

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  
Département de Biochimie et biologie moléculaire et cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية  
والجزيئية

**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

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Extraction de lectine à partir d'une plante médicinale :  
*Juniperus phoenicea***

---

Présenté par : **KHELIFI Bouchra**  
**MELKI Rayane**

Le 30/06/2022

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** NECIB.Y (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 1 :** BAHIA (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 2 :** DJEMAI ZOUGHLACHE.S (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire  
2021 - 2022**

## *Remerciement :*

Avant tout nous remercions «Allah»

Nous tenons à remercier vivement notre encadreur DOCTEUR Y.NECIB pour sa gentillesse ; son aide ; ses conseils et sa disponibilité dans ce travail.

Nous souhaiterions également remercier nos professeurs de la faculté département de la Biochimie pour tout le savoir qu'il nous ont donné.

Nous profonds remerciements pour les membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.

MERCI

## *Dédicaces :*

*A mes parents*

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour*

*Et de l'affection dont ils ne cessent de me combler.*

*Qu'ils trouvent dans ce travail*

*Un Témoignage de mon profond amour et éternelle*

*reconnaissance.*

*Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A mes trois sœurs (Sara , Affef , Achouak) , mes petites princesses (Roueya ,  
Rimess ) , mes chères amis (Lina , Salah eddine) et à toute la grande famille*

*Sans oublier mon binôme Rayane*

*A tous ceux que j'aime*

*A tous ceux qui m'aiment*

*Je dédie ce modeste travail*

*Bouakra*

**Dédicace :**

**Je dédie ce modeste travail à mes précieux parents qui m'ont tous donné ,  
qui ont toujours été**

**la pour moi , merci pour vos sacrifices le long de ces années .**

**A mes sœur : Nidal , Chourouk , Maysone .**

**A mon petit frère : Saleh Eldine .**

**A mon oncle Melki Mouhamed Elarbi , mon fiancé Melki Rami  
et mon cousin Nekib Rafik .**

**A mes amies : Sana , Khawla ,Amina,Bouchra .**

## ملخص

في السنوات الأخيرة ، كان العديد من الباحثين مهتمين حَقًا بالمركبات النشطة بيولوجيًا المعزولة من المستخلصات النباتية ، والتي تشبه المصانع الكيميائية الحقيقية التي يجب أن نستفيد منها إلى أقصى حد

ركزت دراستنا على استخلاص الليكتين من نبات العرعر *Juniperus phoenicea* وتم اجراؤه عن طريق الطحن والنقع في محلول PBS .

حيث تم اجراء اختبار التراص الدموي للكشف عن وجود الليكتين في النبات , ابدى مستخلص نبات العرعر *Juniperus phoenicea* حدة تراص تقدر ب 1:9 ( 512 ) ولم تكن المعالجة الحرارية ل *Juniperus phoenicea* من 40°م الى 100°م كافية لتعطيلها لذا فهي مقاومة للحرارة ويبقى نشاط التراص للمستخلص مستقر في درجة حموضة من 4 الى 11 , وتم تثبيط ليكتينات العرعر بواسطة سكريات الفريكتوز والمانوز.

وبالنسبة لنظام ABO فهي تمتلك انتقائية مع الزمرات O , B , A فقط .

**الكلمات المفتاحية:** اللكتين , الاستخلاص , اختبار التراص الدموي , سكريات , تثبيط , نظام ABO

## **Résumé :**

Notre étude portait sur l'extraction de lectine à partir de plante de Genévrier (Juniperus) à été faite par broyage et macération dans une solution tampon PBS (annexe 1) .

Leur présence dans le plante à été effectué par le test d'hémagglutination .L'activité hémagglutinante de Juniperus a été 1:9 (512),Le traitement thermique des lectines de Juniperus de 40 jusqu'à 100 n'a pas été suffisant pour leur inactivation donc est thermorésistant , pour le test du pH reste stable de 4 jusque 10 .

Les lectines de Juniperus ont été spécifiquement inhibé par des saccharide : Fructose ,Mannose , et pour le système ABO les lectines agglutine l'hématie de groupe A,B ,O donc est spécifique avec ces groupe .

**Mots clés :** Lectines , Extraction , Hémmagglutination , Sucres , Saccharide , Inhibition , Système ABO .

## **Abstract :**

In recent years, many researchers have been really interested in the biologically active compounds isolated from plant extracts, which are like real chemical factories from which we must take maximum advantage.

Our study focused on the extraction of lectin from Juniper plant (*Juniperus phoenicea*) was made by grinding and maceration in a PBS buffer solution (Appendix 1)

Their presence in the plant was determined by the hemagglutination test. The hemagglutinating activity of *Juniperus phoenicea* was 1:9 (512). Heat treatment of *Juniperus* lectins from 40 to 100 was not sufficient for their inactivation; it is therefore heat-resistant, for the pH test remains stable from 4 to 10.

*Juniperus phoenicea* lectins were specifically inhibited by Fructose saccharides. Mannose, and for the ABO system the lectins agglutinate the red blood cells of group A, B, O therefore is specific with these groups.

**Keywords:** Lectins, Extraction, Haemagglutination, Sugars, Saccharide, Inhibition, ABO systems.

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des photos

Introduction

## Table des matières

### CHAPITRE 1 : Généralité sur les Lectines

<b>1 Découverte et Histoire des lectines .....</b>	<b>01</b>
<b>2 Définition des lectines.....</b>	<b>02</b>
<b>—► Guide d'usage .....</b>	<b>03</b>
<b>—► Les bienfaits des lectines.....</b>	<b>03</b>
<b>—► Les dangers des lectines.....</b>	<b>03</b>
<b>—► Comment limiter la présence des lectines .....</b>	<b>04</b>
<b>3. Structures des lectines.....</b>	<b>05</b>
<b>4 classification des lectines .....</b>	<b>05</b>
<b>4.1 Lectines végétales .....</b>	<b>05</b>
<b>1. Mérolectines .....</b>	<b>06</b>
<b>2. Les Hololectines .....</b>	<b>06</b>
<b>3. Les Chimérollectines .....</b>	<b>06</b>
<b>4.2 Lectines animales .....</b>	<b>07</b>
<b>5. Spécificité et l'affinité des lectines.....</b>	<b>08</b>
<b>6. Distribution des lectines dans le monde vivant .....</b>	<b>10</b>
<b>6.1 Les lectines des microorganismes.....</b>	<b>10</b>
<b>—► Les lectines bactériennes.....</b>	<b>10</b>
<b>6.2 Lectines des plantes.....</b>	<b>11</b>
<b>7. Interaction et propriété chimique .....</b>	<b>11</b>
<b>—► Les outils de l'étude de l'interaction lectine-sucre.....</b>	<b>12</b>
<b>8. Effets sur le système immunitaire intestinal .....</b>	<b>12</b>
<b>—► Liaison et endocytose par l'estomac et les intestins .....</b>	<b>12</b>

—► Conséquences sur le microbiote intestinal .....	13
—► Diminution de l'absorption des nutriments.....	13
9 . L'intérêt des lectines .....	13
9.1 En biochimie et protéomique.....	14
9.2 Dans le domaine biomédical .....	14
—► Hématologie.....	14
—► Immunologie.....	14
—► Biologie cellulaire .....	14
—► Cancérologie.....	15
9.3 Dans le domaine agronomique.....	15

## **CHAPITRE 2 : Le Système Sanguin**

1.Définition.....	16
2 .Groupe ABO .....	16
3. Les Lectines spécifiques des groupes sanguins .....	17

## **CHAPITRE 3 : Généralité sur la plante**

1. Généralité sur le genre genévrier .....	18
2. Description de plante .....	18
3. Classification de plante.....	18
4. Intérêt de l'étude des plantes médicinales .....	19

## **CHAPITRE 4 : Matériels et Méthodes**

1. Matériels.....	21
1.1 Matériel végétal .....	21
1.2 1.2 Matériel Biologique .....	22
1.3 Matériels techniques.....	22
—► Les Equipements de laboratoire.....	22
—►Solvants et Réactifs de laboratoire .....	22
2. Méthodes .....	22
2.1 préparation des plantes .....	22

2.2	Extraction des Lectines .....	23
2.3	—► Le principe.....	23
	—► La technique d'extraction.....	23
2.3	Activité hémagglutinante des extrait.....	23
	—► Préparation de suspension des hématies à 3% .....	23
	—► Lavage des hématies .....	23
	—► La dilution des hématies.....	24
2.4	Test d'agglutination .....	24
2.5	La limites d'agglutination .....	24
2.6	. Le test de la température.....	24
2.7	Le test du pH .....	25
2.8	Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides et des glycoprotéines.....	25
2.9	. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	25

## CHAPITRE 5 : Résultats et Discussion

1.	Le test d'hémagglutination .....	26
2.	La limite d'hémagglutination .....	27
3.	L'effet de température sur l'hémagglutination .....	28
4.	L'effet du pH sur l'hémagglutination .....	29
5.	Le test d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides.....	30
6.	L'effet d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	32

## CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Conclusion et Perspective.....	35
--------------------------------	----

