longueur du tube floral (Arroyo et Dafni, 1994).

5. Les propriétés médicinales de *narcissus tazetta* L

Le Nargis est une célèbre plante ayant diverses propriétés médicinales :

- ✓ traitement des endommages cutanés résultant d'affections telles que l'acné vulgaire, la dermatite atopique, l'alopécie, l'eczéma, etc. (Akram *et al.*, 2012).
- ✓ Une huile essentielle extraite à partir des fleurs était utilisée en parfumerie (Hill, 1952).
- ✓ Elle était prescrite pour l'épilepsie, l'hystérie et d'autres troubles spasmodiques (Chopra *et Nayar*, 1986).
- ✓ La racine était utilisée pour soulager les maux de tête (Duke *et Ayensu*, 1985).
- ✓ l'infusion des parties aériennes et des fleurs est utilisée comme anticancéreuse, anti-inflammatoire et sédative (Talib *et Mahasneh*, 2018).
- ✓ Les bulbes de *N.tazetta* ont été employés dans le traitement du cancer du sein (Tomoda *et al.*, 1980).

Chapitre III :
Le système sanguin

Les groupes sanguins

1. Historique

Le système de groupe sanguin ABO a été découvert par le scientifique autrichien, Karl Landsteiner qui a trouvé trois groupes sanguins différents (A, B et O) en 1900 à partir de différences sérologiques dans le sang, appelée la loi de Land-Steiner (**Landsteiner K, 1900**). En 1902, DesCasterllo et Sturli ont découvert un quatrième groupe (AB) (**Von DesCasterllo A, Sturli A, 1902**). Le groupe sanguin ABO se compose de quatre antigènes (A, B, O et AB) (**Lewis M et al., 1990 ; Daniels GL et al., 2004**). En 1924, Félix Bernstein a prouvé, grâce à des études familiales approfondies, que le mécanisme d'hérédité impliquait trois allèles au niveau du locus ABO (**Bernstein F, 1924**).

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. Le facteur rhésus

Le facteur R est l'un des plus importants systèmes de groupes sanguins après le système ABO, L'antigène Rh est la partie du système Hh qui est présente sur la surface des hématies,

dont les personnes ont le sang avec cet antigène 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-acétylgalactosamine(GalNac),d'un galactose(Gal) et d'une fucose(Fuc). Les sujets du groupe O ne produisent que ce glycolipide. Les sujets du groupe A ont un enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaîne oligosaccharidique pour former l'antigène A, alors que les sujets du groupe B ont une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment en plus la structure de base dépourvue des glucides terminaux, ce qui explique pourquoi des alloanticorps ne sont pas produits contre le groupe O (Parham, 2000).

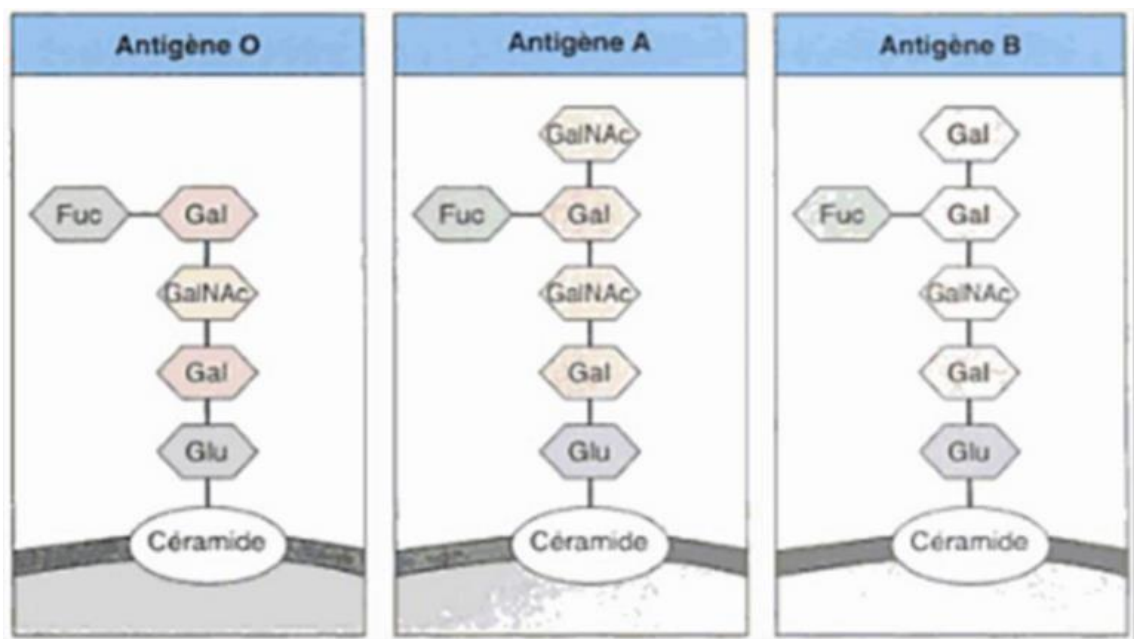


Figure 09: La structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Parham, 2000)

Dans le sérum on trouve toujours l'anticorps correspondant aux antigènes ou à l'antigène Absent des globules rouges. Ainsi les sujet du groupes A ont toujours un anti-B, les sujets du groupe B ont toujours un anti-A, les sujet de groupe AB n'ont pas d'anticorps et les sujets de groupe O ont les deux anticorps anti-A et anti-B (Gregory, 2005).

Matériels et Méthodes

I. Matériels et méthodes des tests phytochimiques

1. Matériel végétale

Le matériel d'étude est constitué d'une seule plante : *Narcissus tazetta* ; l'espèce a été collectée pendant la période de floraison de la fleur au mois de mars à Constantine.



Figure 10 : représente le matériel végétal de *Narcissus tazetta* (fleurs).

2. Les méthodes

2.1 La préparation de la plante

Les fleurs de la plante ont été séchées pendant 7 jours à température ambiante, ensuite elles ont été broyées dans un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre qui a été par la suite conservé dans un emballage fermé.



Figure 11 : poudre de la plante *Narcissus tazetta*.

2.2 L'extraction des plantes

Cette opération est réalisée afin de récupérer des substances hydrosolubles à partir de la poudre de plante à l'aide d'une solution tampon PBS.

