

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 cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية

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 et caractérisation des lectines à partir des racines
des plantes *Mentha x piperita*, *punica granatum* et *morus alba*.**

Présenté par : BOUABDALLAH Teqwa
BENSSACI Zeyneb

Le 13/06/2023

Jury d'évaluation :

Président : BAHIA (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

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

Examineur : TOUMLMES (MAB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2022 – 2023



Remerciements

Ce travail est le fruit de la combinaison d'efforts de plusieurs personnes.

Nous remercions tout d'abord le tout-puissant qui, par sa grâce, nous a permis d'arriver au bout de nos efforts en nous donnant la santé, la force, le courage et en nous faisant entourer des merveilleuses personnes dont on tient à remercier.

*Nos remerciements s'adressent à notre encadreur Monsieur **NECIB Youcef** Professeure au département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire à Université des Frères Mentouri Constantine, pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, ses compétences et sa clairvoyance nous ont été d'une aide inestimable.*

*On tient à remercier également le membre du jury Mme **BAHI Ahlem** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*On adresse pareillement nos remerciements les plus sincères à Monsieur **TOUMI Mohammed Esseddik**, pour toute la compréhension qu'il a montré la disponibilité et la patience dont il a fait preuve à notre égard pendant notre parcours, pour sa générosité scientifique, ses conseils précieux et ses encouragements qu'il nous a prodigués tout au long de ce mémoire, et merci autrefois pour l'examen de notre mémoire.*

Tous les enseignants de faculté de science de la nature et de la vie, et plus précisément les enseignants du département de biochimie et biologie cellulaire et moléculaire, pour leurs enseignements de qualité et leurs conseils qui nous ont permis de poursuivre notre itinéraire académique jusqu'à présent.



Je dédie cet ouvrage

*À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié maman, **Houhamdi Fatima Zohra.***

*À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Tahar Bouabdallah.***

*À toi mon grand-père **Bouabdallah Ali**, ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.*

*À mes frères **Mouaadh** et **Aymen**, et adorable petite sœur **Tawba**, qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*À tous les membres de ma grande famille, **Bouabdallah** et **Houhamdi**, spécialement **Nardjes**, **Amira** et **Wahiba**.*

*À mes meilleures amies **Zayneb**, et **Rayan**, Merci d'être celui sur qui je peux toujours compter. Vous êtes la plus grande bénédiction de toutes.*

*Sans oublier mes chères amies **Ahlam**, **feriel**, et **Chaïma** Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*À mon cher enseignant, **Toumi mouhammed essedik** que je respecte et apprécie, je dis merci de nous avoir guidés étape par étape dans l'accomplissement de ce travail.*

À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Merci!

Teqwa.



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

*A celui qui m'a souhaité le meilleur dans cette vie et à
celui qui m'a aimé sans limites, à la plus grande
bénédiction de Dieu, mes chers parents.*

*À mon soutien dans ce monde et la source de joie et
d'ambiance mon cher frère **Mohammad** et mes belles
sœurs **Chaïma** et **Malak**.*

*Aux amis d'enfance et cousins les plus chers **Nesrine**,
wissal, **Asma** et **koudwa**.*

A toute ma famille

*A mes très chers amis **Teqwa**, **Rayan**, **Feriel**, **Ahlam** et
Chaïma.*

*A mes chers professeurs sur tout mon professeur **Toumi**
Mohammed Essedik qui nous a guidé et nous a donné
des précieux conseils.*

Zayneb

Résumé

Les lectines sont des protéines ou des glycoprotéines ubiquitaires, ayant une nature non immunogène capable de reconnaître les motifs des hydrates de carbone des glucides complexes et de s'y lier spécifiquement et de manière réversible sans altérer la structure conformationnelle des liaisons glucosylées reconnues, ce qui entraîne, dans certains cas, l'agglutination des globules rouges. Les lectines appartiennent à une catégorie importante d'organismes vivants et présentent une large gamme d'activités biologiques essentielles pour le fonctionnement cellulaire et l'ensemble de l'organisme. En raison de l'extrême spécificité de leur liaison réversible aux hydrates de carbone, elles constituent des outils précieux largement utilisés en biologie et en médecine.

Notre étude s'est concentrée sur la recherche et l'extraction des lectines à partir des racines de quatorze plantes différentes, réalisées par broyage et trempage dans une solution de PBS. Un test d'agglutination sanguine a été réalisé pour détecter la présence de lectines dans les racines des plantes. Une agglutination a été observée avec les racines de la menthe poivrée, les racines de l'arbuste à baies et les racines du grenadier, tandis que les autres plantes n'ont pas montré d'agglutination, ce qui indique l'absence de lectines dans ces plantes. Une hémagglutination de titre élevé a été observé chez l'extrait protéique de menthe poivrée (*Mentha x piperita*).

Les lectines présentes dans les racines du mûrier et les racines du grenadier n'ont pas été inhibées par les sucres. L'étude a été poursuivie uniquement avec les racines de la menthe poivrée, car elles étaient les seules à avoir leurs lectines inhibées par les sucres suivants : maltose, fructose, mannitol, sorbitol et méthyl- β -L-fucopyranoside.

Les différents extraits testés ont une hémagglutination vis-à-vis les globules rouges humaines, seuls l'extrait de menthe a une sélectivité pour le groupe sanguin A.

L'étude des caractéristiques biochimiques des lectines présentées dans la menthe poivrée a révélé que ces macromolécules ont une thermostabilité, et un pH optimal égale 6 pour une activité agglutinante de titre 512 UHA.

Ces lectines de menthe poivrée ont été partiellement purifiées en utilisant une chromatographie sur gel. Où nous avons obtenu différents pics ayant une activité agglutinante.

Mots clé : Lectines, Extraction, Agglutination, Sucres, Glucides, Spécificité, Sélectivité, Inhibition, Groupes sanguins.

ملخص

الليكتينات عبارة عن بروتينات أو بروتينات سكرية واسعة الانتشار وذات طبيعة غير مناعية قادرة على التعرف على شقوق الكربوهيدرات للكربوهيدرات المعقدة والارتباط بها بشكل خاص وعكسها دون تغيير التركيب التساهمي للروابط الجليكوزيلية المعترف بها ، والتي تسبب في بعض الحالات تراص كريات الدم الحمراء. تنتمي الليكتينات إلى قسم مهم من الكائنات الحية وتعرض مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية المهمة لعمل الخلية والكائن الحي بأكمله ، نظراً للخصوصية العالية للارتباط القابل للانعكاس بهيدرات الكربون ، فهي أدوات قيمة مستخدمة على نطاق واسع في علم الأحياء والطب.

ركزت دراستنا على البحث عن اللكتين واستخلاصه من جذور اربعة عشر نبتة مختلفة و تم اجراؤه عن طريق الطحن و النقع في محلول PBS .

تم اجراء اختبار التراص الدموي للكشف عن وجود اللكتين في جذور النباتات، حيث تم ملاحظة تراص مع جذور نبات النعناع الفلفلي، جذور شجرة التوت و جذور شجرة الرمان في حين ان باقي النباتات لم تحقق التراص و بالتالي غياب اللكتين فيها. أبدى مستخلص النعناع الفلفلي حدة تراص مرتفعة.