### Listes des abréviations :

**GalNAc** :N-acétylgalactosamine

**CRD** : coordination

**Man** : Mannose

**GLcNAc** :acétylglucosamine

**Fuc** :fucose

**NeuAc** :N-acétylneuraminique

**mM** :millimolaire

**ELLA** : enzyme linked lectin Assay

**Con A** : Concanavaleine A

**HIA** : Hemagglutination Inhibition Assay

**ITC** : Isothermal Titration Microcalorimetry

**SPR** : Surface Plasmon Resonance

**PBS** : Phosphate Buffer Saline

**pH** :potentiel Hydro isoélectrique

**CEL** : Cellbiose

## Liste des figures :

**Figure01** : Représentation graphique d'un monomère de Concanavoline A de canavalia ensiformis en complexe avec le trimannosoide **(page2)**

**Figure 02** : Représentation schématique d'interaction lectines-glucides **.(page2)**

**Figure 03** :Classification des lectines végétale basée sur le domaine de liaison aux glucides **.(page6)**

**Figure 04** :Différents types de lectines animale et leur localisation cellulaire

**.(page8)Figure 05** : Les différents types des groupe sanguin **.(page16)**

**Figure 06** : Le plante de *Juniperus phoenicea*.**(page19)**

**Figure 07** : Schéma d'extraction de lectine à partir de la poudre de notre plante**(page24)**

### **Liste des tableaux :**

**Tableau 01** : classification des lectines végétales .(page6)

**Tableau 02** : guide de spécificité des lectines . (page10)

**Tableau 03** : les antigène et anticorps des groupes sanguins du système ABO .(page16)

**Tableau 04** : exemple des lectines spécifique des groupes sanguins .(page17)

**Tableau 05** : résultat d'agglutination des différents plantes .(page25)

**Tableau 06** : l'activité de la limites d'hémagglutination de *Junperus phoenicea*.(page26)

**Tableau 07** :l'effet de la température sur l'activité hémagglutination de l'extrait de *Junperus phoenicea* .(page27)

**Tableau 08** : l'effet de pH sur l'activité hémagglutination de l'extrait de *Junperus phoenicea*.(page28)

**Tableau 09** : inhibition de l'activité d'hémagglutination par des saccharides de *Junperus phoenicea*.(page29)

**Tableau 10** : l'agglutination des hématies humains A , AB , O, B par l'extrait brut de *Junperus phoenicea*.(page31)

### **Liste des photos :**

**Photo 01 :** le plante de genévrier ( photo original) .(**page20**)

**Photo 02 :** l'agglutination des hématie du lapin par l'extrait de nos plante . (**page25**)

**Photo 03 :** l'effet de la température sur l'activité hémagglutination de l'extrait de Junperus. (**page 27**)

**Photo 04 :** l'effet de pH sur l'activité hémagglutination de l'extrait de Junperus.(**page28**)

**Photo 05 :** inhibition de l'activité d'hémagglutination par des saccharides de Junperus.(**page 31**)

**Photo 06 :** l'agglutination des hématies humains A , AB , O, B par l'extrait brut de Junperus.(**page 32**)

## **Introduction :**

Les lectines constituent un groupe de protéines ou de glycoprotéines d'origine nonimmunitaire, 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 liées à des hydrates de carbone ne peuvent être considérées 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.

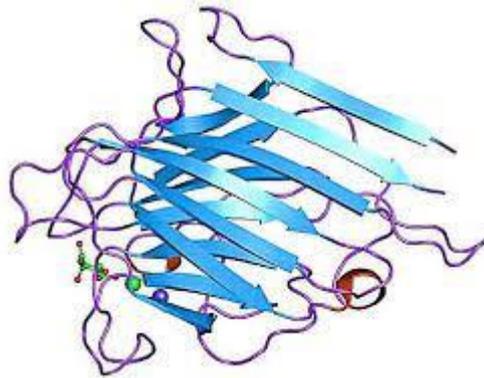
➤ La présente étude a été réalisée afin d'étudier la présence des lectines dans la plante : *Juniperus.sp*. Cette plante n'a jamais été étudiée en Algérie sur l'extraction des lectines raison pour laquelle nous avons fixé les objectifs suivants :

- Etude la présence des lectines par le test agglutination avec le sang des lapins.
- Etude l'effet de la température, pH 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

**Chapitre I : Généralité sur les lectines :****1. Découverte et Histoire des lectines :**

Les lectines représentent une très large famille de protéines dont la caractéristique commune est leur capacité à reconnaître et se lier à des motifs glycosidiques. La toute première trace écrite d'une lectine, bien que non identifiée, date de 1860. L'auteur rapporte la "coagulation" d'une goutte de sang de pigeon lorsqu'elle est mise en présence d'un venin de serpent. Les faits marquants de l'histoire des lectines ont été résumés par Hans-Joachim Gabius. Cette famille de protéines a d'abord été nommée hémagglutinine, ou encore phytohémagglutinine, car les premières étaient toutes extraites de plantes et ont commencé à être étudiées pour leur capacité à agglutiner les globules rouges. La première lectine a été extraite à la fin XIX<sup>e</sup> siècle. Il s'agissait de la Ricine qui provenait des graines de ricin (*Ricinus communis*) et était très toxique. Peu après en 1900, Karl Landsteiner, médecin et biochimiste de l'université de Vienne, a fait la découverte des groupes sanguins du système ABO. Il rapporta en 1907 que l'activité d'hémagglutinines, extraites de différentes graines, était différente quand il comparait leur interaction avec le sang de différents animaux. Il en conclut que l'action des phytohémagglutinines était comparable à celles des anticorps. La première hémagglutinine pure, extraite du haricot sabre (*Canavalia ensiformis*), a été obtenue par James B Sumner en 1919 qui l'a cristallisée avec succès, et qu'il appela Concanavaline A. Ce n'est que deux décennies plus tard que Sumner et Howell (1936) rapportèrent que l'agglutination d'érythrocytes par la Concanavaline A était inhibée par le saccharose, démontrant pour la première fois la spécificité des lectines pour les sucres. A la fin des années 1940, William C Boyd et Karl O Renkonen ont fait indépendamment la découverte de la spécificité des hémagglutinines pour les groupes sanguins humains. Ils démontrèrent que des érythrocytes d'un type de groupe sanguin étaient agglutinés par certaines lectines de manière spécifique puisque ces mêmes protéines n'interagissaient pas avec les érythrocytes d'un autre groupe sanguin. Quelques années plus tard Walter JT Morgan et Winifred M Watkins [10] ont démontré que l'agglutination des cellules sanguines de type A par la lectine du haricot de Lima était inhibée par la N-acétylgalactosamine (GalNAc) liée en alpha à une protéine, et celles des cellules sanguines de type O par le L-fucose lié en alpha à une protéine. Ils ont ainsi prouvé que l' $\alpha$ -GalNAc et l' $\alpha$ -L-fucose sont les sucres déterminant des groupes sanguins A et O respectivement. Leurs travaux constituent les premières preuves de la présence de sucres à la surface de cellules et leur potentiel comme marqueur d'identité cellulaire.

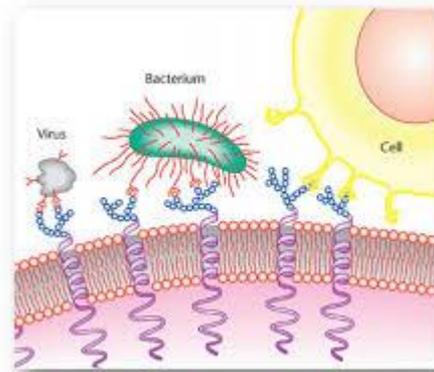


**Figure 1** : Représentation graphique d'un monomère Concanavalline A de canavalia ensiformis en complex avec le trimannoside (**Lenka 2006**)

## 2. Définition des lectines :

Sont présentes dans tout le règne vivant avec une grande diversité structurale, plus de 1096 structures cristallographiques sont répertoriées dans une base de données développée.

Sont des protéines ou des glycoprotéines dépourvues d'activité enzymatique et non synthétisées par un système immunitaire. Elles sont capables de reconnaître spécifiquement des sucres simples ou des oligosaccharides plus complexes sans les modifier (Goldstein et al, 1980). Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules (comme les érythrocytes). Cette caractéristique très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes, car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissance par molécule, ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination des cellules diverses (Liener et al. 1986).



**Figure 2 :** Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides(Sharon et Lis1993)

### Guide d'usage :

Enormément d'aliments contiennent de la lectine, qu'ils soient d'origines animales ou végétales. Cependant un tiers seulement renferment des quantités importantes. Il s'agit :

- **des légumineuses** : les haricots rouges, les haricots coco, les lentilles, les pois chiche, les pois cassé, les fèves, etc. ;
- **des céréales complètes** : l'avoine, le blé, l'épeautre, l'orge, le seigle, le kamut, le millet, le quinoa, etc. ;
- **des graines** : les graines de tournesol, les graines de pavot ou encore les graines de chia ;
- **des fruits oléagineux** : les noix, les noisettes, les amandes, les pistaches, les cacahuètes, les noix de cajou, etc. ;
- **de certains légumes** : les aubergines, les tomates, les poivrons, etc.

On ne la retrouve pratiquement pas dans les fruits frais et les légumes verts tels que le fenouil, la laitue, les épinards, le brocoli, le chou-fleur ou encore les endives. Les produits de la mer comme les crustacés ou les divers poissons en sont aussi dépourvus.

### Les bienfaits des lectines :

En petites quantités, certaines lectines favoriseraient le bon fonctionnement des défenses immunitaires. "Elles participeraient également à la prévention du cancer, du diabète de type 2

et de certaines maladies virales. Toutefois, des recherches complémentaires sont encore nécessaires sur ces sujets", assure Sylvie Hampikian<sup>1</sup>.