❖ La technique d'extraction

Nous avons mélangé 50 ml du tampon (0,1 M pH 7,3) (**Annexe 01**) avec 10 g de poudre des Plantes, l'ensemble est agité, et laissé pendant 24 h, après la centrifugation de cette Suspension à 6000 tr /min pendant 15 min, le surnageant a été récupéré et conservé pour la réalisation des tests. Ce surnageant formé, représente **l'extrait brut**.

2.3 Le test d'hémagglutination

Ces tests sont réalisés à différents stades du processus de la purification des lectines. La mesure d'activité hémagglutinante est le test d'interaction le plus largement utilisé pour la détection des lectines et leur caractérisation (**Goldstein 1980 ; Rüdiger 1993**). Ce test repose sur l'observation de l'agglutination (ou agrégation) des érythrocytes par les lectines visible à l'œil nu. En cas d'un résultat positif, les hématies forment un tapis qui couvre le fond du puits de la plaque de microtitration. Contrairement à un résultat négatif, les érythrocytes précipitent au fond du puits, et un point rouge peut être observé. Le test a été effectué pour affirmer la présence des lectines dans les extraits des treize plantes médicinales ensuite une seule plante a été sélectionnée pour la suite de notre travail.

➤ La technique d'hémagglutination

Dans chaque puits d'une microplaque, 50 µl d'extrait brute de notre plantes ont été déposés en ajoutant 50 µl de suspension d'hématies du lapin fixé à 4 %. Après 45 min on observe l'agglutination à l'œil nu.

2.4 Le test de limite d'hémagglutination

D'abord, 50 µl de tampon PBS sont placés dans chaque puits de la microplaque, suivis de 50 µl d'extrait brute ajouté au premier puits uniquement et une double dilution en série est réalisée dans les puits suivants. Ensuite un volume de 50 µl des hématies du lapin sont ajoutés à chaque puits. La lecture d'activité hémagglutinante est effectuée après 45 min d'incubation à une température ambiante (25° C).

Matériels et Méthodes

2.5 L'effet de la température sur l'hémagglutination

L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante est déterminé en incubant quatre tubes à essai contenant chacun 200 µl de l'extrait brut à différentes températures (40, 60, 80, et 100° C) dans un bain marie pendant 30 min. Les échantillons sont ensuite refroidis à la température ambiante pour faire le test.

2.6 L'effet du pH sur l'hémagglutination

Pour tester l'effet du pH, une petite quantité de poudre de notre plante a été mis tout en 12 tubes à essai en ajoutant un petit volume de tampon phosphate à différentes valeurs de pH en allant de 1 à 12 et incubés pendant 24 h à 4 °C, le test d'hémagglutination a été effectuée sur le surnageant.

2.7 Le test d'inhibition d'hémagglutination par les glucides

Ce test sert à démontré la capacité des lectines à se lier à différents sucres. Dans chaque puits d'une microplaque 25 µl de l'extrait a été déposé en ajoutant 25 µl de solution de saccharides ou de glycoprotéine (0,1g/1ml de NaCl 0,9%) (**Annexe 02**). 12 sucres sont utilisés pour ce test :(Maltose, arabinose, glucose, galactose, mannose, glucosamine HCL, fructose, xylitol, saccharose, D-sorbitol, BSA, manitol). Le mélange a été laissé reposer pendant 30 minutes à température ambiante puis mélangé avec 50 µl d'une suspension d'érythrocytes du lapin fixé à 4%. Après 45 min la lecture a été faite à l'œil nu.

2.8 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

➤ Préparation de la suspension d'hématies à 4%

Dans chaque tube hépariné 4 ml de sang ABO sont collectés pour chaque adulte. Le sang collecté est centrifugé à 3000×g pendant 10 min à température ambiante.après trois lavage avec le NaCl 0.9% on ajoute 48 ml de NaCl 9%.

➤ Test d'activité agglutinante

Dans un puits d'une microplaque, 50 µl des hématies de chaque groupe ont été ajouté à 50 µl d'extrait de plante. Après 1 heure d'incubation, la lecture a été faite à l'œil nu. Les hématies des groupes sanguins humains sont collectées pour tester la spécificité des lectines de l'extrait au groupe sanguin ABO.

Matériels et Méthodes

2.9 L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G 150

4 g de Séphadex G150 a été mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, PH : 7,3). Le mélange a ensuite été incubé pendant 48 h à température ambiante. Puis il a été coulé dans une colonne. Le surnageant d'extrait brut a été récupéré puis versé lentement dans la colonne Séphadex G150 et équilibrée avec un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,3), avec lequel elle a été recueillie par élution dans des tubes secs (5ml/tube). L'extrait récupéré a été testé sur les hématies du lapin pour s'assurer de la présence de l'activité hémagglutinante de notre extrait. Les extraits issus de la chromatographie sur colonne sont placés dans le spectrophotomètre à UV afin de mesurer l'absorbance à longueur d'onde 280 nm, qui a été utilisée pour estimer la teneur en protéines dans les éluats de la colonne et tracer la courbe d'absorbance en fonction des tubes. La fraction active obtenue après la chromatographie sur colonne de séphadex G150 est lyophilisée ensuite conservé pour mettre en évidence son activité immunomodulatrice *in vivo*.

II Matériels et méthodes des tests biologiques

1. Test d'activité immunomodulatrice des lectines *in vivo*

L'étude de l'activité immunomodulatrice de nos lectines a été effectuée sur des souris mâles ayant un poids entre 27 et 37 g provenant de l'animalerie de l'université de Constantine 1. Les animaux ont été logés dans des conditions normales de laboratoire à température ambiante (25 °C), avec un régime alimentaire standard et un libre accès à l'eau.

1.1 Le traitement des souris

Les souris sont réparties en 2 lots différents et un lot témoin chacun des lots comprenant 3 individus. Dans un premier lieu les 6 souris des deux lots ont été injectées (injection intraveineuse) par l'extrait de lectine lyophilisée dissout dans 0,9% NaCl, selon les doses suivants : 30mg/kg, 100mg/kg. Le troisième lot : témoin, ne reçoit que 0.5ml d'NaCl. Les différentes doses injectées aux souris sont calculés selon le poids corporel de chaque souris. Après 48h de la première injection, les souris reçoivent une autre injection intraveineuse contenant une solution aqueuse d'encre de chine (3ml d'encre de chine, 4ml d'NaCl à 0.9% et 4ml de gélatine à 3%) à une dose de 0.1ml/10g du poids de la souris.