اللكتين المتواجد في جذور شجرة التوت و جذور شجرة الرمان لم يتم تثبيطه مع السكريات،

تم إكمال الدراسة مع جذور نبات النعناع الفلفلي فقط ، لأنها الوحيدة التي تم تثبيط اللكتين بها بواسطة السكريات التالية :المالتوز ، الفركتوز، المانيتول ،السوربيتول ،الميثيل B-L فيكوبرانوز كما تحقق المستخلصات النباتية التي تم اختبارها تراص دموي مع خلايا الدم الحمراء البشرية، مستخلص النعناع هو الوحيد الذي يمتلك انتقائية لفصيلة الدم. A.

كشفت دراسة الخصائص البيوكيميائية للكتين المتواجد في النعناع ان هذه الجزيئات لديها مقاومة حرارية، و درجة حموضة تقدر ب 6 لحدة تراص UHU.512

تمت تنقية ليكتين النعناع جزئياً باستخدام كروماتوغرافيا الجل حيث حصلنا على قمم مختلفة ذات بنشاط تراص.

الكلمات المفتاحية : لكتينات، استخلاص، تراص، سكريات، كربوهيدرات، خصوصية، انتقائية، تثبيط، فصائل الدم.

الكلمات المفتاحية : لكتينات، استخلاص، تراص، سكريات، كربوهيدرات، خصوصية، انتقائية، تثبيط، فصائل الدم.

Abstract

Lectins are proteins or glycoproteins that are widely distributed and have a non-immunogenic nature. They have the ability to recognize carbohydrate binding sites on complex carbohydrates and specifically bind to them without altering the conformational structure of the recognized glycosylated bonds. In some cases, this interaction leads to the agglutination of red blood cells. Lectins belong to an important class of biological entities and exhibit a wide range of crucial biological activities in cellular and organismal functions. Due to their highly specific reversible carbohydrate binding properties, lectins are valuable tools extensively used in biology and medicine.

Our study focused on the investigation and extraction of lectins from the roots of fourteen different plants, which were processed through grinding and soaking in a PBS solution.

A hemagglutination test was performed to detect the presence of lectin in plant roots, agglutination was observed with the roots of the peppermint plant, the roots of the mulberry tree, and the roots of the pomegranate tree, while the remaining plants did not achieve agglutination, indicating the absence of lectin in them.

The peppermint extract has high agglutination activity. Lectin present in the roots of the mulberry tree and pomegranate tree was not precipitated with the sugars

The study was completed only with the roots of the peppermint plant, because it is the only one in which lectin was inhibited by the following polysaccharides: maltose, fructose, mannitol, sorbitol, methyl B-L phycopyranosidee.

The plant extracts tested achieved hemagglutination with human red blood cells. The peppermint extract was the only one that exhibited selectivity for blood type A.

The study of the biochemical properties of the lectin found in mint revealed that these molecules have a thermal resistance and a pH value of 6 for stacking unit 512(UHA).

Peppermint lectin was partially purified using gel chromatography, where we obtained different peaks with stacking activity.

Key words: Lectins, Extraction, Agglutination, Sugars, Carbohydrates, Selectivity, Inhibition, Blood groups.

Liste des figures

Figure 1 : Représentation graphique de la structure de l'E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T)(Somers et al., 2000) .	19
Figure 2 : Représentation graphique d'un monomère de concanvaline A de <i>Canavalia ensiformis</i> en complexe avec le trimannosoïde.(ŠNAJDROVÁ, 2006).	21
Figure 3: Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec l'acide sialique.(ŠNAJDROVÁ, 2006).	22
Figure 4: Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie d'E. Coli.(ŠNAJDROVÁ, 2006)	22
Figure 5: Familles de lectines extracellulaires et membranaires impliquées dans l'interface avec les cellules chez les mammifères. Les CRDs des différentes familles sont représentés par CL pour les C-type lectines, GL pour les galectines et IL pour les I-type le (Bulteau, 2020)	25
Figure 6: Modèle schématique des interactions de lectine avec l'enveloppe microbienne/glycan de surface cellulaire pour promouvoir les effets antimicrobiens et anti parasitaires. (Breitenbach Barroso Coelho et al., 2018)	29
Figure 7: Schéma de principaux processus médiés par les lectines.	29
Figure 8 : L'influence de lectine sur les cellules immunitaire T.....	33
Figure 9: Les antigènes et les anticorps des groupes sanguins du système ABO.....	34
Figure 10: Structure des antigènes de groupe sanguins du système ABO.(Parham, 2003).....	35
Figure 11: Morphologie générale de <i>Mentha piperita</i> . (A) Aspect général de la plante (Originale, 2022), (B) feuilles vertes (Anonyme, 2021), (C) Fleur violacée (ArnaudLerch, 2015)	37
Figure12: La forme générale du mûrier blanc	38
Figure 13: Caractéristiques botaniques du grenadier(Athmen Reguieg Yssaad, K. Hammadi, 2017)	40
Figure 14: Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres racinaires des plantes <i>Mentha x piperita</i> , <i>Morus alba</i> et <i>Punica granatum</i>	43
Figure 15 : Colonne de DEAE-Sephacyl.	46
Figure 16: Boudin de dialyse avant l'opération de dialyse.....	47
Figure 17: Collection des fractions purifiées par le collecteur de fractions GILSON FC80.	48
Figure 18: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de <i>Mentha x piperita</i>	55
Figure 19: Courbe représentant le profil d'élution de l'absorbance en fonction du volume d'élution des différentes fractions protéiques.....	59

Liste des tableaux

Tableau 1 : exemples d'activités biologiques décrites pour les lectines extraites de légumineuses.	20
Tableau 2 : Les lectines vacuolaires avec la spécificité de leur liaison aux glucides et leur localisation subcellulaire.(De Coninck and Van Damme, 2022).....	23
Tableau 3 :Activité antimicrobienne de certaines lectines végétales (Iordache <i>et al.</i> , 2015).....	28
Tableau 4 : Les différentes applications des lectines.....	32
Tableau 5 : Résultats de tests d'hémagglutination.....	51
Tableau 6 : L'Activité de la limite d'hémagglutination de <i>Punica granatum</i> , <i>Mentha x piperita</i> , <i>Morus alba</i>	52
Tableau 7 : L'agglutination des hématies humaines (A, B, O) par l'extrait brut de <i>Mentha x piperita</i> , <i>Morus alba</i> et <i>Punica granatum</i>	53
Tableau 8 : L'Activité d'inhibition d'hémagglutination de <i>Punica granatum</i> , <i>Mentha x piperita</i> , <i>Morus alba</i> par les saccharides.	54
Tableau 9 : Résultats d'effet de température sur l'hémagglutination de <i>mentha x piperita</i>	55
Tableau 10 : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante d'extrait de <i>Mentha x piperita</i>	56
Tableau 11 : Résultats de test d'HA après l'application de la technique «salting out ».....	57
Tableau 12 : Résultats d'extraction de 51 fractions de <i>Mentha x piperita</i> obtenus après la colonne échangeuse d'ions.	58
Tableau 13 : Résultats d'extraction de 51 fractions de <i>Mentha x piperita</i> obtenus après chromatographie sur colonne de G-50.	60

Liste des abréviations

Abs	Absorbance
AC	Anticorps
AG	Antigène
AMS	Sulfate d'ammonium
BSA	Sérum albumine bovin
CDR	Domaine de reconnaissance saccharidique
DEAE-Sephacyl	Diethylaminoethyl-Sephacyl gel
EB	Échantillon brut
EP	Échantillon purifié
Fuc	Fucose
Gal	Galactose
Galec	Galectines
GlcNAc	N-acétylglucosamine
Glu	Glucose
GNA	Galanthus nivalis lectin
GR	Globules rouges
HA	Hémagglutination
KDa	Kilo Dalton
NaCl	Chlorure de sodium
PAMP	Pathogen associated molecular pattern
PBS	Phosphate buffered saline
RBC	Globules rouges ou Red blood cells
Rip	Protéine Inactivant les Ribosomes
Rpm	Rond par minute
TLR	Toll-like receptor
XSP30	xylem sap protein