### **Les dangers des lectines :**

Dans son livre "Le Paradoxe des Plantes", le Dr. américain Steven Gundry suggère que les lectines auraient des conséquences sur notre microbiote : elles endommageraient la paroi intestinale et provoqueraient, par ricochet, des troubles digestifs tels que des diarrhées et des vomissements. Un avis renforcé par une étude réalisée en 2004 qui indique que consommer des aliments riches en lectines peu ou mal cuits provoquerait des troubles digestifs<sup>2</sup>. Certaines feraient également le lit de maladies chroniques inflammatoires comme le diabète, l'arthrose, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies auto-immunes<sup>3</sup>. Elles font d'ailleurs partie des nutriments à éviter en cas de syndrome de l'intestin irritable.

Classées parmi les "anti-nutriments", les lectines réduiraient la capacité du corps à absorber les vitamines et les minéraux. En effet, elles se lieraient à ces nutriments, empêchant l'organisme d'en profiter. A la clé, carences et fatigue.

Autant de raison qui poussent certains praticiens à recommander un régime "sans lectines". "Seulement, cela reviendrait à éliminer un grand nombre d'aliments dont les bienfaits nutritionnels sont reconnus (légumineuses, céréales complètes, légumes, noix de cajou...)", remarque Marie-Laure André.

### **Comment limiter la présence des lectines :**

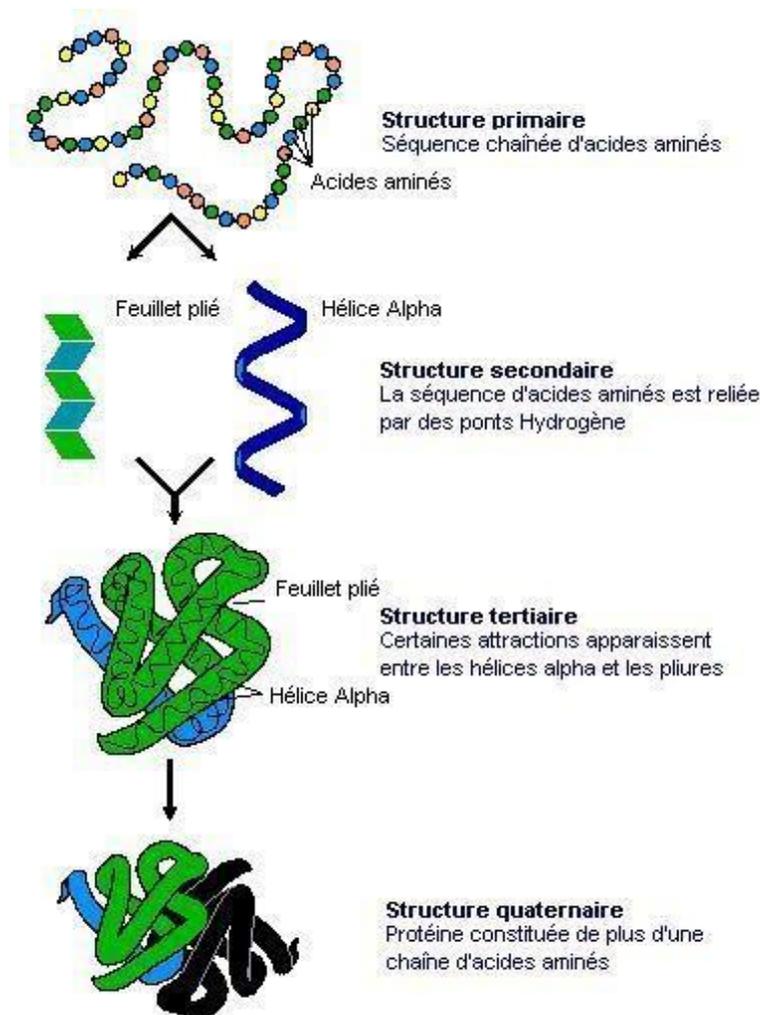
Plusieurs solutions, très courantes, existent pour diminuer l'effet négatif des lectines sur notre organisme, notamment au niveau de la digestion :

- **La cuisson** : faire cuire les aliments dans un milieu humide, à la cocotte-minute par exemple ou à la vapeur, permet d'éliminer un maximum la présence de ces protéines. Une fois cuits, les aliments riches en lectines ne seront plus un problème pour la digestion et la malabsorption des nutriments ;
- **Le trempage** : le fait de faire tremper toute une nuit les légumineuses avant de les faire cuire permet également de diminuer un maximum les risques inflammatoires et digestifs liés à cette consommation ;

- **Préparation des légumes** : ôter la peau et les pépins des légumes comme pour le poivron et la tomate (difficilement digestes) permet d'améliorer la digestion de ces aliments ;
- **Déroulement du repas** : prendre le temps de manger en mastiquant correctement chaque bouchées joue également. La salive, la mastication et les bactéries présentes au niveau de la bouche jouent un rôle dans les prédigestion qui est non négligeable pour la bonne digestion de chaque aliment et nutriment, dont la lectine. L'absorption des nutriments sera également meilleure.

En diversifiant son alimentation, la cuisson et les familles d'aliments dans nos assiettes on ingère assez peu de lectines pour qu'elles soient néfastes pour notre organisme.

### 3. Structures des lectines :



#### 4. classification des lectines :

Importante lectine liant acide sialique isolée du limule américain *Limulus polyphemus*. Les agglutinines qui se lient à acide sialique se trouvent également dans la famille virale des Orthomyxoviridae, qui comprend les virus de la grippe, les Papoviridae. Reoviridae et Adenoviridae (Weis et al. 1988)

##### 4.1. Lectines végétales :

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

##### 1. Mérolectines :

Les mérolectines sont de petits peptides, formés d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides (exemple : héveine, protéines d'Orchidées). Les mérolectines sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules.

##### 2. Les Hololectines :

Les hololectines contiennent deux domaines (ou plus) de liaison aux glucides quasi-identiques, ou du moins très homologues. Les hololectines peuvent précipiter les glycoconjugués ou agglutiner les cellules. La majorité des lectines de plantes connues sont des hololectines.

##### 3. Les Chimérolectines :

Les chimérolectines possèdent un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides ainsi qu'un domaine ayant une activité catalytique bien définie et agissant indépendamment du site de liaison. Selon le nombre de liaison aux glucides, les chimérolectines se conduisent 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)

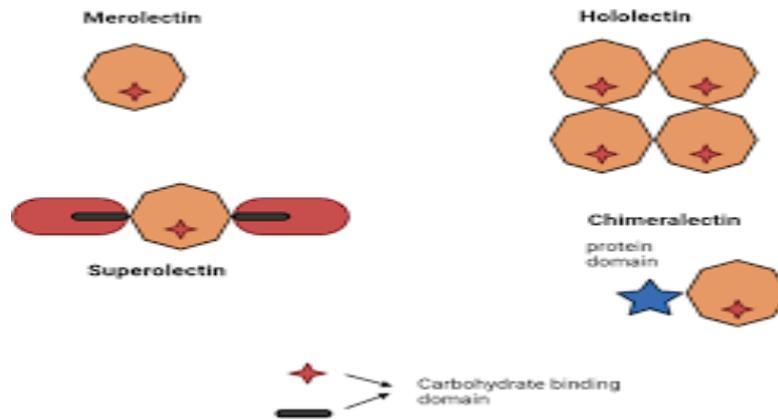


Figure 3 :Classification des lectines végétales basée sur le domaine de liaison aux glucides

Tableau 01 : Classification des lectines végétales :