Matériels et Méthodes

1.2 Prélèvement sanguin

Deux prélèvements sanguins par voie oculaire après 5 et 15min de l'injection sont réalisés à l'aide des tubes capillaires. Puis le sang prélevé (30 µl) est collecté dans des tubes secs contenant 4ml de solution du bicarbonate de sodium à 0.1% dans chaque tube. L'absorbance des différents tubes sera mesurée immédiatement au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 675nm.

1.3 Activité phagocytaire

L'activité phagocytaire est exprimée par l'indice phagocytaire K qui mesure toutes les fonctions de l'ensemble des cellules du système réticulo-endothélial en contact avec le sang en présence d'un corps étranger (Encre de chine), et par l'indice phagocytaire (corrigé α) qui exprime cette activité par unité de poids des organes actifs: foie et rate. Le taux de clairance est exprimé par la période de demi-vie des particules de carbone dans le sang ($t_{1/2}$, min). Ces paramètres sont calculés d'après les formules de (**Biozzi et al., 1953**).

$$K = \frac{(\ln OD1 - \ln OD2)}{(t2 - t1)}, \quad t_{1/2} = \frac{0.693}{k}, \quad \alpha = \sqrt[3]{k} \frac{\text{les poids corporel du l'animal}}{\text{poids (le foie+la rate)}}$$

OD1 et OD2 sont les densités optiques mesurées à partir des fractions sanguines après 5 et 15min.

1.4 Analyse statistique

Les résultats de l'activité phagocytaire et le taux de clearance du carbone sont représentés sous forme de moyennes et écart-types.

Matériels et Méthodes

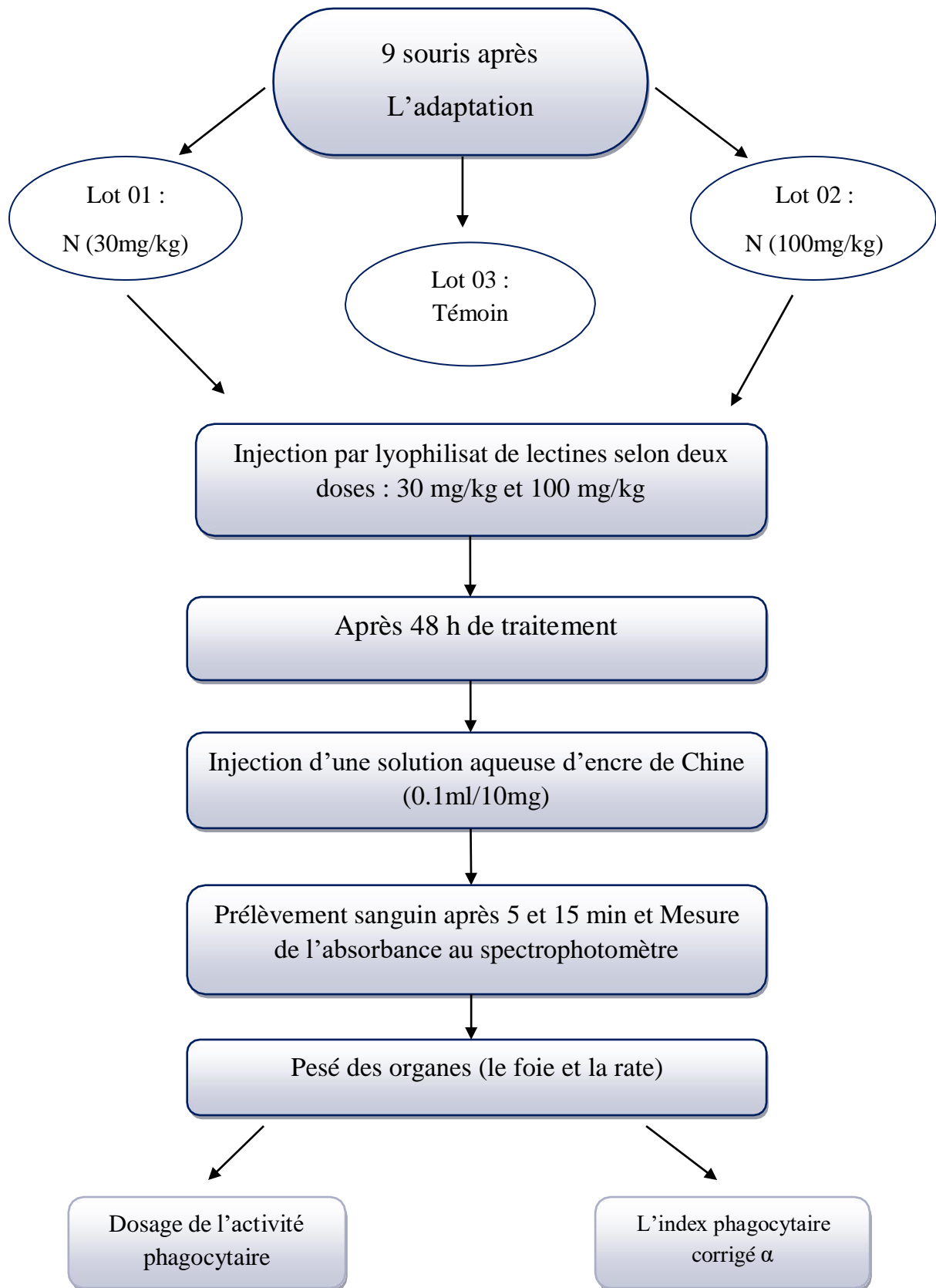


Figure 12 : schéma récapitulatif présentant les différentes étapes de test de l'activité immunomodulatrice *in vivo*.

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

1. Le test d'hémagglutination

Les résultats de test d'agglutination sont présentés dans le tableau au-dessous.

Tableau 03 : l'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de *Narcissus tazetta*.

| Plante | Test d'agglutination |
|--------------------------|----------------------|
| <i>Narcissus tazetta</i> | ++ |

++ : Forte agglutination.

L'extrait de *Narcissus tazetta* montre une forte agglutination vis-à-vis les hématies du lapin ce qui prouve que notre plante contient des lectines.

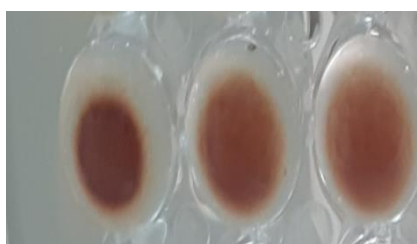


Figure 13 : Agglutination des lectines extraites de *Narcissus tazetta* avec une suspension des hématies du lapin.