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Etude bibliographique

Généralités sur les lectines

1	Définition des lectines	17
2	Historique	17
3	Distribution des lectines dans le monde vivant	18
3.1	Chez les microorganismes	18
3.2	Chez l'animale.....	19
3.3	Chez les plantes	20
4	Structure des lectines	21
4.1	Lectines de structure simple.....	21
4.2	Les lectines en mosaïques	21
4.3	Les assemblages macromoléculaires.....	22
5	La spécificité et l'affinité des lectines.....	22
6	Les sites de liaisons des lectines.....	23
7	La classification des lectines	24
7.1	Chez les animaux	24
7.1.1	Les lectines extracellulaires	24
7.1.2	Les lectines intracellulaires.....	25
7.2	Chez les végétaux	25
7.2.1	Les mérolectines.....	25
7.2.2	Les hololectines	25
7.2.3	Les chimérolectines	25
7.2.4	Les superlectines	26
8	Les propriétés des lectines	26
8.1	L'interaction lectine–glucide	26
8.2	L'activité hémagglutinante	26
8.3	L'activité mitogène	26
8.4	Activité similaire à l'activité hormonale	27
8.5	Activité anticancéreuse	27

8.6	Activité antimicrobienne et antiparasitaire	27
8.7	Activité antivirale.....	28
8.8	Activité antifongique	28
8.9	Activité antioxydante.....	29
9	Les fonctions biologiques des lectines	30
9.1	Chez les végétaux	30
9.2	Chez l'être humain.....	31
10	Application et utilisation des lectines.....	31
11	Le rôle immunitaire des lectines	32
12	Système ABO	33
13	Groupe ABO.....	33
14	Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO	34
15	Les lectines spécifiques des groupes sanguins	35

Generalité sur les plantes

1	Généralités sur la menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>)	37
1.1	Origine et culture.....	37
1.2	Description botanique	37
2	Généralités sur le mûrier (<i>Morus alba</i>)	38
2.1	Généralités sur la plante.....	38
2.2	Le mûrier blanc.....	38
2.2.1	Description botanique	38
2.3	Classification botanique	39
3	Généralité sur le grenadier (<i>Punica granatum</i>).....	39
3.1	Caractères botaniques de grenadier	39
3.2	Classification botanique	40

Matériels et méthodes

1	Matériels.....	42
1.1	Le matériel vivant	42
1.2	Le matériel végétal	42
2	Méthodes	42
2.1	La Préparation des plantes	42
2.2	L'Extraction des protéines totales	42
2.3	L'activité hémagglutinante de l'extrait.....	43
2.4	Test d'agglutination.....	44
2.5	La limite d'agglutination	44
2.6	Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO	45
2.7	Le test d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides	45

2.8	L'effet de température sur l'héماغglutination.....	45
2.9	L'effet du pH sur l'héماغglutination.....	46
2.10	Purification de la lectine de <i>mentha X piperita</i>	46
2.10.1	Précipitation et fractionnement des protéines par salting out :.....	46
2.10.2	Dialyse :.....	46
2.10.3	Chromatographie échangeuse d'anions sur colonne de DEAE-Sephacyl :.....	47
2.11	Extraction des lectines par chromatographie d'exclusion	48
2.12	Dosage des protéines	49*

Résultats et discussion

1	Le test d'héماغglutination.....	51
2	Test des limites d'héماغglutination	52
3	L'effet d'agglutination sur les héματος humaines ABO	53
4	Le test d'inhibition d'agglutination par les saccharides	54
5	Effet de température sur l'héماغglutination	55
6	L'effet du pH sur l'héماغglutination.....	56
7	Résultat de purification	57
7.1	Les résultats de test d'HA :.....	58
8	L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de Sephadex G-50.....	59

Conclusion et prescriptive

1	Conclusion	63
2	Perspectives.....	63

Références

Annexes

Introduction



Introduction

Les lectines, également connues sous le nom d'agglutinines, sont des protéines ou des glycoprotéines présentes dans une variété d'organismes vivants, y compris les plantes, les animaux et les microorganismes. Ces biomolécules possèdent la capacité de se lier spécifiquement à des sucres ou à des motifs glucidiques présents à la surface des cellules.

Dans cette recherche, nous nous concentrerons sur l'étude approfondie des lectines, en examinant leur structure, leur fonction et leurs applications potentielles. Nous explorerons les différentes classes de lectines existantes, telles que les lectines végétales, animales et microbiennes, en mettant l'accent sur leurs caractéristiques distinctives et leurs mécanismes de liaison aux sucres.

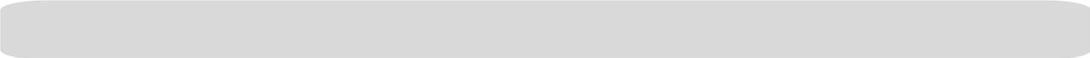
L'un des aspects clés de cette étude sera de comprendre les rôles biologiques des lectines. Nous analyserons comment les lectines interagissent avec les cellules et les tissus, et comment ces interactions peuvent avoir des implications dans des processus biologiques tels que la reconnaissance des pathogènes, l'adhérence cellulaire et la modulation de la réponse immunitaire.

Les lectines sont présentées en quantité plus importante chez les végétaux plutôt que chez les animaux, pour cette raison l'objectif principal de notre travail est de chercher la présence des lectines dans les racines de la menthe poivrée de la famille (Lamiacées), le murier de la famille (Moraceae) et le grenadier de la famille (Punicaceae), et l'extraction de ces derniers à partir de ces plantes avec des études biologiques.

Objectif du travail :

- Extraction et caractérisation des lectines à partir des racines de la menthe poivrée.
- Purification par chromatographie sur colonne de Séphadex G-50.
- Autre purification par chromatographie sur colonne de Séphadex G-50.

Chapitre I
Généralités sur les lectines



1 Définition des lectines

Le terme "lectine" a été introduit par Boyd et Shapleigh en 1954, du latin "légère", qui signifie "choisir" ou "sélectionner"(Boyd and Shapleigh, 1954).

Les lectines sont des protéines de liaison aux glucides d'origine non immunitaire qui reconnaissent, en particulier, diverses structures de sucre et médient divers processus biologiques.(Lis and Sharon, 1998). Elles sont aussi appelées agglutinines, car elles sont capables d'agglutiner les cellules (ex. globules rouges du sang).

Les lectines sont définies en termes de protéines qui agglutinent spécifiquement les globules rouges avec des sucres. Cependant, dans certains cas, la spécificité du sucre est inconnue, d'où le nom d'hémagglutinine.(Lam and Ng, 2011a).

Il existe trois principaux types de protéines de lectine basées sur le fait qu'elles contiennent au moins un domaine de liaison aux glucides, et ces types sont les mérolectines, les hololectines et les chimérolectines.(Peumans and Van Damme, 1995).

Les lectines sont des molécules ubiquitaires, car elles sont présentes dans toutes sortes d'organismes, dans les micro-organismes (virus, bactéries), les plantes, les insectes et les animaux. Ils sont habituellement composés de deux (dimères) ou quatre (tétramères) sous-unités identiques. (Hopkins, Evrard and Rambour, 2003).