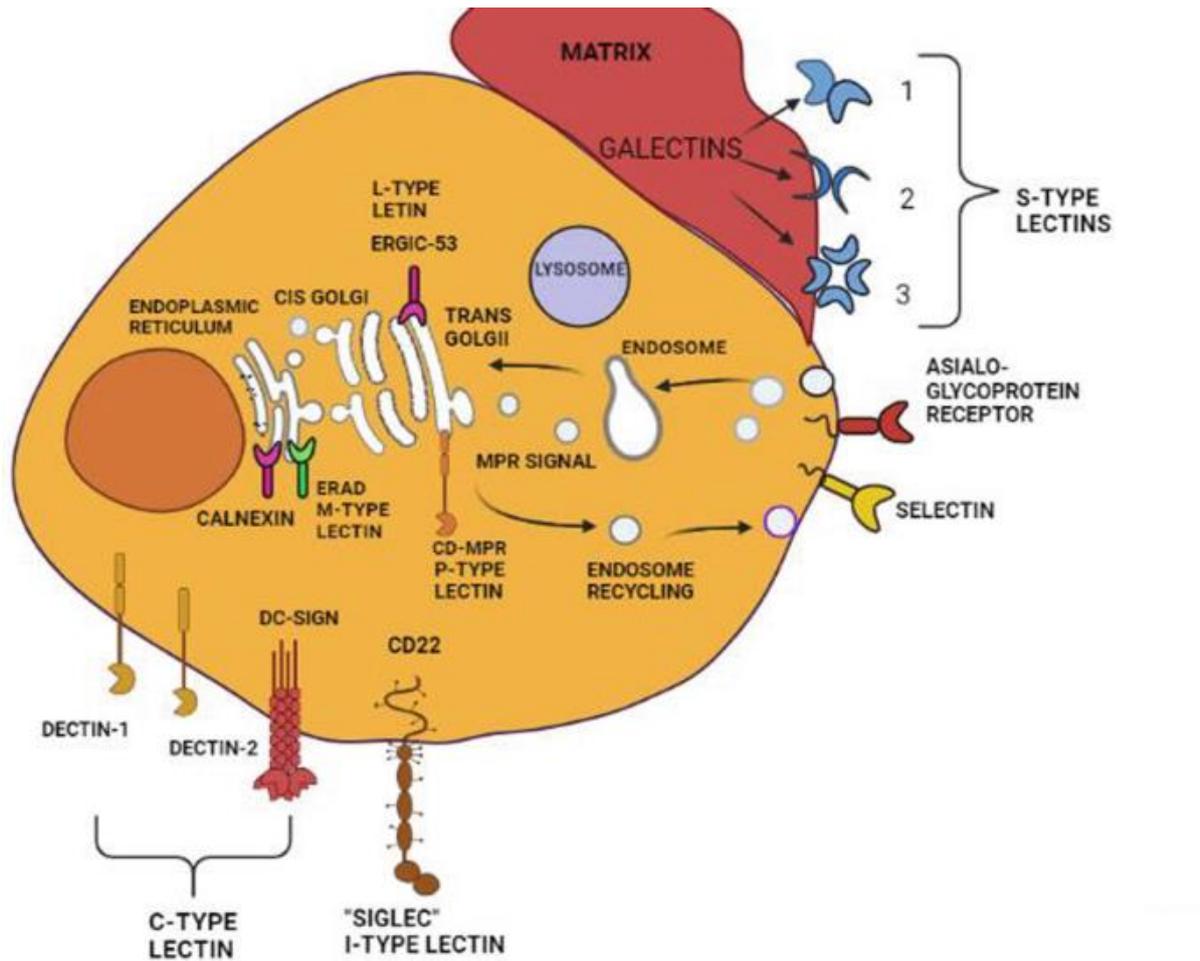
Site de liaison aux glucides	Structure et évolution	Spécificité du ligand
1. Merolectines	1. Amaranthine	1. Glucose
2. Hololectines	2. Lectine liant la chitine	2. Galactose
3. Les lectines chimères	3. Lectine de cucurbitacées	3. N-acétyl ou glucosamine
4. Superlectines	4. Jacalin	4. Fucose
	5. Lectine de légumineuses	5. Acide stannique
	6. Lectine liant le mannose	6. N-acétyl t-galactosamine
	7. Lectine inactivant le ribose de type 2	

4.2. Lectines animales :

La première lectine animale découverte était le récepteur de l'asialoglycoprotéine dans les cellules de mammifères, qui était utile pour déterminer comment les lectines animales diffèrent dans la liaison au glycoconjugué. En fonction de leur localisation cellulaire et des spécificités de liaison de leurs modules de domaine de reconnaissance des glucides (CRD), les lectines animales sont divisées en plusieurs groupes . Les lectines animales étaient autrefois divisées en deux structures familles : galectines de type C (liaison dépendante de Ca) et galectines de type S (liaison dépendante du sulfhydryle) (Drickamer 1988). Les lectines animales les plus importantes, telles que les récepteurs endocytaires, les récepteurs du mannose, les sélectines et les collectines, appartiennent à la famille des lectines de type C.

Des recherches récentes ont identifié plus de 100 lectines animales et les ont classées en différentes familles en fonction de la complexité des ligands glucidiques, des processus métaboliques qu'ils effectuent, des niveaux d'expression et de leur dépendance aux cations divalents. Ces familles comprennent la calnexine, la lectine F, l'intelectine, la lectine de type chitinase, la lectine F-box et d'autres (Cummings et McEver 2009). Les lectines de type C sont des lectines Ca-dépendantes qui se trouvent dans la matrice extracellulaire, le sérum et la membrane et ont un domaine conservateur connu sous le nom de domaine de reconnaissance des glucides. La particularité du domaine de reconnaissance des glucides est l'interaction directe de Ca\* avec le sucre lié via des liaisons de coordination (CRD) (Drickamer 1993).

La lectine de type C comprend des récepteurs endocytaires tels que les récepteurs des asialoglycoprotéines, les récepteurs du mannose des macrophages, les récepteurs des cellules tueuses naturelles, les récepteurs des cellules de Kupffer ainsi que d'autres molécules telles que la collectine et la sélectine (molécules d'adhésion cellulaire) (Cummings et McEver 2009). Un autre type de lectine animale est les lectines de type S qui se lient à la  $\beta$ -galactosidase soluble qui se lie au glycoconjugué par un Glyco Bioinformatique et outils qui aident à classer les lectines en fonction de Leur différences fonctionnelles et de leur polyvalence en plus de leur origine et de leur spécificité.



**Figure 4 :** Différents types des lectines animales et leur localisation cellulaire (Created with biorender.com)

### 5. Spécificité et l'affinité des lectines :

La spécificité et l'affinité des lectines Les lectines reconnaissent de manière spécifique des mono et oligosaccharides. 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-acétylgalactosamine (GalNAc), le N-acetylglucosamine (GlcNAc), le fucose (Fuc) et l'acide sialique (NeuAc, acide N-acétylneuraminique) (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. La constante de dissociation pour les

monosaccharides est de l'ordre du millimolaire (mM), en revanche, pour les oligosaccharides elle est de l'ordre du micromolaire (uM) (Dam and Brewer 2002). Enfin, certaines lectines telles que PHA-L et PHA-E de *Phaseolus vulgaris* reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (Cummings and Kornfeld 1982). Les similarites structurales entre monosaccharides sont déterminantes pour la spécificité des lectines. Par exemple, la plupart des lectines qui reconnaissent le Gal se lient aussi au GalNAc. Certaines lectines peuvent reconnaître le mannose et le fucose telles que DC-SIGN de mammifère (van Liempt, et al. 2006) ou PA-III de *Pseudomonas aeruginosa* (Imberty, et al. 2004). Ce phénomène est dû à la présence dans ces monosaccharides des trois fonctions hydroxyles qui ont une topologie très similaire. Certaines lectines présentent une spécificité anomérique et peuvent distinguer la configuration en C1 de monosaccharides tels que l'a methyl-galactoside et le B-methyl-galactoside. La combinaison de plusieurs techniques expérimentales permet d'élucider la spécificité des lectines (Park et al 2008). Par exemple, en utilisant les techniques de test ELLA (Enzyme Linked Lectin Assay) et de test Glycans array » (glycochips avec différents mono et oligosaccharides) la spécificité d'une lectine peut être déterminée. Ces techniques sont simples, rapides et requièrent de quantités réduites de matériel. La plupart des lectines sont des protéines multivalentes. Elles sont capables de se lier à plusieurs molécules de glucides. La multivalence peut provenir de la répétition de type «tandem >> de domaine lectines dans un polypeptide, de l'association de plusieurs monomères ou de la présentation de plusieurs lectines sur une surface cellulaire. Les interactions multiples entre d'une part les lectines multivalentes et d'autre part les glycoconjugués, sont impliquées X dans les processus de reconnaissance (Lee and Lee 1995). Dans la plupart des cas, les systèmes biologiques utilisent des interactions faibles mais multivalente plutôt qu'une seule interaction forte.

**Tableau02** : Guide de spécificité des lectines

Sucres	Lectines
Fucose	AAL, LTL, UEA I

<b>Galactose</b>	ACL, ECL, GSL I, Jacalin, MAL I, PNA, RCA I, RCA II, SBA
<b>Glucose</b>	Con A, LCA, PSA
<b>Mannose</b>	Con A, GNL, HHL, LCA, NPL, PSA
<b>N-Acetylgalactosamine</b>	BPL, DBA, GSL I, MPL, RCA I, RCA II, SBA, VVA, WFA
<b>N-Acetylglucosamine</b>	DSL, GSL II, LEL, STL, WGA
<b>Acide sialique</b>	MAL II, SNA
<b>Structures complexes</b>	PHA-E, PHA-L

## 6. Distribution des lectines dans le monde vivant :

Les lectines sont des protéines ubiquitaires, présentes dans tous les organismes vivants. Il existe une grande variété de lectines qui présentent une très grande diversité structurale. Le nombre de structures cristallographiques de lectines est toujours en croissance, et on connaît aujourd'hui la structure tridimensionnelle d'environ 770 lectines.

### 6.1 Les lectines des microorganismes :

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

#### —► Les lectines bactériennes :

Les lectines bactériennes sont généralement situées sur la surface de la bactérie ou localisées dans le cytosol et jouent des rôles importants dans la reconnaissance des glycoconjugués présents à la surface des cellules de l'hôte pendant la première étape du processus d'infection,

ce qui a attiré bien évidemment beaucoup d'attention dans ces dernières années (Sharon 1996). Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles: les lectines fimbriales, les toxines et les autres lectines solubles qui n'appartiennent pas aux deux premières classes (Imberty 2005).

## **6.2. Lectines des plantes :**

Dans les plantes, les lectines ont été détectées dans les moisissures, les lichens, les champignons et les spermatophytes mais plus fréquemment dans les légumineuses et les Euphorbiacées (Grant, 1991 ; Renkonen., 1948 ;). La famille des Légumineuses offre le plus grand nombre d'espèces contenant des lectines végétales et elle est assez représentée dans les pays tropicaux comme le Mali. Historiquement, les lectines de légumineuses telle que la Concanavaline A (ConA) ont été les premières à être caractérisées. Elles se retrouvent dans de nombreux tissus mais sont très abondantes dans les parties de la plante susceptibles de subir une attaque par des organismes étrangers, notamment les organes intervenants dans la survie de l'individu ou de l'espèce (Nachbar et coll., 1980). La plupart des lectines se trouvent ainsi dans les graines. Pour exemple, les lectines représentent 30 % des protéines totales des graines de *Canavalia ensiformis*. Elles se forment au cours de la maturation des graines pour atteindre leur taux maximum dans la graine mûre et disparaissent progressivement au cours de la germination en même temps que prennent place les réserves (Jaffe, 1982). 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 ; Van Damme et coll., 1997). Le mode d'action précis des lectines dans l'insecte demeure inconnu .