2. Le test de limite d'hémagglutination

L'activité de la limite d'hémagglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination. Les résultats sont été présentés dans le (tableau04)

Tableau 04 : Activité de la limite d'hémagglutination de *Narcissus tazetta*.

| Dilution | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 | 1/64 | 1/128 | 1/256 | 1/512 | 1/1024 | 1/2048 |
|--------------------------|-----|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Extrait | | | | | | | | | | | |
| <i>Narcissus tazetta</i> | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | - | - | - | - |

Résultats et Discussion

+++ : Très forte agglutination / ++ : Forte agglutination
 + : Faible agglutination / - : Absence d'agglutination

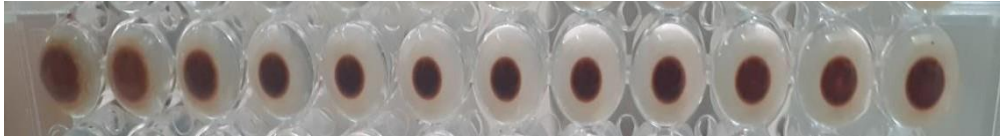


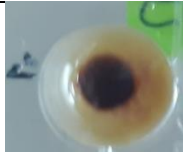
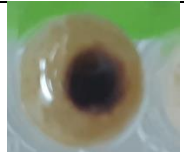


Figure 14 : Test de limite d'hémagglutination de *Narcissus tazetta*.

L'activité agglutinante de l'extrait montre une forte agglutination au niveau du premier puits jusqu'à le quatrième puits alors qu'elle diminue au niveau des puits suivants et disparaître complètement au dernier puits.

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

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Narcissus tazetta*.

| Température \ Extrait | 40°C | 60°C | 80°C | 100°C |
|--------------------------|---|---|--|---|
| <i>Narcissus tazetta</i> | + | ++ | + | - |
| Résultats |  |  |  |  |

+++ : Très forte agglutination / ++ : Forte agglutination
 + : Faible agglutination / - : Absence d'agglutination

L'extrait brut de *Narcissus tazetta* a été soumise à différente température (40°, 60°, 80° ,100°C) pendant 30min. On observe que l'activité hémagglutinante de l'extrait reste maximale entre 40 et 60°C. Au delà de cette température l'activité diminue considérablement, jusqu'à disparaître à une température de 100°C. Donc cette lectine présente une forte résistance à haute température, (**thermorésistante**).

Résultats et Discussion

4. L'effet du pH sur l'hémagglutination

Tableau 06 : l'effet du PH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Narcissus tazetta*.

| PH extrait | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|------------------------------|-----|-----|---|----|---|---|---|---|---|----|----|----|
| <i>Narcissus tazetta</i> | +++ | +++ | + | ++ | + | + | + | - | - | - | - | + |

L'activité agglutinante de l'extrait de *Narcissus tazetta* a été remarquablement stable dans un pH 1 à 2 alors qu'elle est diminuée par la suite dans un intervalle de pH de [3 à 7] et 12 avec une perte d'activité toute au long de [8 à 11]. L'activité hémagglutinante diminue avec l'augmentation de pH vers base, en effet notre plante présente une forte activité dans les milieux acides (Acidophile).

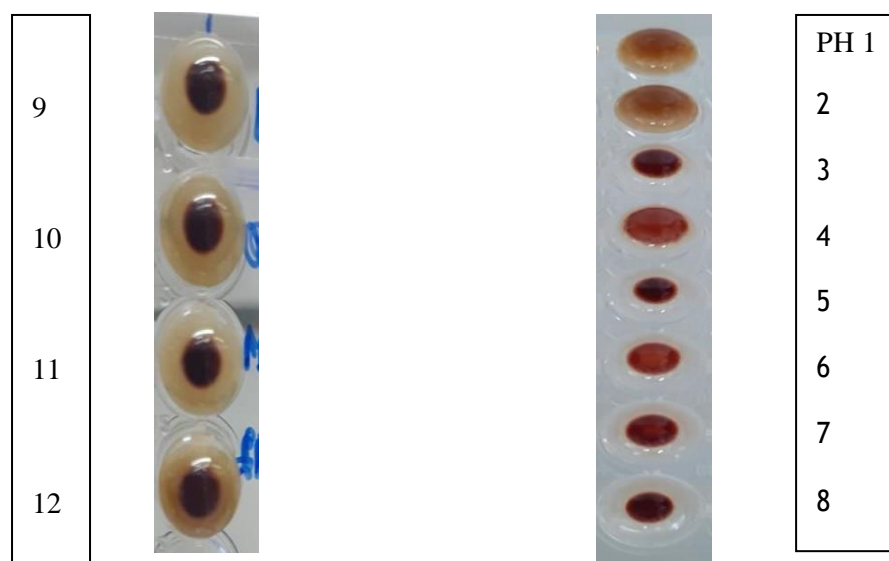


Figure 15 : Effet du pH sur l'activité hémagglutinante de *Narcissus tazetta*.

5. Le test d'inhibition d'hémagglutination par les glucides

Pour déterminer la spécificité de notre extrait vers une structure glucidique particulière, on a réalisé un test d'inhibition de l'agglutination par des saccharides (voir tableau 07).

Résultats et Discussion

Tableau 07 : Inhibition de l'activité hémagglutinante de la lectine extraite de *Narcissus tazetta* par les glucides.

| Sucre \ Extrait | 1 Maltose | 2 Arabinose | 3 glucose | 4 galactose | 5 mannose | 6 Glu HCL | 7 fructose | 8 xylitol | 9 saccharose | 10 D- sorbitol | 11 BSA | 12 manitol |
|------------------------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|-----------------|---------------|--------------|-----------------|----------------------|-----------|---------------|
| <i>Narcissus tazetta</i> | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + |

+ : inhibition de l'activité hémagglutinante

- : pas d'inhibition

Les résultats observés à partir de ce test montrent que notre lectine provoque une hémagglutination des érythrocytes du lapin en présence de tous les sucres donc elle n'a aucune spécificité envers tous ces saccharides. Sauf le cas du glucose et du manitol, qui a été inhibé par ces deux derniers et cette inhibition due à l'occupation du site de reconnaissance par ces deux sucres. Par conséquent notre lectine a une spécificité envers essentiellement le glucose et le manitol qui s'est lié sur son site actif et qui l'a empêché de provoquer une hémagglutination des érythrocytes.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

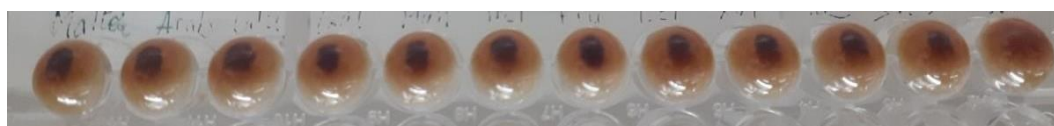

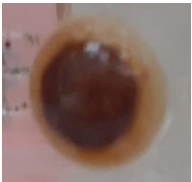




Figure 16 : Test d'inhibition de l'hémagglutinante de la lectine extraite de *Narcissus tazetta* par les glucides.

6. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

Tableau 08 : Test d'agglutination de l'extrait brut de *Narcissus tazetta* par les hématies humaines ABO.

Résultats et Discussion

| Groupe \ extrait | A | B | AB | O |
|--------------------------|---|---|--|---|
| <i>Narcissus tazetta</i> | +++ | ++ | ++ | +++ |
| Résultats |  |  |  |  |

Les résultats indiquent que la lectine de *Narcissus tazetta* a donné une très forte agglutination avec toutes les hématies de système ABO. Nous pouvons alors classer cette lectine dans la catégorie des lectine agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains qui sont généralement désignées comme non spécifique.

7. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G 150

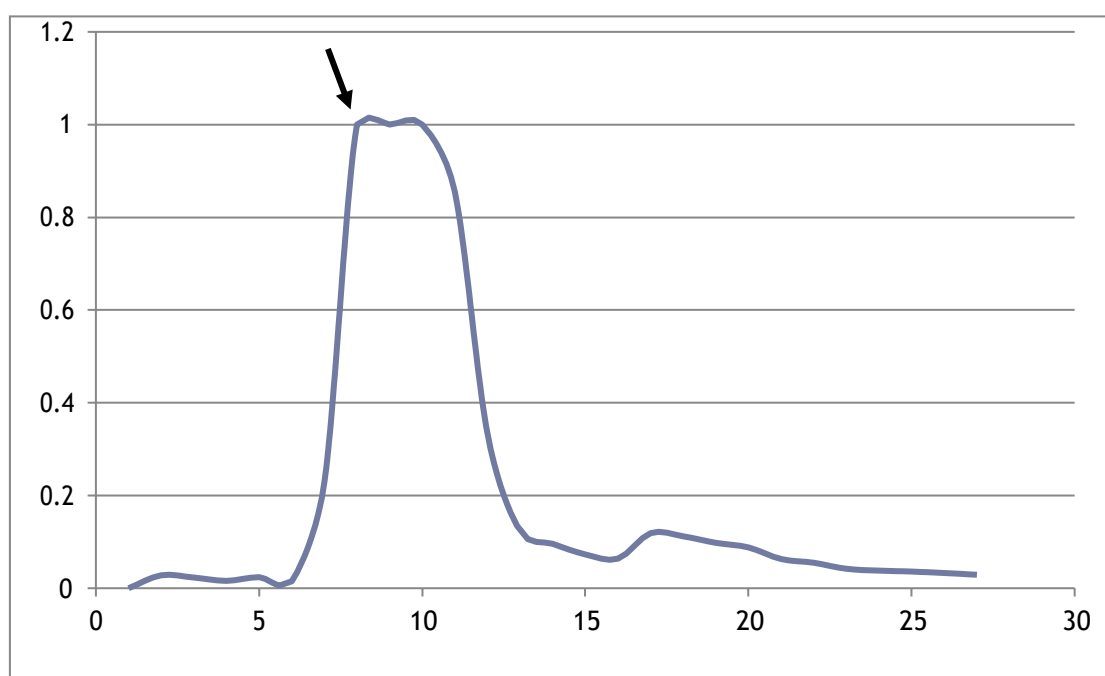


Figure 17 : Courbe d'Absorbance de l'extrait de *Narcissus tazetta* après leur passage à travers la colonne de séphadex G150. Les valeurs d'Absorbance à 280 nm se trouve dans des tubes de 1 à 27.

Résultats et Discussion

La filtration de l'extrait de la plante sur colonne de séphadex 150 et la lecture à 280 nm a montré un seul pic dans la courbe. Afin de confirmer la présence de lectine au niveau de ces tubes de l'extrait, un test d'hémagglutinine a été effectué avec les hématies de lapin. Les résultats obtenus par la suite ont réellement confirmé la présence des lectines.

8. Activité immunomodulatrice de la lectines de *Narcissus tazetta* *in vivo*

Dans ce travail nous avons étudié l'effet immunomodulateur d'un extrait des lectines obtenu à partir de *Narcissus tazetta*, en évaluant l'activité phagocytaire *in vivo* sur des souris.

8.1 L'effet d'extrait de *Narcissus tazetta* sur l'activité phagocytaire

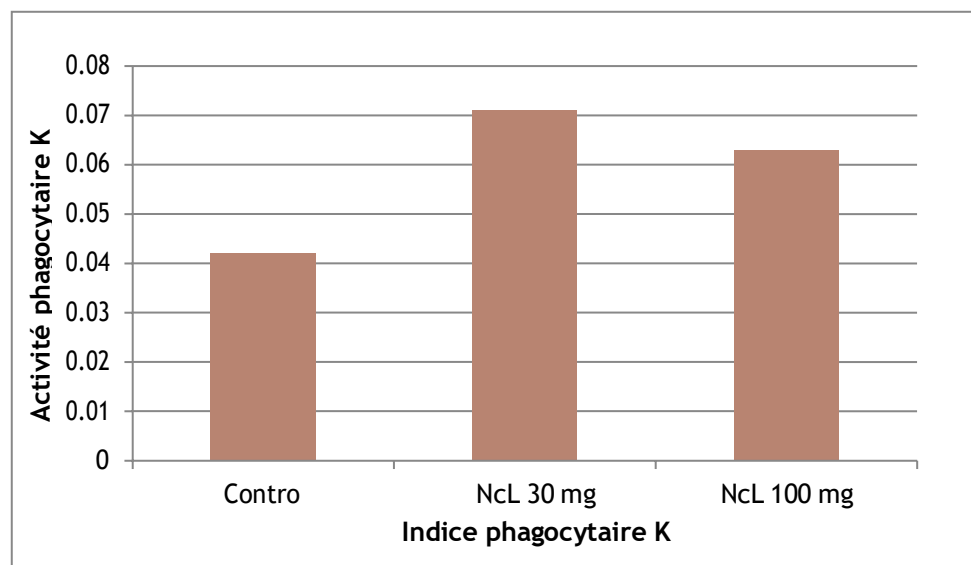


Figure 18: l'effet de *Narcissus tazetta* sur l'activité phagocytaire.