Les lectines jouent un rôle crucial dans de nombreux processus biologiques tels que les événements de reconnaissance intercellulaire tels que la défense de l'hôte, la fécondation, les métastases tumorales, l'embryogenèse, le mimétisme mitogène, la réponse immunitaire innée et le trafic de protéines.(Surya and Haridas, 2018)

2 Historique

À la fin du 19^{ème} siècle, commencent à apparaître des études mettant en évidence l'existence de protéines capables d'agglutiner naturellement des globules rouges ou érythrocytes ; Ces protéines ont été décrites pour la première fois en 1888 par Peter Herman Silltmark lors de sa thèse de doctorat à l'Université de Dorpat (aujourd'hui Tartu en Estonie), où il présente une hémagglutinine extraite des graines du ricin (*Ricinus Communis*)(Sharon and Lis, 2004).

En 1898, Elfstrand décrit l'activité des protéines dans l'agglutination des érythrocytes ; qui a conduit à l'introduction du terme "agglutinine"(Elfstrand, 1898).

En 1919, James B. Sumner de l'Université Cornell (Ithaca, New York) a isolé la concanvaline A des pois (*Canavalia ensiformis*); ce fut la première hémagglutinine pure obtenue (Sumner, 1919).

En 1936, Sumner et Howell ont rapporté que le saccharose pouvait inhiber l'agglutination de la concanvaline A (Sumner and Howell, 1936).

En 1954, Boyd et Shapleigh ont démontré l'agglutination sélective des érythrocytes humains de groupes sanguins différents par ces protéines ; Cette découverte a incité Boyd et Shapleigh à proposer le nom de lectine pour ces protéines, du latin *legere*, signifiant «choisir» (Boyd and Shapleigh, 1954).

3 Distribution des lectines dans le monde vivant

Décrits à l'origine dans le règne végétal, où ils sont particulièrement abondants, notamment dans les légumineuses et les graminées, ces molécules sont pratiquement universelles. Ils sont en effet fréquents dans le monde vivant puisqu'on les retrouve même dans les virus et les bactéries. Par exemple, les virus de la grippe ont des pointes d'hémagglutinine qui leur permettent de s'ancrer à la surface des cellules épithéliales oropharyngées. On trouve également des lectines dans les protozoaires, tels qu'*Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*, et on les trouve même chez les animaux supérieurs, en particulier chez l'homme, où elles sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques.(Bouchara ET Tronchin 2003)

3.1 Chez les microorganismes

Dans la nature, les lectines ont diverses fonctions, notamment la reconnaissance des cellules hôtes par les micro-organismes pathogènes.(Bouchara and Tronchin, 2003).

Les micro-organismes pathogènes tels que les virus, les bactéries, les champignons et les parasites eucaryotes utilisent fréquemment des lectines pour reconnaître les sucres à la surface des cellules hôtes. Les parasites eucaryotes utilisent habituellement des lectines pour reconnaître les sucres à la surface des cellules hôtes. Ces interactions lectine-sucres sont également impliquées dans l'adhésion à des tissus riches en sucre tels que les organes respiratoires, digestifs et urogénitaux. (Sharon, 1996) ; (Imberty and Varrot, 2008).

Les lectines bactériennes connues se répartissent en trois grandes familles.

Famille : lectines fimbriées (cils et flagelles), toxines et lectines solubles (Imberty, Mitchell, et Wimmerová 2005).

Entamoeba histolytica est un parasite intestinal qui peut tuer les cellules de l'hôte par un mécanisme dépendant du contact. Cette destruction implique la liaison de la protéine de surface de l'amibe, la lectine Gal/Gal Nac, au galactose et à la N-acétylgalactosamine et l'attachement de l'amibe aux cellules de l'hôte.(Boettner, Huston, ET Petri 2002).

3.2 Chez l'animale

Les lectines animales sont des protéines liant les glucides exprimées dans une variété de tissus. Ce sont des protéines sécrétoires ou membranaires. (Vasta PhD and Ahmed PhD, 2008). Les lectines animales sont abondantes et peuvent avoir des fonctions biologiques importantes (David, 1995). Peut être impliqué dans l'adhésion et la différenciation des cellules.(Basu and Appukuttan, 1983) ; (Yuriev ET Ramsland 2012).

Ils jouent un rôle particulièrement important dans la croissance et le développement des organismes supérieurs. Chez les oursins, l'acrosome contient une protéine liant les glucides, une lectine appelée bindine, qui lie le sperme à membrane vitelline.(Wehner and Gehring, 1999).

Les lectines animales se répartissent en familles très différentes, les trois familles les plus étudiées étant les galectines, les lectines de type C et les sigles. Les lectines de type C, y compris les sélectines, nécessitent la présence de calcium dans le milieu pour lier leurs ligands et prennent souvent la forme insoluble la plus couramment associée à la membrane plasmique des cellules.(Soussi, 2000) ;(DeFranco, Robertson and Locksley, 2009).

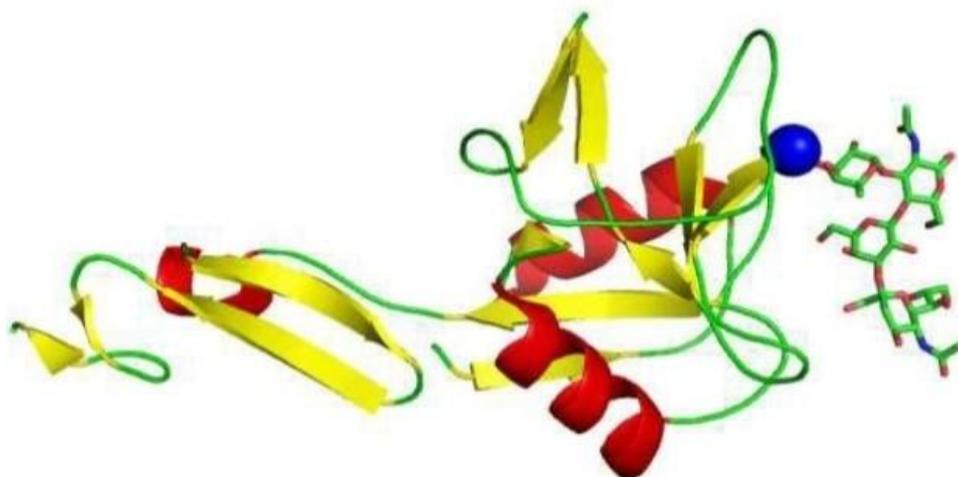


Figure 1 : Représentation graphique de la structure de l'E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T)(Somers *et al.*, 2000) .

Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

En revanche, les lectines de type S et les galectines, plus petites, sont solubles et ne nécessitent pas la présence de calcium pour leur activité de liaison. Les galectines sont appelées "galectines" en raison de leur forte affinité pour le β -D-galactose.(M. Pontet, 1996) ;(Soussi, 2000). Leur structure est définie par la présence de séquences d'acides aminés dans des domaines de reconnaissance des glucides appelés "domaines lectine" ou "CRD"ité.(Soussi, 2000). Les Siglecs reconnaissent spécifiquement les acides sialiques.(Zhuravleva, Trandem, ET Sun 2008).