## **7. Interaction et propriété chimique**

Les lectines sont des protéines ou plutôt des glycoprotéines qui sont capables d'interagir spécifiquement avec des saccharides (sucre). Ils forment ensemble des liaisons non covalentes, irréversibles et provoquent l'agglutination des cellules.

## Les outils de l'études de l'interaction lectine-sucre

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

Parmi les techniques les plus utilisées, nous pouvons citer : le test d'inhibition d'hémagglutination (HIA, Hemagglutination Inhibition Assay), le test par une lectines liée à une enzymes (ELLA, Enzyme-Linked Lectin Assay), la microcalorimétrie par titrage isotherme (ITC, Isothermal Titration Microcalorimetry), la résonance plasmonique de surface (SPR, Surface Plasmon Resonance), les analyses par puce a sucre et la cristallographie des protéines au rayon X qui permet une investigation structurale des lectines. La complémentarité de ces techniques permettra d'élucider le rôle biologique et le fonctionnement des lectines à un niveau moléculaire.

### 8. Effets sur le système immunitaire intestinal :

*Type 1*, des réactions d'hypersensibilité immédiates dans l'intestin se produisent même avec des protéines alimentaires hautement dégradables. Les réactions allergiques aux lectines plus stables qui se lient de manière persistante aux cellules de la bordure en brosse peuvent être plus étendues [2]. Ainsi, la réponse anaphylactique de l'intestin à une seule dose intragastrique de lectine est appréciable dès la première exposition. L'augmentation de la perméabilité vasculaire n'est pas médiée par les IgE mais due à la dégranulation directe des mastocytes sous-muqueux par la PHA [14] et à la réticulation des glycanes membranaires par la PHA multivalente. Cependant, la réponse allergique était élevée chez les rats pré-alimentés avec des régimes PHA, suggérant qu'elle était amplifiée par la formation d'IgE anti-PHA.

### Liaison et endocytose par l'estomac et les intestins

Bien que la réaction entre la plupart des lectines et leurs ligands spécifiques soit abolie à pH 3 ou moins, les lectines se lient à l'épithélium de l'estomac in vivo. Cela peut, en partie, expliquer pourquoi la présence de lectines dans l'alimentation ralentit la vidange de l'estomac chez les rats.

L'endocytose des lectines par les cellules épithéliales se produit dans tout l'intestin bien que dans l'intestin grêle cela ne devienne appréciable qu'en présence d'un grand nombre de bactéries commensales. Comme prévu, l'endocytose est plus étendue dans le côlon où le nombre de bactéries est élevé. Ainsi, les lectines peuvent être particulièrement adaptées pour servir d'agents de ciblage dirigés pour délivrer des médicaments à l'épithélium colique.

### **Conséquences sur le microbiote intestinal**

Les lectines ont un réel impact sur la digestion en se fixant sur les glucides (sucre de l'alimentation). Elles rendent l'action des enzymes digestives plus complexe. Une consommation importante d'aliment riche en lectines endommagerait la paroi intestinale et provoquerait des troubles digestifs comme des ballonnements et gonflements, des irritations, des remontées acides, des nausées et vomissements, des flatulences ou encore des diarrhées. En effet, à haute dose, les lectines augmentent le syndrome inflammatoire et perturbent la communication cellulaire. Elles font d'ailleurs partie des protéines à limiter fortement en cas de syndrome de l'intestin irritable ou de problèmes digestifs importants.

### **Diminution de l'absorption des nutriments**

Suite à cet impact sur la digestion, les lectines, qui sont très collantes et qui se lient aux micronutriments, réduisent la capacité du corps à absorber et donc à profiter pleinement des bienfaits des vitamines et des minéraux présents dans l'alimentation. Ceci peut donc entraîner à long terme des carences, une déshydratation ou encore une fatigue qui peut être plus ou moins importante. Le point positif est que ces lectines participent au bon fonctionnement des défenses immunitaires. En effet, il a été remarqué qu'un régime alimentaire sans lectine alerterait le système immunitaire et favoriserait l'apparition d'allergies diverses. De plus, supprimer complètement les aliments sources de lectines reviendrait à se passer d'aliments qui ont d'autres bienfaits non négligeables pour notre santé.

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

### **9.1 En biochimie et protéomique**

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

### **9.2 Dans le domaine biomédical**

#### **→ Hématologie**

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

#### **→ Immunologie**

De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent être utilisées 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 immuno thérapeutiques (Jaffe, 1980).

#### **→ 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 pathologiques (Jaffe, 1980).

**→ 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 glycannes présents sur les cellules (Guillot et al., 2004 ; Kenoth et al., 2001) rapportent qu'en raison de leur agglutination préférentielle aux cellules cancéreuses, les lectines sont suggérées comme transporteuses pour diriger drogues et produits pharmaceutiques vers les cellules cancéreuses.

**9.3. 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 al., 2000....)

Chapitre II : Système sanguin

1. Définition :

La composition du sang est la même pour tous les Hommes mais les antigènes qui se trouvent sur les cellules du sang - érythrocytes (globules rouges), leucocytes (globules blancs), thrombocytes (plaquettes) - et de certaines protéines du plasma comme les immunoglobulines varient d'une personne à l'autre et définissent entre autres les groupes sanguins .

2 . Groupe ABO:

Le système ABO qui permet de classer les différents groupes sanguins, a été découvert en 1900 par Landsteiner. Ces groupes sanguins sont au nombre de quatre (A, B, AB et O) et se différencient par la présence, l'absence ou la combinaison des antigènes A ou B à la surface des globules rouges.

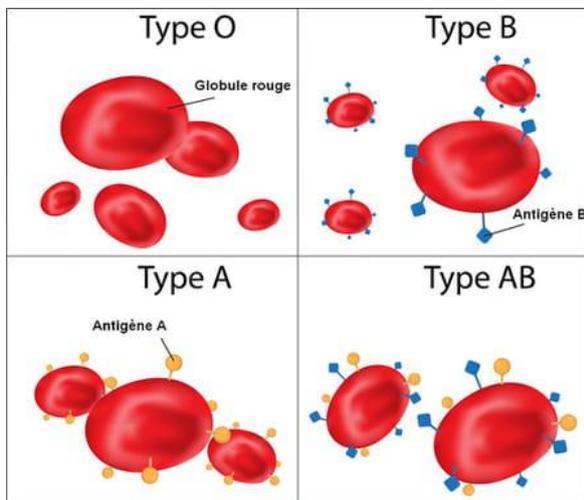


Figure 5 : Les différents types des groupes sanguins .

Il existe trois types d'antigènes A, B et AB et quatre groupes sanguins. Le groupe A possède uniquement les antigènes A à la surface des globules rouges (et des anticorps anti-B) le groupe B uniquement les B (et des anticorps anti-A), le groupe AB a les 2 types d'antigènes mais aucun anticorps. Le groupe O se caractérise par l'absence de ces deux types d'antigènes et la présence des deux anticorps.

Tableau 03 :Les antigènes et les anticorps des groupes sanguins du système ABO.

Groupe	<u>Antigène</u> sur le globule rouge	Anticorps dans le sérum
--------	--------------------------------------	-------------------------

<b>A</b>	A ou (A et O)	anti-B
<b>B</b>	B ou (B et O)	anti-A
<b>AB</b>	A et B	pas d'anticorps pour le système
<b>O</b>	O	anti-A et anti-B

**3. Les Lectines spécifiques des groupes sanguins :**

Plusieurs lectines agglutinent les hématies des fois avec une spécificité de groupe sanguin (tableau ) (Bird, 1974) .

**Tableau 04** : Exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins

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

**Chapitre III: Généralité sur la plante .****1. Généralité sur le genre genévrier :**

Le genévrier (*Juniperus*) appartient à la famille des cupressacées où il avoisine le Cupressus (Seigue, 1985). Il comprend approximativement 60 espèces réparties dans l'hémisphère Nord (Rezzi et al., 1999). Le genre *Juniperus* est divisé en trois sections: *Caryocedrus* (une espèce : *J. drupacea* Labille) ; *Oxycedrus* (neuf ou dix espèces) ; et *Sabina* (environs 50 espèces) (Adams, 1998) .C'est un arbre ou arbrisseau qui peut avoir cinq à dix mètre de hauteur (Huguette, 2008) à feuilles persistantes, étroites, linéaires, épineuses ressemblant à des aiguilles. Ses fleurs donnent des fruits improprement qualifiés de baies, globuleux et charnus (Bruneton, 2009 ; Huguette, 2008).

Le genévrier croît à l'état sauvage sur les terres arides, pierreuses exposées à la sécheresse, très rustiques. Il se trouve en Asie, en Amérique septentrionale, en Europe et sur le pourtour méditerranéen. (Huguett, 2008).