Les résultats affichés dans la **figure 18** montrent qu'il y'a une différence dans les valeurs de l'indice phagocytaire (k) chez les deux groupes des souris traité au lyophilisat de lectines à des concentrations de 30mg et 100mg en comparaison avec le lot témoin. Ces résultats permettent d'évaluer l'action des phagocytes contre des particules d'encre de Chine injectée aux souris. Cette activité exprimée par l'index

Résultats et Discussion

phagocytaire (K) est déterminée par la mesure des particules de carbone en circulation dans le sang, dans un intervalle de temps précis. En effet le traitement par l'extrait de *Narcissus tazetta* peut augmenter l'activité phagocytaire

8.2 L'effet d'extrait de *Narcissus tazetta* sur l'index phagocytaire corrigé

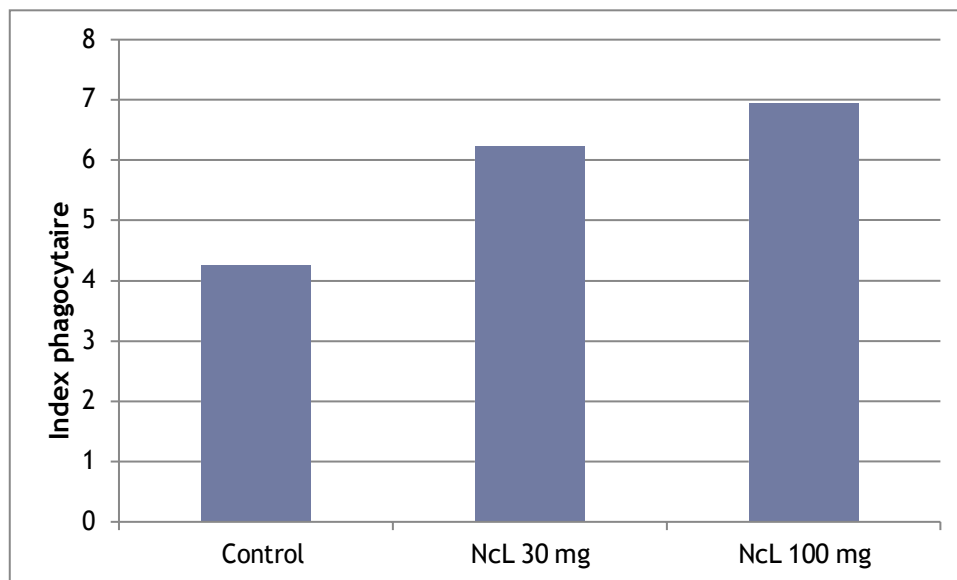


Figure 19 : l'effet de *Narcissus tazetta* sur l'index phagocytaire corrigé.

La courbe montre que l'index phagocytaire corrigé est plus élevé chez les groupes traités par rapport au groupe témoin on observe aussi que l'indice corrigé dépend de dose d'extrait de *Narcissus tazetta* injectée (plus la dose augmente plus l'index corrigé augmente). L'augmentation du L'index phagocytaire corrigé exprimée par le poids des organes actifs (foie et rate) indique la stimulation de l'ensemble du système réticulo-endothélial. Ces résultats montrent la relation entre certains organes tels que le foie et la rate avec l'activité phagocytaire.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Les lectines font à l'heure actuelle l'objet de travaux dans plusieurs domaines biologiques et médical. Le premier est la recherche et l'étude de la constitution et de la spécificité de nouvelles lectines. La seconde porte sur le rôle que peuvent jouer ces molécules dans l'organisme producteur. Le nombre de travaux publiés sur les lectines a vu une grande croissance principalement grâce à l'abondance des lectines dans tous les organismes vivants.

Dans la présente étude nous-mêmes avons mis en évidence leur intervention dans des phénomènes tels que la stimulation du système immunitaire en testant l'activité phagocytaire liés aux lectines contenues dans l'extrait de *Narcissus tazetta*.

Dans un premier temps nous avons soumis l'extrait à un test d'hémagglutination les résultats obtenus indiquent que l'extrait contiennent effectivement des substances à activité agglutinante sur les hématies.

- ❖ Pour déterminer la spécificité de notre extrait vers une structure glucidique particulière, on a réalisé un test d'inhibition. Les lectines contenues dans l'extrait de *Narcissus tazetta* montrent une forte affinité pour le glucose et le manitol.
- ❖ Ces lectines se caractérisent également par leur résistance à des températures très élevées jusqu'à 80°C (thermorésistants).
- ❖ Nos résultats indiquent que les lectines de *Narcissus tazetta* restent actives même à des pH très acides.
- ❖ L'extrait de *Narcissus tazetta* agglutine tous les types de groupes sanguins donc il ne montre aucune spécificité pour les hématies des groupes sanguins du système ABO.
- ❖ Dans le but d'améliorer l'activité hémagglutinante des extraits, nous avons procédé à leur purification par la chromatographie sur colonne de séphadex G 150. En effet, les extraits obtenus à la chromatographie sur colonne ont eu une activité supérieure à celle des extraits initiaux.
- ❖ L'extrait soumis à un test d'activité immunomodulatrice in vivo. Les résultats montrent un effet positif de l'extrait de *Narcissus tazetta* sur l'activité phagocytaire.

Références Bibliographiques

Agrawal B., Goldstein I. Protein-carbohydrate interaction. XV. The role of bivalent cations in concanavalin A-polysaccharide interaction. *Can. J. Biochem.* 1968;46(9):1147-1150.

Akram U, Azhar M, Pawan JA, Fazil KM and Ahmed S. *Narcissus tazetta* – a case study of biopiracy. *Current Science* 2012; 103(9): 978-979.

Allen A.K., Neuberger A. The purification and properties of the lectin from potato tubers, a hydroxyproline-containing glycoprotein. *Biochem. J.* 1973;135(2):307-314.

Arroyo J., and Dafni A. Variations in habitat, season, flower traits and pollinators in dimorphic *Narcissus tazetta* L. (Amaryllidaceae) in *Nezv Phytol.* (1995), 129, 135-145.