3.3 Chez les plantes

Les lectines ont été décrites dans tous les principaux taxons, que ce soit Plantes à fleurs ou plantes cryptogames. (Hopkins, 2003)

Les plantes contiennent la plus grande quantité de lectines au cours des stades embryonnaires et de maturation des graines, présent principalement dans les corps protéiques de l'endosperme et des cotylédons et disparaît, germer progressivement. (Marouf ET Reynaud 2007)

Les lectines de légumineuses représentent le groupe de lectines le plus étudié usinent. (Mann *et al.*, 2001). Ils forment une grande famille de protéines étroitement apparentées, trouvé dans des espèces représentant la famille des Fabacées.

Les lectines d'algues diffèrent des lectines de plantes supérieures à bien des égards caractéristique. En général, les lectines de bas poids moléculaire des lectines d'algues proviennent des plantes de qualité sans affinité pour les sucres simples. (Joshi ET Srisudha 2012)

Tableau 1 : exemples d'activités biologiques décrites pour les lectines extraites de légumineuses.

Lectine	Rôle	Référence
Dgui (Dioclea guianensis)	Activité antifongique	(Araujo-Filho <i>et al.</i> , 2010)
ConBr (Canavalia brasiliensis), CFL (Cratyla floribunada), Dgui, DGL (D. grandiflora), Dvir (D. virgata)	Effet toxique sur les mollusques	(dos Santos <i>et al.</i> , 2010)
CGL (Canavalia gladiata)	Activité anti-inflammatoire et analgésique	(Nunes <i>et al.</i> , 2009)
ConBr, CGL, ConM (Canavalia maritima)	Effet vasodilateur	(Assreuy <i>et al.</i> , 2009)
ConBol (Canavalia boliavana)	Activité antioceptive	(Figueiredo <i>et al.</i> , 2009)
ConM	Relaxation de l'aorte et libération d'oxyde nitrique	(d'Almeida Gadelha <i>et al.</i> 2005)
ConBr, DGL, DVL (Dioclea violacea)	Activation des lymphocytes	(Barbosa <i>et al.</i> , 2001)
ConBr	Activité antidépresseur	(Barauna <i>et al.</i> , 2006)
ConA (Canavalia ensiformis), ConBr, CFL, DVL, DGL	Interférence dans le processus de formation des biofilms microbiens	(Teixeira <i>et al.</i> , 2006)

4 Structure des lectines

Selon leur topologie, et de point de vue structurel, les lectines sont classées en trois grandes classes :

4.1 Lectines de structure simple

Ces lectines sont formées de multiples monomères, pas forcément identiques, ayant un poids moléculaire n'excédant pas 40kda. Les sous-unités contiennent un site de fixation pour un ou deux cations métalliques impliqués dans l'adaptation pour confirmer la liaison au sucre. Ce groupe comprend les lectines végétales (les légumineuses), bactériennes et certaines galectines (Galec) (TOUMI, 2020).

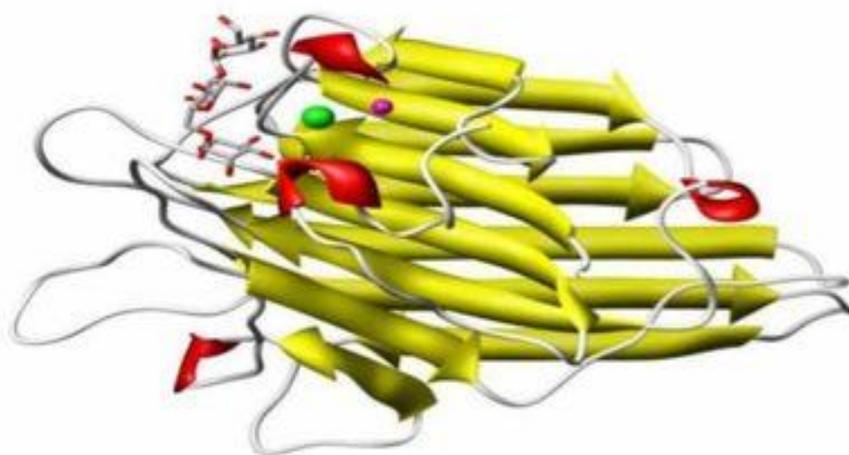


Figure 2 : Représentation graphique d'un monomère de concanvaline A de *Canavalia ensiformis* en complexe avec le trimannosoïde.(ŠNAJDROVÁ, 2006)

La protéine est représentée par un ruban rouge pour les hélices A et un ruban jaune les brins B, un fil pour les autres zones. Le sucre est représenté par de bâton et les cations par des boules.

4.2 Les lectines en mosaïques

Ce sont des molécules complexes qui composées de plusieurs types de domaines ou modules structuraux d'hélices A et de feuilletts B. Un seul CDR réside dans l'un de ces domaines. Cette classe des lectines comporte diverses agglutinines : les hémagglutinines virales et les lectines animales de type: calcium-dependant-lectins (type C), mannose-6-phosphate-binding- proteins (type P), Immunoglobulin like-lectins (Ig-like-lectins).(TOUMI, 2020)

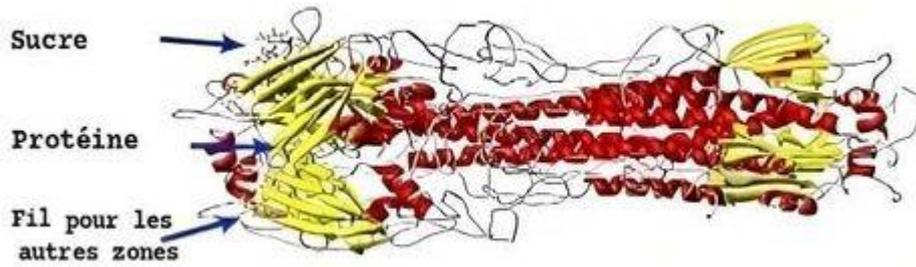


Figure 3: Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec l'acide sialique.(ŠNAJDROVÁ, 2006)

4.3 Les assemblages macromoléculaires

Les lectines de ce groupe se trouvent dans les bactéries au niveau de la paroi, où elles forment des structures filaments fins, de 3 à 7 nanomètres de diamètre et 100 nanomètres de longueur, appelés pili ou fimbriaes et jouent un rôle Structurale, possèdent une S/U contenant d'une CDR.(TOUMI, 2020)

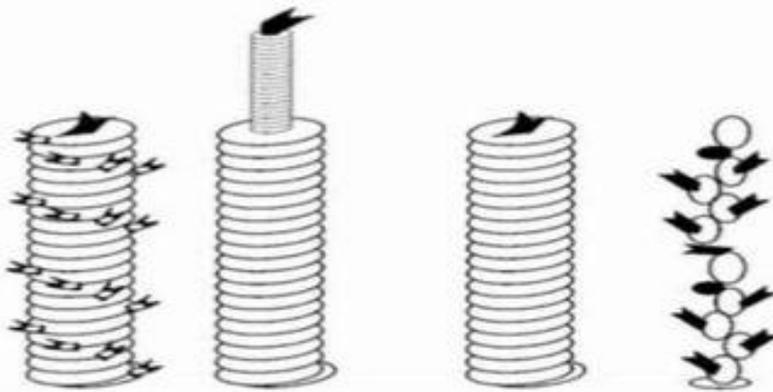


Figure 4: Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie d'E. Coli.(ŠNAJDROVÁ, 2006)