Les feuilles et les fruits de plusieurs espèces du genre *Juniperus* sont utilisés en médecine traditionnelle et leurs composés chimiques sont incorporés dans des préparations pharmaceutiques d'usage particulièrement antiseptique est attribué à la présence d'huiles essentielles (Medini et al., 2007).

**2. Description de plante :**

Le genévriers (*Juniperus phoenicea*) sont des arbres ou arbustes aromatique à feuilles opposées ou verticillées en aiguille ou en écaille .Les cônes mâles petits , terminaux ou axillaires . .Les cônes femelles formés d'un petit nombre d'écailles charnues plus au moins concrescentes à maturité et donnant naissance à une sorte de baie charnue .

La baie de genévrier est traditionnellement utilisée pour favoriser la digestion grâce à ses propriétés tonique et apéritive .(KERBOUCHE ,Lamia 2010)

**3. Classification de plante :**

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Tracheobionta

**Division :** Pinophyta

**Classe :** Pinopsida

**Ordre :** Pinales

**Famille :** Cupressaceae

**Genre :**Juniperus Phoenicea



**Figure 06 :** Juniperus Phoenicea

#### **4 . Intérêt de l'étude des plantes médicinales:**

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (Iserin, 2001). La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (Bruneton, 2009).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme model pour les composés pharmacologique actifs (Decaux,

2002). Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées huiles essentielles (Iserin ,2001)

**Chapitre VI : Matériels et méthodes**

Il s'agit d'une étude réalisée aux laboratoires de Génie Microbiologique Et Application de Université des frères Mentouri Constantine .

**1. Matériels****1.1 Matériel végétal :**

Les feuilles de *Juniperus phoenicea* (genévrier) étudiées ont été récoltées dans **la forêt de Djebel Ouahch Constantine.**



**Photo 01** : La plante de Genévrier ( photo originale )

### 1.2 Matériel Biologique:

Notre étude a porté sur les hématies humaines prélevées chez des donneurs de sang provenant de l'hôpital militaire de Constantine, et le sang fixée du lapin .

### 1.3 Matériels techniques :

#### ► Les Equipements de laboratoire :

Les matériels utilisés au laboratoire ont été : Agitateur ; Bain-marie ; Balance de précision électronique de portée maximale ; Bécher ; Broyeur ; Centrifugeuses ; Compresse coton ; Couteau ; Embouts ; Entonnoir ; Eprouvettes graduées (1 litre, ½ l, 100 ml, 50ml, 25ml, 10ml et 5ml,) ; Erlenmeyer ; Etuve ; Flacon de 125 ml; Marqueur ; Micropipettes; Portoir ; Réfrigérateur ; Rotavapor ; Sachets en plastique ; Spatules ; Colonne ; microplaque ; Tube à essai.

#### ► Solvants et Réactifs de laboratoire :

Les réactifs utilisés ont été : Eau de javel ; Eau distillée ; Eau physiologique ; NaCl ; NaOH ; KCl ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ; HCl .

## 2. Méthodes :

### 2.1. préparation des plantes :

Pour *Juniperus phoenicea* ( les feuilles ) ont été séchées après écrasées à l'aide de'un mixeur afin d'obtenir une poudre .

### 2.2. Extraction des Lectines :

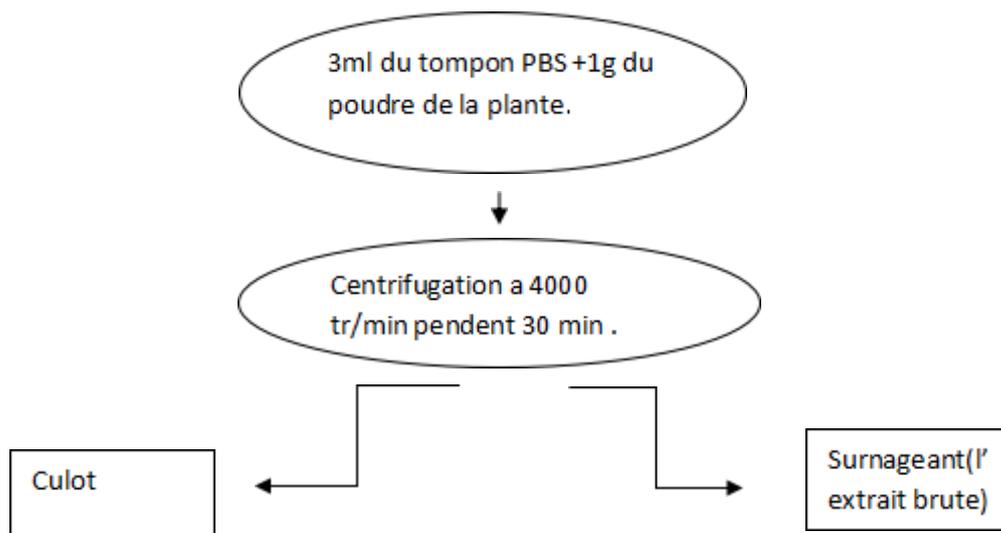
#### ● Le principe :

C'est une opération visant à récupérer des substances hydrosoluble à partir de la poudre de plantes à l'aide d'une solution tampon PBS (annexe 1) .

#### ● La technique d'extraction :

3ml du tampon PBS (0,1M pH=7,3)à été ajouté a 1g de poudre de notre plante dans un eppendorf 15ml et laissé pendant 48h à 4° c, après la centrifugation de la suspension à 4000tr/min pendant 30min le surnageant obtenu à constitué notre extrait brut .

L'extrait brut à été conservé au frais et a servi pour le test d'hémagglutination .



**Figure 07** : Schéma d'extraction de lectine à partir de la poudre de notre plante

### 2. 3 Activité hémagglutinante des extrait :

Le test d'hémagglutinante à été effectuée pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extrait de cinq plantes médicinales ( *Illicium verum* ; *Cucurbita pepo* ; *Solanum tuberosum* ; *Juniperus phoenicea* ; *Helanthus annuus*)

Ce test est basé sur l'observation de l'agglutination , et donc de la précipitation des érythrocytes en présence de lectine , IL a été porté sur les hématies du lapin .

#### Préparation de suspension des hématies à 3% :

Les hématies de groupe sanguines humaines ABO tests ont été débarrassés de toute trace de sérum ou plasma .

Pour cela elles ont été soumises à un lavage puis à une dilution .Puis , elles ont été mises en suspension à 3% pour l'emploi .

Ce teste pour tester la spécificité des lectines des extraits au groupe sanguin ABO .

Les hématies du lapin sont collectees pour la mise en évidence la présence des lectines dans l'extrait .

**Lavage des hématies :**

Dans un portoir contenant 4 tubes secs portant chacun la lettre correspondant aux groupes sanguines A,B,AB,O ont été disposé .

Les tubes à été centrifugé à 4000tr/min pendant 10min

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 un centrifugation ,l'opération est répété 3 fois jusqu'à l'obtention d'un surnageant claire .

**La dilution des hématies :**

Après avoir terminé le lavage le culot contenant les globule rouge est dilué par une solution saline d'eau physiologique sachant que 1ml des hématies dans 33ml d'eau physiologique afin d'obtenir des hématies à 3% .

**2.4. Test d'agglutination :**

Pour tester l'activité hémagglutinante des extraits ont été utilisées la technique sur microplaque.

Dans chaque puits d'une microplaque , 50 µl d'extrait brute de notre plante ont été déposés tout en ajoutant 50 µl du sang fixée du lapin .

Après 30min , l'agglutination est observée à l'œil nu .

**2.5 . La limites d'agglutination :**

Dans chaque puits, 50µl de solution tampon phosphate ont été ajoutés suivis de 50µl d'extrait brut de Juniperus qui lui, est placé uniquement au niveau du premier puits. Puis une gamme de concentration par double dilution à été réalisée dans les puits suivant Par la suite, on effectue l'ajout de 50µl des hématies du lapin dans tous les puits. La lecture a été effectuée 1heure après le dépôt des hématies à température ambiante.

### **2.6 . Le test de la température :**

Le test de la température de *Juniperus* a été déterminé en incubant des aliquotes de l'extrait brut à des degrés différents de température (40, 60, 80 ,et 100°C) dans un bain marie durant 30min de temps. Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été effectué.

### **2.7. Le test du pH :**

Dans 13 tubes à essai 0,5g de poudre de notre plante a été mis tout en ajoutant a 1,5ml du tampon phosphate à différent valeurs de ph en allant de 1 à 13 , après 24h d'incubation à 4°C , le teste d'agglutination a été effectuée sur le surnageant .

### **2.8 . Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides et des glycoprotéines**

Dans chaque puits d'une microplaque 50 µl de l'extrait a été déposé, tout en ajoutant 50 µl de solution de saccharides ou de glycoprotéine (0,1g/1ml de Na Cl 0,9%) (Annexe 2) [Arabinose, Maltose, BSA, Glucose, Cellobiose , fructose , Lactose , Galactose, Mannitol, Sorbitol, Saccharose , Mannose .]. Le mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante, cela permettre au lectines de reconnaitre le sucre, 50 µl des hématies du lapin à 3% ont été rajoutées. Après une heure la lecture a été faite à l'œil nu .

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

Ce test a été effectuées pour déduire la spécificité des extraits aux groupes sanguin, il a été réalisée sur les antigènes des hématies humaines appartenant au système du groupe sanguin ABO en utilisant les érythrocytes des différents groupes sanguins .

Dans un puits d'une microplaque, 50 µl de tampon PBS ont été ajouté à 50ul d'extrait diluée de plante et 50 µl des hématies de chaque groupe . Après 1heure d'incubation, la lecture a été faite à l'œil nu.