Barbieri L., Battelli M.G., Stirpe F. Ribosome-inactivating proteins from plants. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Biomembr.* 1993;1154(3-4):237-282.

Bastida, J., S. Berkov.; L. Torras; N. B. Pigni.; J. P. De Andrade; V. Martinoz; C. Codina and F. Viladomat (2011). Chemical and Biological Aspects of Amaryllidaceae Alkaloids. – In: Munoz-Torrero, D. (ed.) *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences.* Transworld Research Network, Kerala. 65-100.

Bernstein F : Ergebnisse einer biostatistischen zusammenfassenden Betrachtung, ber die er-blichen Blutstrukturen des Menschen. *Klin Wochenschr* 3 : 1495- 1497, 1924

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

Bohloul B., Schmidt E. Lectins: a possible basis for specificity in the Rhizobium—legume root nodule symbiosis. *Science.* 1974;185(4147):269-271.

Boucher .C. (2008) .Une brève histoire des idées de Galilée à Einstein. *FIDES*, 94-95. Parham P. (2000). *Le système immunitaire.* De BOECK Université, 340.

Boukhenane M. Etude de l'organisation du génome du complexe d'espèces *Narcissus tazetta* L d'Algérie (2016) : 1-111.

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

Brown J.C., Hunt R.C. International Review of Cytology. Elsevier; 1978. Lectins; pp. 277–349.

Cammue B., Peeters B., Peumans W. A new lectin from tulip (*Tulipa*) bulbs. *Planta*. 1986;169(4):583–588.

Cammue B., Peeters B., Peumans W. Isolation and partial characterization of an N-acetylgalactosamine-specific lectin from winter-aconite (*Eranthis hyemalis*) root tubers. *Biochem. J.* 1985;227(3):949–955.

Chopra RN, Nayar SL and Chopra IC. Glossary of Indian medicinal plants. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi, 1986.

Collinge D.B. Plant chitinases. *Plant J.* 1993;3(1):31–40.

Da Silva L.C.N. Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and non-infected with *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Biol. Macromol.* 2015;72:848–854.

Da Silva L.C.N., Correia M.T.D.S. Plant lectins and Toll-like receptors: implications for therapy of microbial infections. *Front. Microbiol.* 2014;5:20.

Damme E.J.V. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Crit. Rev. Plant Sci.* 1998;17(6):575–692.

Dam T.K., Brewer C.F. (2002) Thermodynamic studies of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry. *Chem. Rev* **102** : 387-429.

Daniels GL, Fletcher A, Garratty G, Henry S, Jrgensen J, Judd WJ, Levene C, Lomas-Francis C, Moulds JJ, Moulds JM, Moulds M, Overbeeke M, Reid ME, Rouger P, Scott M, Sistonon P, Smart E, Tani Y, Wendel S, Zelinski T : International Society of Blood Transfusion. Blood group terminology 2004 :from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. *Vox Sang* 87 : 304- 316, 2004.

Duke JA and Ayensu ES. Medicinal plants of China. Reference Publications, Inc, 1985.

Fernandes A (1951) Sur la phylogénie des espèces du genre *Narcissus* L. Bol Soc Brot 2 (25): 113–190.

Gade W. The isolation and characterization of a root lectin from soybean (*Glycine max* (L), cultivar Chippewa) J. Biol. Chem. 1981;256(24):12905–12910.

Gallagher J.T. Carbohydrate-binding properties of lectins: a possible approach to lectin nomenclature and classification. Biosci. Rep. 1984;4(8):621–632.

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

Goldstein I.J. What should be called a lectin? Nature. 1980;285:66. [Google Scholar] Nilsson C.L. Lectins. Elsevier; 2007. Lectins: analytical tools from nature; pp. 1–13.

Goldstein I.J., Hayes C.E. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. Elsevier; 1978. The lectins: carbohydrate-binding proteins of plants and animals; pp. 127–340.

Goldstein, I.J., Hughes R.C., Monsigny, M., Osawa, T. and Sharon, N. What should be called a lectin? Nature 285 (1980) 66.

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.

Hill AF. Economic Botany. The Maple Press, 1952.

Hořejší V., Kocourek J. Studies on lectins: XXXVII. Isolation and characterization of the lectin from Jimson-weed seeds (*Datura stramonium* L.) Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. 1978;532(1):92–97.

http://nature.jardin.free.fr/bulbe/ft_narcissus_taz.html#:~:text=NB%20%3A%20son%20nom%20Narcissus%20donn%C3%A9,mot%20d'origine%20italienne%20qui

Kalsi G. Isolation and characterization of a lectin from peanut roots. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* 1992;1117(2):114–119.

Kennedy J. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. *Carbohydr. Polym.* 1995;26(3):219–230.

Kocourek, J., & Horejsi, V. (1981). Defining a lectin. *Nature*, 290, 188.

Kuo C.-F. Concanavalin A protects mice from a lethal inoculation of intragastric *Klebsiella pneumoniae* and reduces the induced liver damage. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007;51(9):3122–3130.

Landsteiner K : Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Zentralbl Bakteriol* 27 : 357- 362, 1900.

Lenka s., Imberty A., Jaroslav,k., 2006: Modelisation moleculaire des lectines et des glycosyltransferases. thèse pour l'obtention du diplôme de docteur de l'université joseph fourier. universite grenoble i – joseph fourier.

Lewis M, Anstee DJ, Bird GWG, Brodheim E, Cartron JP, Contreras M, Crookston MC, Dahr W, Daniels GL, Engelfriet CP, Giles CM, Issitt PD, Jørgensen J, Kornstad L, Lubenko A, Marsh WL, McCreary J, Moore BPL, Morel P, Moulds JJ, Nevanlinna H, Nordhagen R, Okubo Y, Rosenfield RE, Rouger Ph, Rubinstein P, Salmon Ch, Seidl S, Sistonen P, Tippett P, Warker RH, Woodfield G, Young S : Blood group terminology 1990. The ISBT Working Party on Terminology for Red Cell Surface Antigens. *Vox Sang* 58(2) : 152- 69, 1990.

Lis, H. & Sharon, N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. *Chem. Rev.* **98**, 637–674 (1998).

Lis H., Sharon N. The Antigens. Elsevier; 1977. Lectins: their chemistry and application to immunology; pp. 429–529.

Lis, H., and Sharon, N. (1986) Application of lectins, p. 293- 370. In I. E. Liener, N. Sharon, and I. J. Goldstein (ed.), the lectins: properties, functions and applications in biology and medicine. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.