5 La spécificité et l'affinité des lectines

Il est basé sur les interactions Ag-Ac parce que ces sucres tapissent les épitopes des récepteurs de la membrane cellulaire, et bien que les lectines interagissent spécifiquement avec les monosaccharides, elles ont une affinité plus faible par rapport aux oligosaccharides ; cela est dû aux fortes concentrations de ces sucres sont présents dans le sucre ou chaînes polysaccharidiques, où la constante d'association K_a pour les monosaccharides est de l'ordre du millimolaire (mM) par opposition au micromolaire (μM) pour les oligosaccharides (TOUMI, 2020)

Tableau 2 : Les lectines vacuolaires avec la spécificité de leur liaison aux glucides et leur localisation subcellulaire. (De Coninck and Van Damme, 2022)

LECTINE	ORGANISME	LIAISON AUX GLUCIDES	AUX	LOCALISATION SUBCELLULAIRE
Ricin	ricin	Galactose GalNAc; complexe glycans	et N-	Vacuole
PHA	Commune haricot	Galactose GalNAc; complexe glycans	et N-	Vacuole
GNA	Chute de neige	Mannose, mannose N- Glycans	high	Vacuole
Orysta	Riz	Mannose, mannose N- Glycans	high	Noyau et/ou cytosol
Nictaba	Tabac	Chitin and N- Glycans	oligomers	Noyau et/ou cytosol
ArathEULS3	Thale cress	Faible affinité avec LacNAc, Lewis A and B- Antigens		Noyau et/ou cytosol
XSP30	Concombre	Chitobiose		Sécrété en xylème
PP2	Concombre	GlcNAc, oligomers	GlcNAc	Cellules d'accompagnement et éléments de tamis

Il existe cinq groupes en fonction de leurs affinités pour les monosaccharides pour lesquels la lectine possède des affinités élevées selon la classification de (Lis and Sharon, 1998) : Man, GlcNAc, Gal/GalNAc, le Fuc, et l'acide sialique (Ac Si/NANA) de la série D à l'exception du Fuc de la série L qui sont présents au niveau de la membrane de la cellule eucaryote.

6 Les sites de liaisons des lectines

Le site de liaison de la lectine est un pli général à la surface de la protéine, dont la forme ne change pas beaucoup après la liaison du ligand. (Goldstein, 1986)

Si les sites de liaison de la lectine sont tous orientés dans la même direction, généralement, une augmentation de la force de liaison est attendue. En revanche, s'ils sont disposés dans le sens opposé, le résultat peut être différent et une réticulation est observée. (NOTOVA, 2022)

Les sites de liaison des lectines spécifiques aux monosaccharides sont majoritairement peu concaves profondément à la surface de la protéine. (Vyas, 1991) D'autre part, des lectines spécifiques oligosaccharides, les sites de liaisons sont plus profonds et présentent une excellente complémentarité pour le ligand(Vyas, 1991) . Les liaisons hydrogène sont des liaisons directionnelles fortes, qui imprègnent pour une bonne spécificité et affinité (Vyas, 1991). N'implique pas d'interactions de type sel dans ses interactions lectine-sucre, sauf des glucides chargés comme l'acide sialique(M Pontet, 1996).

Des études récentes ont démontré le rôle d'arrangements spécifiques des sites de liaison des lectines qui favorisent les grappes de glycolipides et affectent finalement la structure et la dynamique de la cellule membranes. De plus, la spécificité et la topologie des lectines les ont marquées comme des outils intéressants pour générer des «néolectines » modifiées avec des applications dans le diagnostic, thérapie et science des matériaux(Lal, 2021)

7 La classification des lectines

Quelques exemples de classification des lectines

7.1 Chez les animaux

7.1.1 Les lectines extracellulaires

Les lectines extracellulaires, y compris toutes les autres familles telles que les lectines de type C et de type R, et Galectines. Ces lectines sont souvent impliquées dans la signalisation cellulaire et l'adhésion, dégagement des glycoprotéines et même identification de la pathologie (Chabrol, 2012).

Chez les mammifères, les 3 familles de lectines extracellulaires sont les lectines de type S, de type I et de type C (Figure 5)(Bulteau, 2020).

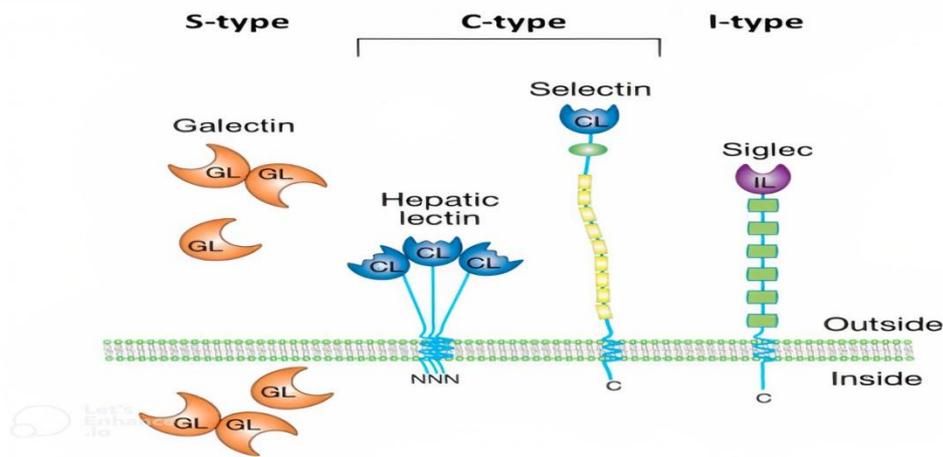


Figure 5: Familles de lectines extracellulaires et membranaires impliquées dans l'interface avec les cellules chez les mammifères. Les CRDs des différentes familles sont représentés par CL pour les C-type lectines, GL pour les galectines et IL pour les I-type lectine (Bulteau, 2020)

7.1.2 Les lectines intracellulaires

Les lectines intracellulaires transportent, adressent les glycoprotéines et même avant qu'ils ne dégèrent. Ces lectines sont constituées de quatre groupes : la calnexine, les lectines de type M, P et L (Chabrol 2012).

7.2 Chez les végétaux

7.2.1 Les mérolectines

Les mérolectines sont de petits peptides, formes d'une seule chaîne polypeptidique, ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides, par exemple : (lourd, protéine d'orchidée). Les mérolectines ne précipitent pas les glycoconjugués et n'agglutinent pas les cellules (Zitouni and Necib, 2017a)

7.2.2 Les hololectines

Les hololectines contiennent deux (ou plus) domaines de liaison aux glucides presque identiques, ou du moins très homologues. Ils peuvent précipiter des glycoconjugués ou agglutiner cellule. Les lectines végétales les plus connues sont les hololectines.(Zitouni ET Necib 2017b).

7.2.3 Les chimérolectines

Les lectines chimériques ont un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides et un domaine qui a une activité catalytique définie et fonctionne indépendamment du site de liaison. Les chimérolectines se comportent comme les mérolectines selon le nombre de liaisons glucidiques (ex

: chitinase de classe I) ou comme des hololectines (exemple : type 2-Rip comme la ricine)(Zitouni and Necib, 2017b).

7.2.4 Les superlectines

Les superlectines sont des oligomères multispécifiques composés de plus de quatre monomères, qui sont considérées comme un groupe spécial de lectines chimériques composées de deux domaines structurellement distincts et fonctionnellement (Damme *et al.*, 1998).