## Chapitre V : Résultats et Discussions :

## 1. Le test d'hémagglutination :

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

**Tableau 05** : Résultat d'agglutination des différents plantes .

Nom commun des plantes	Le nom scientifique	Résultat d'agglutination
Pomme de terre	<i>Solanum tuberosum</i>	++
Genévrier	<i>Juniperus phoenicea</i>	+++
Citrouille	<i>Cucurbita pepo</i>	---
Graine de tournesol	<i>Helianthus annuus</i>	---
Star anise	<i>Illicium verum</i>	++

--- : agglutination absente

++ : forte agglutination

+++ : très forte agglutination



**Photos 02** : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait de nos plantes

Nous avons testé l'activité d'hémagglutinante des extraits de cinq plantes médicinales : L'extrait de *Juniperus phoenicea* [ feuilles ] montre une très forte agglutination (+++) vis-à-

vis les hématies du lapin C'est Résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des racines des plantes de Moringa G Et Moringa M et qui ont montré également de très fortes agglutinations lors de l'addition de la suspension d'érythrocytes de lapin (Necib et al, 2014) , par contre l'extrait de *Illicium verum*, *Solanum tuberosum* )montre une forte agglutination(++). Ces résultats positifs indiquent qu'elles contiennent effectivement des substances à activité agglutinante sur les hématies (Lectine).

Par contre d'autres espèces n'ont pas cette activité (-) tel que *Cucurbita pepo* , *Helianthus annuus* .

La plante que nous avons choisie pour notre étude c'est : *Juniperus phoenicea* ( feuilles )

## 2. La limite d'hémagglutination

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

**Tableau 06** : L'Activité de la limite d'hémagglutination de *Juniperus phoenicea*

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

-- : Agglutination absente

++ : Forte agglutination

+++ : très forte agglutination

L'activité hémagglutinante de l'extrait de *Juniperus phoenicea* a montré une très forte agglutination lors de sa dilution au niveau des 1<sup>er</sup> puits alors qu'elle diminue au niveau des puits suivants jusqu'à 9<sup>eme</sup> puits (512 UH.ml<sup>-1</sup>), ( tableau ) et disparaît complètement au niveau des puits (10 jusqu'à 12).

Cette plante a une activité agglutinante sur les hématies donc ce qui indique la présence de lectines.

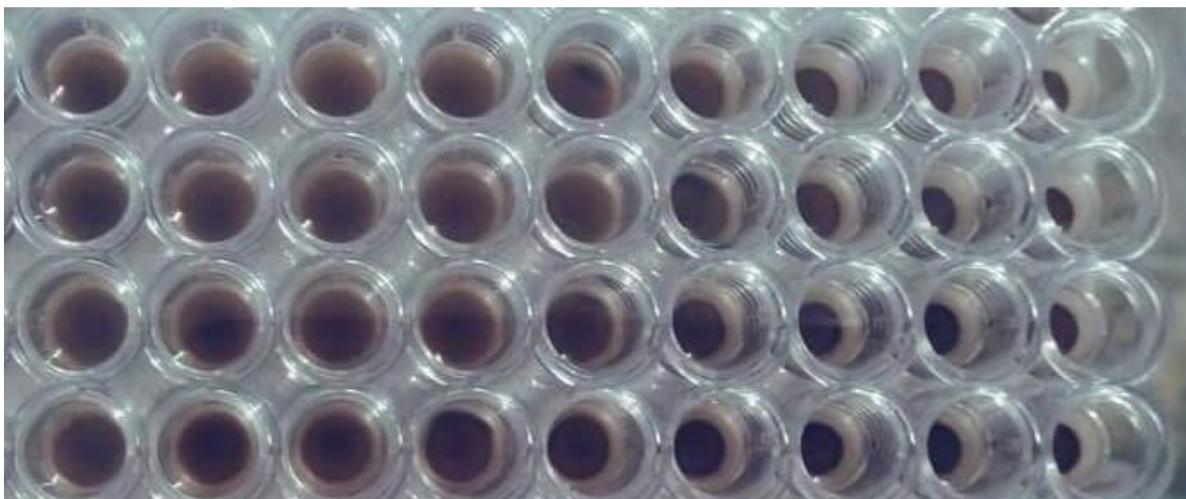
### 3. L'effet de température sur l'hémagglutination :

Les résultats obtenus après l'exposition de nos extraits à différentes températures (40° 60° 80° 100°C) ont été présentés dans le (tableau).

**Tableau 07** : l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Juniperus phoenicea*

T°C	40°	60°	80°	100°
Plante				
<i>Juniperus phoenicea</i>	+++	+++	+++	+++

+++ : très forte agglutination



**Photos 03** : l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Juniperus phoenicea*

Le traitement thermique des extraits bruts de *Juniperus* à différentes températures de 40°, 60°, 80°, 100 C pendant 45min, n'est pas suffisant pour inactiver totalement l'activité d'hémagglutinante. Donc cette Lectine présente une forte résistance à haute température (thermorésistante) , Le même résultat est prouvé également pour *Pterocladia capillacea* qui pousse jusqu'à 100°C (Necib et al., 2015).

**4 . L'effet du pH sur l'hémagglutination :**

**Tableau 08** : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de extrait de *Juniperus phoenicea*

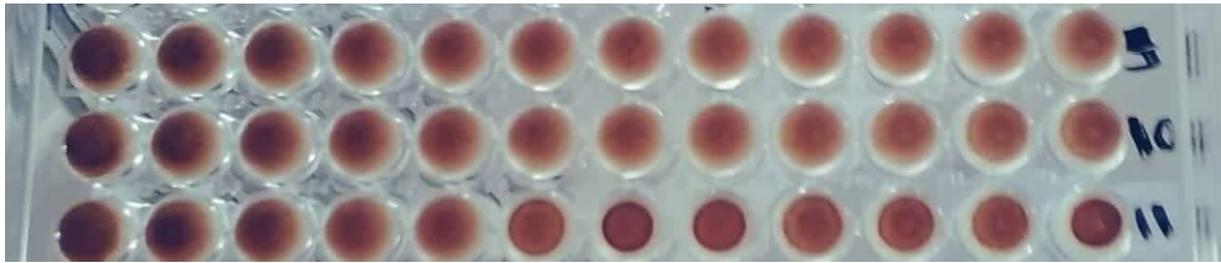
pH Plante	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Juniperus phoenicea</b>	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	+	-

+ : présence d'agglutination.

++ : forte d'agglutination .

\_ : absence d'agglutination .





**Photo 04** :L'effet du ph sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Juniperus phoenicea*

L'activité d'agglutination des lectines de *Juniperus phoenicea* (feuilles ) est stable dans un intervalle allant de (4à10) alors qu'elle est faible de (1à3) et plus faible dans 11 .

**5.Le test d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides :**

Pour déterminer la spécificité de notre plante vers une structure glucidique particulière, on a réalisé un test d'inhibition de l'hémagglutination par certaines saccharides (arabinose,glucose, fructose , cellobiose , lactose , mannitose, Sorbitol, Saccharose ,mannos)

L'agglutination est absente dans le cas ou la lectines va fixer l'inhibiteur plutôt que l'hématies (tableau)

**Tableau 09** : Inhibition de l'activité d'hémagglutination par des saccharides de *Juniperus phoenicea*

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/6	1/3	1/6	1/12	1/25	1/51	1/102	1/204
<b>Sucre Simple</b>		4	8	6	2	4	8	6	2	4	8
<b>Ara</b>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>GLU</b>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>CEL</b>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>FRUC</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>LACTOSE</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>MANITOSE</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

<b>SACCHAROS</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>E</b>											
<b>SORBITOLE</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>MAN</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>MALTOSE</b>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

- : Inhibition de l'activité hémagglutinante.

+ : pas d'inhibition .

La concentration minimale d'inhibition de ARA, GLU, CEL, SACCHAROSE et MALTOSE capable d'inhibe l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Juniperus phoenicea* a été respectivement 50 mM, 100mM, 100mM, 200mM et 6,25mM .

L'inhibition de l'activité hémagglutinante de l'extrait *Juniperus phoenicea* par FRUC et MAN a été plus forte ,la concentration minmale de cette sucre est <0,097mM .

Par contre , il n'inhibe pas l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Juniperus phoenicea* par lactose ,manitose et sorbitole .

Par conséquence , il est possible d'utiliser le fructose et mannose comme ligand dans la matrice d'affinité pour la purification de lectines de *Juniperus phoenicea* .