Maire R (1959) Flore de l'Afrique du Nord. Paul Lechevalier, Paris, Vol. 6, pp. 51–76

Maire R & Weiller M (1959) Flore d'Afrique du Nord 6:70.

Malta wild plants, *Narcissus tazetta subsp. tazetta*, [http://www. Maltawildplants.com /AMRY/Narcissus_tazetta_subsp_tazetta.php](http://www.Maltawildplants.com/AMRY/Narcissus_tazetta_subsp_tazetta.php).

Mathew B (2002) Classification of the genus *Narcissus* L. In : Hanks, G.R. (ed.). *Narcissus and Daffodil: The genus Narcissus*. Taylor and Francis, New York, pp.30-52

Moreira R.d.A. vol. 86. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 1991. Pp. 211–218. (Plant Lectins, Chemical and Biological Aspects).

Peumans WJ, Van Damme EJM. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.* 1995;109:347–352. doi: 10.1104/pp.109.2.347.

Peumans W.J., Damme E.J.V. Plant lectins: versatile proteins with important perspectives in biotechnology. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 1998;15(1):199–228.

Peumans.W.J , Vandamme.J.M. (1995).lectine as plant defense proteins.*Plant Physiol.*109,347-352.

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

Pueppke S.G. Comparison of subunit compositions and isolectin profiles of the seed lectins purified from *Glycine max* and *G. Soja*. *Soybean Genet. Newsl. (U.S. Dep. Agric. Agric. Res. Serv.)* 1981;8(1):17.

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’Odontostomatologie. Mali. Université de Bamako. PP 8- .

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

Rameshk M, Shariffar F, Mehrabani M, Pardakhty A and Farsinejad A.*In vitro* proliferation and wound healing effects of *Narcissus tazetta* L bulb on primary human dermal fibroblasts. *Journal of Pharmaceutical Research International* 2017; 20(6): 1-13.

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

Rüdiger, H., & Gabius, H. J. (2001). Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconjugate Journal*, 18(8), 58–613.

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

Sodhi A., Tarang S., Keshewani V. Concanavalin A induced expression of Toll-like receptors in murine peritoneal macrophages in vitro. *Int. Immunopharmacol.* 2007;7(4):454–463.

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

Sumner J. B., Howell S. F. (1936) Identification of hémagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. *J. Bacteriol.* **32(2)**: 227-237.

Suzuki I. Purification and characterization of two lectins from *Aloe arborescens* Mill. *J. Biochem.* 1979;85(1):163–171.

Talib WH and Mahasneh AM. Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules* 2010; 15: 1811-1824.

Tollefsen S., Kornfeld R. Isolation and characterization of lectins from *Vicia villosa*. Two distinct carbohydrate binding activities are present in seed extracts. *J. Biol. Chem.* 1983;258(8):5165–5171.

Tomoda M, Yokoi M, Torigoe K and Maru K. Plant mucilages. XXVII. Isolation and characterization of a mucous polysaccharide, Narcissus-T-glucomannan, from the Bulbs of *Narcissus tazetta* var. *chinensis*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1980; 28(11): 3251-3257.

Tsaneva, M.,& Van Damme, Els J. M. (2020). 130 years of Plant Lectin Research. *Nature*,1-19.

U.S. National plant germplasm System, *Narcissus tazetta*, <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?25053>.

Van Damme E. Comprehensive glycoscience-from chemistry to systems biology; 2007. *Carbohydrate-protein Interactions: Plant Lectins*; pp. 563–599.

Van Damme E.J. John Wiley & Sons; 1998. Handbook of Plant Lectins: Properties and Biomedical Applications.

Van Parijs J. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. *Planta*. 1991;183(2):258–264.

von Decastello A, Sturli A : "Ueber die Isoag- glutinine im Serum gesunder und kranker Menschen". *Mfinch med Wschr* 49 : 1090-1095, 1902.

Yanagi K. Purification and characterization of anti-N lectin from *Vicia unijuga* leaves. *Int. J. Biochem*. 1990;22(1):43–52.

Young N.M. Structural comparison of the lectin from sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) with concanavalin A and other D-mannose specific lectins. *Can. J. Biochem*. 1982;60(10):933–941.

Annexes

Annexes

Annexe 01 : Préparation du Tampon.

- Préparation de la solution tampon phosphate di-sodique PBS (0,1M ; pH 7,3) Pour 1 litre.

| Produit chimique | Quantité |
|----------------------------------|----------|
| NaCl | 8 g |
| Na ₂ HPO ₄ | 1.44 g |
| KH ₂ PO ₄ | 0.24 g |
| KCL | 0.201 g |
| Eau distillé | 1 L |

Annexe 02 : Préparation des monosaccharides et glycoprotéines.

| Sucre / glycoprotéine | NaCl |
|-----------------------|------|
| 0.1 g | 1 ml |

- Préparation du NaCl 0.9 M

| NaCl | Eau distillé |
|------|--------------|
| 0.9 | 0.1 L |

Présenté par :

Mebarek Rayene

Année universitaire : 2021-2022

Medjroubi Sofia Chahinez

Thème

Etude de l'effet immunomodulateur des lectines extraites à partir de la plante : *Narcissus tazetta* avec des tests biologiques

Résumé

Les lectines forment une famille de protéines ubiquitaires d'origine non immunitaire, qui se lient de manière réversible et spécifiquement aux hydrates de carbone. Notre étude est basée sur la recherche, l'extraction, et l'étude des différentes spécificités des lectines contenues dans les fleurs d'une plante médicinale : *Narcissus tazetta* par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivie par la chromatographie sur colonne.

Le traitement thermique des lectines de *Narcissus tazetta* du 40°C jusqu'à 100°C n'a pas été suffisant pour inactiver totalement. L'activité hémagglutinante de la plante reste stable toute au long de la gamme du pH de 1 à 7. Le test d'inhibition avec différents monosaccharides a montré que les lectines de *Narcissus tazetta* ont été spécifiquement et seulement inhibées par le glucose et le manitol.

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

Les résultats de l'activité immunomodulatrice ont montré que notre lectine a un effet positif sur l'activité phagocytaire des souris testées.

Mots clés : Lectines, Extraction, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, activité immunomodulatrice.

Juré d'évaluation :

Encadrant : Mme BAHY A

Examineur 1 : Mr NECIB Y

Examineur 2 : Mme DJEMAI ZOUGHLACHE S