8 Les propriétés des lectines

8.1 L'interaction lectine–glucide

Les lectines sont des protéines multivalentes ayant la capacité de reconnaître et de lier des structures de glucides assorties où elles reconnaissent sélectivement les glucides et s'y lient de façon réversible tant que les ligands sont orientés d'une manière spécifique pour former L'interaction lectine–glucide qui est réalisé principalement par des liaisons hydrogène, et des forces hydrophobes avec la cavité de reconnaissance saccharidique.(Raposo, Canelas and Barros, 2021; Tripathi, 2021; *Plant Lectin - an overview / ScienceDirect Topics, no date*)

8.2 L'activité hémagglutinante

La manifestation la plus évidente de l'interaction des lectines avec les cellules. Pour qu'une lectine apparaisse, il doit y avoir au moins deux sites de reconnaissance et de liaison des glucides à la surface des cellules (animaux, bactéries, virus, mycoplasmes, champignons, etc.)(MIÈGE, 2023)

L'intérêt a été suscité lorsque les lectines se sont avérées agglutiner les cellules malignes plus facilement que les mêmes cellules normales. Il existe également des différences préférentielles entre les cellules embryonnaires et adultes, et entre les cellules mitotiques et interphases.(Wang and Ng, 1998)

8.3 L'activité mitogène

La stimulation lymphocytaire, l'une des propriétés les plus surprenantes des lectines est leur capacité à convertir les petits lymphocytes du sang en blastes (lymphoblastes à gros noyaux qui entrent rapidement en mitose). Cette transformation lymphoblastique est causée par le pouvoir mitogène des lectines, mais en général, elle n'agit que sur les lymphocytes T (produits par le thymus).(MIÈGE, 2023) ; aussi entrer dans la Stimulation de cellules végétales, par le contrôle de la division cellulaire au début de la germination.(MIÈGE, 2023)

8.4 Activité similaire à l'activité hormonale

Les lectines de l'espèce (*Phaseolus vulgaris*) sont très réactives avec les membranes cellulaires et leurs récepteurs imitent les effets des hormones. En effet, les lectines pures des graines de haricot rouge sont connues pour avoir une activité de type insuline sur des cellules isolées grâce à leurs activités antilipolytique et lipogénique (activité analogue à l'insuline) en raison de l'interaction avec les récepteurs de l'insuline des cellules graisseuses. (Greer, Brewer and Pusztal, 1985)

8.5 Activité anticancéreuse

Plusieurs lectines ont des propriétés anticancéreuses in vitro, in vivo et dans des études de cas chez l'homme ; elles sont utilisées comme agents thérapeutiques qui se lient préférentiellement aux membranes des cellules cancéreuses ou à leurs récepteurs, provoquant une cytotoxicité, une apoptose et une inhibition de la croissance tumorale. Ces composés peuvent être internalisés dans les cellules, conduisant à l'agrégation des cellules cancéreuses.

L'ingestion de lectines séquestre également les réserves corporelles de polyamines disponibles, ce qui entrave la croissance des cellules cancéreuses. (De Mejía and Prisecaru, 2005)

Les lectines de *Solieria filiformis* se sont révélées être les stratégies thérapeutiques les plus prometteuses pour le traitement du cancer du sein. Par conséquent, les lectines d'algues sont des outils potentiels pour la thérapie antitumorale. (de Arruda *et al.*, 2023)

Les lectines encore considérées comme vecteur de médicaments anticancéreux ; et un marqueur biologique de cancer de poumons qui reconnaît les résidus terminaux non réducteurs de β -N-acétylglucosamine (GlcNAc) et qui sont rares dans les tissus sains par la lectine recombinée Rpv1. (BELDJOURI, 2019)

Cependant, le PPA_sL (lectine de *Allium sativum* L., "l'ail") a été identifié comme un anticancéreux prometteur avec de multiples modes d'action, tels que l'antiprolifération et l'anti-angiogénèse. (Shruthishree D. Padiyappa *et al.*, 2022)

8.6 Activité antimicrobienne et antiparasitaire

Récemment, les lectines en médecine ont suscité un grand intérêt dans la recherche en raison de leur potentiel antiparasitaire et antimicrobien. Sur la base des dernières données sur les activités antibactériennes et antiparasitaires des lectines, leur rôle dans les interactions hôte-pathogène et leurs effets cytotoxiques sur les microorganismes et les parasites sont démontrés. L'identification et la caractérisation de nouvelles lectines à activité antibactérienne pourraient fournir une alternative naturelle pour le traitement des infections causées par des micro-organismes et des parasites résistants aux antibiotiques. (Raposo, Canelas and Barros, 2021)

une étude a démontré que les lectines purifiées des fèves, des lentilles et des pois pouvaient inhiber la croissance de bactéries à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Streptococcus mutans* ATCC 25175 et gram-bactéries négatives telles que *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 et *Klebsiella pneumoniae*.(El-Araby *et al*, 2020)

Galaxaura marginata et *Eucheuma serra* sont deux algues marines rouges qui fournissent respectivement des lectines GMA et ESA et qui ont une activité antimicrobienne contre *Vibrio* sp.(Iordache *et al.*, 2015) ; où Interaction des lectines avec la paroi cellulaire des bactéries par le biais des acides teichoïques et teichuroniques, lipopolysaccharides et les peptidoglycanes pourrait permettre d'expliquer l'activité antibactérienne des lectines sur les bactéries Gram négatif et Gram positif.(Iordache *et al.*, 2015)

Tableau 3 :Activité antimicrobienne de certaines lectines végétales (Iordache *et al.*, 2015)

plante	Spécificité des lectines	Activité antimicrobienne
<i>Archidendron jiringa</i>	Acide muramique, Acide N-acétylmuramique	Gram-positive bacteria
<i>Cladonia verticillaris</i>	α -1,4-Polygalactoside	<i>E.coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. faecalis</i>
<i>Canavalia boliviana</i>	Mannose	<i>S. mutans</i> , <i>S. oralis</i>
<i>Solanum tuberosum</i>	Chitine	<i>E. coli</i> O157:H18, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>S. enteridis</i> , <i>S. boydii</i> , <i>Rhizopus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus niger</i>

8.7 Activité antivirale

En raison de leur large gamme de structure, de leur spécificité et capacité à se lier aux glucides, les lectines ont été utilisées en thérapie pour de nombreuses maladies virales grâce à L'interaction de ces protéines avec divers glucides à la surface des cellules et des enveloppes virales qui peuvent être détectée par des tests d'héماغglutination.(Nabi-Afjadi *et al.*, 2022)

8.8 Activité antifongique

L'Inhibition de la croissance fongique par l'action des lectines, semble être due à l'inhibition de la germination des spores ainsi que la croissance du mycélium. Le mécanisme d'action exact n'a pas encore été élucidé, mais il semble y avoir altération de la paroi cellulaire fongique en raison de changements dans la synthèse de la chitine, une déficience dans le dépôt de la paroi cellulaire. Les lectines qui se lient à la chitine ont montré un effet antifongique important.(Gomes *et al.*, 2012)