**Photo 05** : Le teste d'inhibition d'hémagglutination de l'extrait *Juniperus phoenicea* par des saccharides

**5.L'effet d'agglutination sur les hématies humaines ABO :**

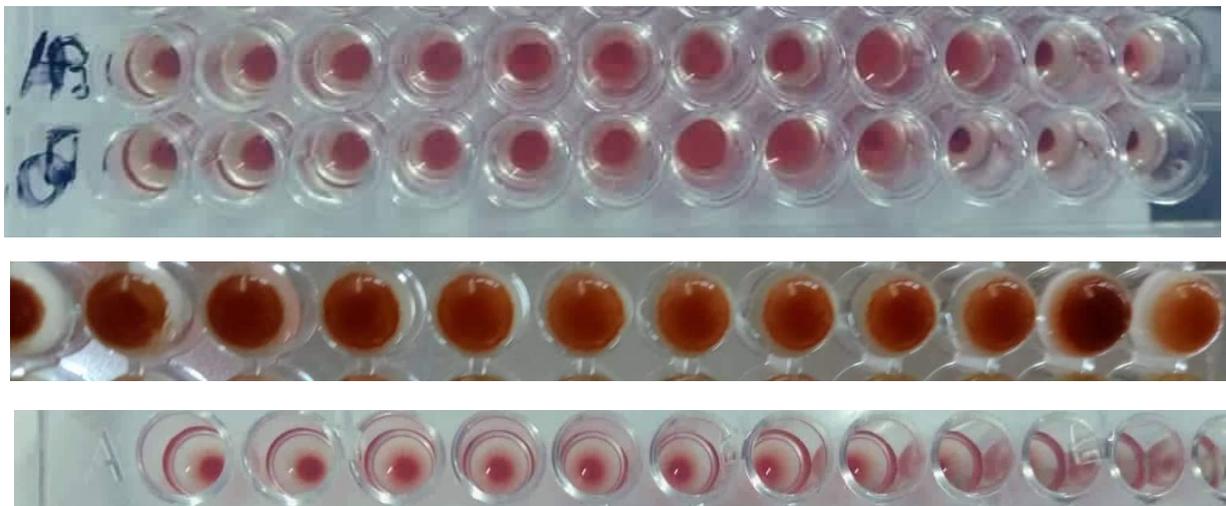
**Tableau 10 :** l'agglutination des hématies humaines ( A,B,O,AB) par l'extrait brut de *Juniperus phoenicea*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	-	-
<b>B</b>	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<b>O</b>	++	++	++	++	++	++	+		-	-	-	-
<b>AB</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : Agglutination absente

+ : Faible agglutination

++ : Forte agglutination



**Photo 06 :** L'agglutination des hématies humains A , O, B , AB par l'extrait brut de *Juniperus phoenicea*.

- L'extrait de *Juniperus phoenicea* agglutine avec le groupe A,B et O et n'est pas agglutine avec AB .

-Donc le lectine ne connu pas les sucres qu'existe dans le groupe AB

## Conclusion et Perspective

### Conclusion et Perspective :

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

◆ Nos résultats indiquent que les lectines de *Juniperus Phoenicea* sont thermorésistants et plus résistant à la température

◆ L'extrait des lectines de *Juniperus Phoenicea* (feuilles) est stable dans un intervalle allant de (pH=4 à 10) alors qu'elle est faible de (pH=1 à 3) et plus faible dans Ph=11.

◆ Le test d'inhibition d'héماغglutination révèle qu'il y a une affinité différente chez les monosaccharides et les glycoprotéines, divers sucres sont utilisés pour trouver les saccharides capables d'inhiber le processus d'agglutination cellulaire, cette affinité de la lectine pour les sucres peut être utilisée pour sa purification.

◆ L'extrait de *Juniperus* ont montré une forte inhibition sauf avec les sucres Fructose et Mannose

◆ Les perspectives à court terme de ce travail sont nombreuses. Il est possible d'utiliser le fructose et mannose comme ligand dans la matrice d'affinité pour la purification de lectines de *Juniperus*, Des tests de l'activité antivirale, l'activité anticancéreuse.

◆ Pour avoir des échantillons des lectines pur, il faut procéder à d'autres techniques de purification

◆ Notre travail montre que les lectines sont des protéines à pouvoir héماغglutinant sur les différentes hématies du système ABO humain.

◆ L'extraction de *Juniperus Phoenicea* étudié a pour sa part démontré une spécificité pour les groupes sanguins A, B, O du système ABO. Ceci permet son utilisation en tant que réactif de groupage qui agglutine avec les hématies A, B, O.

◆ Les lectines montrent une spécificité pour les hématies des groupes sanguins du système ABO, donc agglutinent des types de groupe sanguins.

## Références Bibliographiques

### Références bibliographiques :

**Adams, RP. (1998).** the Leaf Essential Oils And Chemotaxonomy Of Juniperus

Sect.Juniperus. . Biochemical systematics and Ecology. 26 : 637-645 .

**BIRD G.W.G (1974).** Plant and other agglutinins in the study of some human erythrocyte anomalies. Ann. N.Y. Acad. Sci ; 234,129.

**BOYD, W.C. and SHAPLEIGH, E, (1954).** Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). Science, 119, 419.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3e Ed : Lavoisier ;Paris. P.1120 .

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4e Ed : Lavoisier ;Paris. P.1269 .

**CHRISPEELS, MJ and RAIKHEL, NV (1991).** Lectins, Lectin genes and their role in plant defense. Plant cell, 3, 1-9.

**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.

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

**Decaux, I. (2002).** Phytothérapie : Mode d'emploi. Ed : Le bien public. Pp 6 .

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

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

**GUILLOT, J., GUERRY, M., KONSKA, 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.

**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.

## Références Bibliographiques

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

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

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

**Huguette, M. (2008).** La route des épices, aromatisants, condiments et mélange d'épices. Ed : Sang de la terre, Paris. p 190.

**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.

**Iserin, P. (2001).** Encyclopedie des plantes medicinales. Ed : Larousse Bourdasse .Paris .p.335

**JAFFE W.G. hemagglutinins (Lectins) (1980).** In toxic constituents of plant foodstuffs. New -York,, Academic Press, 502 p.

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

**LEE, Y.C. and LEE, R.T. (1995)** Carbohydrate-protein interactions: basis of glycobiology. *Acc. Chem. Res.*, 28, 321-327.

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

**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.

**Medini, H., Elaissi, A., Chraief, I., Bannour, F., Farhat, F., Ben Salah, M., Khoudja, M. and Chemli, R. (2007).** Composition and variability of the essential oils of the leaves from *Juniperus phoenicea* L. from Tunisia. *Revue des region arides.* 1: 185-189

## Références Bibliographiques

**MURDOCK L.L SHADE R.E (2002).** Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insectectes. *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.

**Necib Y, Bahi A, MerouaneF ,Bouadi H , Boulahrouf K .(2015).**comparativestudy of a new lectinextractedfromroots of plants: *Cyperusrotundus*, *Pistacialentiscus* and *Rutagraveolens*. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 4(1), 1720-1733.

**PARK, S., LEE, M.R. and SHIN, I. (2008)** Chemical tools for functional studies of glycans. *Chem. Soc. Rev.*, 37, 1579-1591.

**Peumans.W.J , Vandamme.J.M. (1995).**lectine as plant defense proteins.*Plant Physiol.*109,347-352. *PharmacolToxicol.* 35, 655-677. Pierre.M,lys.M,Secrets des plantes pour se soigner naturellement Relié – 14 mars 2007, 978- 2844165862.

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

**Rezzi, S., cavaleiro, C., Salgueiro, L., Bighelli, A., Casanova, J., and Proença da Cunha A. (1999).** Intraspecific Chemical Variability of The Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea* subs . *turbinata* from Corsica. *Biochemical systematics and Ecology* .29: 179- 188

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

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

**Seigue, A. (1985).** La foret circumméditerranéenne et ses problèmes. Ed : G.P Maisonneuve et Larose. P 216.

**Sharon N, Lis H. (1993).** Carbohydrate in cell recongnition. *Scientific American.*268(1), 82-89.

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

**Steven Gundry** Le paradoxe des plantes : Les dangers cachés de la nourriture saine à l'origine de maladies et de prise de Broché – Livre grand format, 12 juillet 2018

**Sumner J B, Howell SF. (1936).** Identification of hémagglutinin of Jack Beanwith Concanavalin A. *J. Bacteriol.* 32(2), 227-237.

## Références Bibliographiques

**W**eis 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.

**Y**eh .K.W, Chen.J.C, Lin .M.I , Chen .Y.M , Lin CY. (1997). Functionalactivity of sporamin from sweet potato (Ipomoea batatas Lam.): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity. Plant Mol Biol.33,565–570 .

## Annexe

### Annexe 01 : Préparation du Tampon PBS

<b>Produits chimiques</b>	<b>Quantités</b>
Chlorure de sodium ( NaCl)	8.006 g
Disodium phosphate (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	1.1328 g
Phosphate de potassium monobasique (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0.204235 g
Chlorure de potassium (KCL)	0.201285 g
Eau distillée	2 L

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : KHELIFI Bouchra  
MELKI Rayane

## Extraction des lectines à partir d'une plante médicinale : *Juniperus Phoenicea*

### Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

#### 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.

Notre étude portait sur l'extraction de lectine à partir de plante de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) à été faite par broyage et macération dans une solution tampon PBS (annexe 1) .

Leur présence dans le plante à été effectué par le test d'hémagglutination .L'activité hémagglutinante de *Juniperus phoenicea* a été 1:9 (512),Le traitement thermique des lectines de Juniperus de 40 jusqu'à 100 n'a pas été suffisant pour leur inactivation donc est thermorésistant , pour le test du pH reste stable de 4 jusque 10 .

Les lectines de *Juniperus phoenicea* ont été spécifiquement inhibé par des saccharide : Fructose ,Mannose , et pour le système ABO les lectines agglutine l'hématie de groupe A,B ,O donc est spécifique avec ces groupe .

**Mots-clefs :** Lectines , Extraction , Hémmagglutination , Sucres , Saccharide , Inibition , Système ABO .

#### Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Génie Microbiologique et Application (Université Frères Mentouri,Constantine 1).

**Encadreur :** NECIB.Y (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** BAHL.A (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** DJEMAI ZOUGHLACHE.S (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