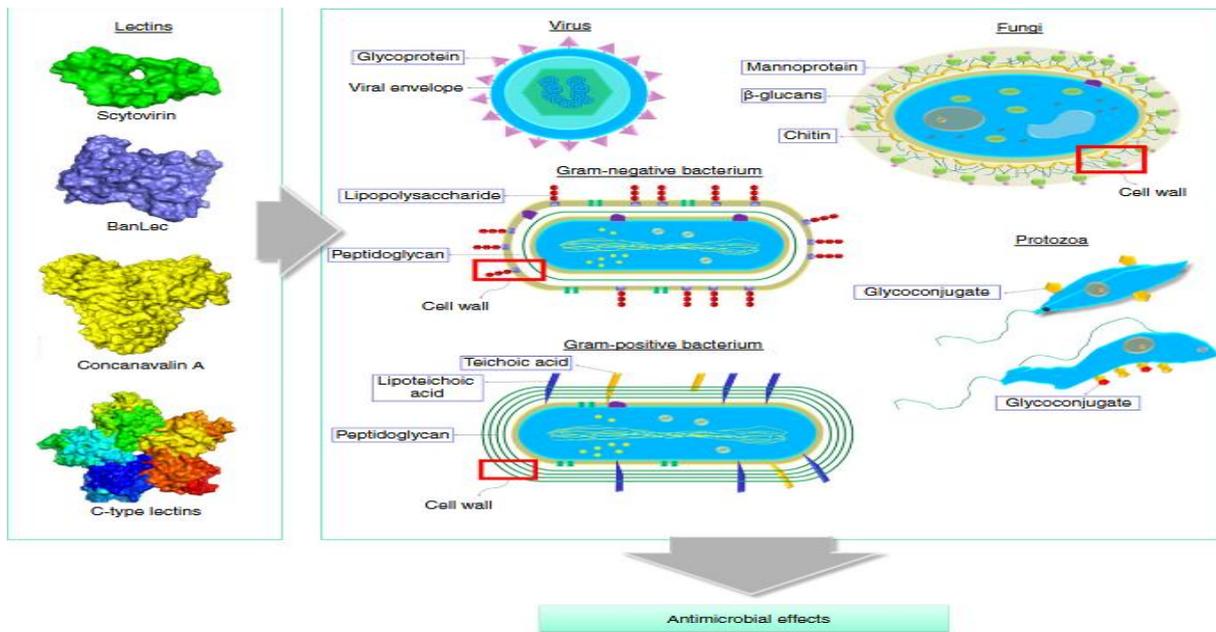


Figure 6: Modèle schématique des interactions de lectine avec l’enveloppe microbienne/glycan de surface cellulaire pour promouvoir les effets antimicrobiens et anti parasitaires. (Breitenbach Barroso Coelho et al., 2018)

8.9 Activité antioxydante

La lectine de *Pleurotus florida* présente une activité antioxydante contre la néphrotoxicité induite par l'arsenic ; il bloque également la diminution de l'expression de l'ARNm du gène du superoxyde dismutase médiée par l'arsenic.

La lectine de champignon peut maintenir l'intégrité de la membrane en cas de stress oxydatif, car elle est capable de capter les radicaux libres en interagissant avec la cascade oxydative, en chélatant les ions métalliques, en neutralisant l'oxygène et en empêchant la peroxydation des lipides membranaires.(Singh, Walia and Kennedy, 2020)

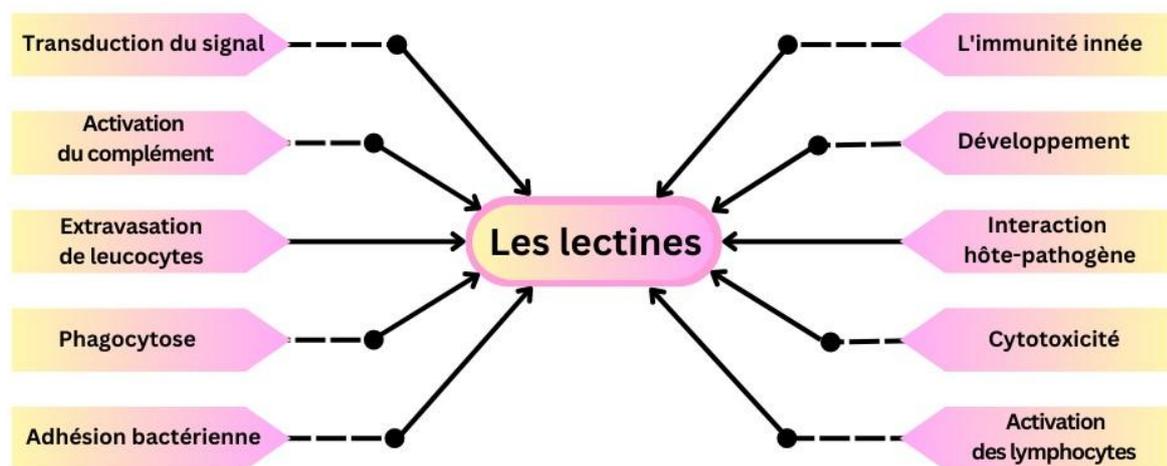


Figure 7: Schéma de principaux processus médiés par les lectines.

9 Les fonctions biologiques des lectines

9.1 Chez les végétaux

- ✓ Les lectines servent un rôle de construction pour la défense contre les parasites pathogènes, les bactéries et les champignons, grâce aux propriétés uniques de reconnaissance des glucides (Mishra *et al.*, 2019), car ils reconnaissent les composants spécifiques de microbes sur leurs surfaces. Ces composants sont appelés motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP), y compris lipopolysaccharide, peptidoglycane, acide lipotéchoïque et β -glucane.(Matsushita *et al.* 2012).
- ✓ Un rôle dans la symbiose plante-microbe comme ce qui s'est avéré être l'étude de la symbiose légumineuse-rhizobium, où les chercheurs ont supposé que la symbiose légumineuse-rhizobium peut être influencée par les lectines, où ces protéines montrer un site de reconnaissance dans les racines des légumineuses qui interagit spécifiquement avec des sucres uniques associés à la surface des cellules de rhizobium, appropriés comme prélude à la nodulation.(Schmidt and Bohlool, 1981).
- ✓ Un rôle important dans l'organisation cellulaire. (Moreira *et al.*, 1991).
- ✓ Les lectines sont aussi présentes dans la morphogenèse embryonnaire et c'est ce qui est prouvé dans une étude inutile «Localisation of endogenous galactoside-binding lectin during morphogenesis of *Xenopus laevis*»; là où les chercheurs étudiés le niveau de dépôt de lectine dans les embryons et les têtards à différents stades de formation, de la migration initiale du sommet neural à la formation de têtards nageurs et ils ont montré finalement que les lectines liant les galactosides peuvent constituer une classe importante de molécules d'adhésion cellulaire au cours de ces stades de développement.(Milos *et al.*, 1990).
- ✓ Les lectines de type C des phagocytes peuvent reconnaître directement le PAM à la surface des micro-organismes et servir de médiateurs de la phagocytose. Alternativement, les lectines solubles de type C peuvent interagir directement avec les agents pathogènes, faciliter l'opsonisation des microbes, puis être phagocytées par des récepteurs spécifiques. De plus, les lectines de type C peuvent provoquer une régulation positive d'autres récepteurs de la phagocytose indépendamment de leur association avec des micro-organismes.(Kerrigan and Brown, 2009)
- ✓ Les domaines Lectin ont un accès direct aux glycanes de la paroi cellulaire et peuvent moduler et sentir leurs inévitables réarrangements lors de l'expansion de la surface cellulaire.(Aglyamova *et al.*, 2022)
- ✓ Identification des pollens par les stigmates récepteurs ; divers indices laissent présumer que les interactions lectine-récepteur saccharidique interviennent dans le langage de reconnaissance pollen-stigmate, notamment dans le rejet des auto-pollens ; cependant, aucun

mécanisme précis de l'intervention des lectines n'a encore été établi. (*LECTINES, Rôles dans les plantes - Encyclopædia Universalis*, no date)

- ✓ Les lectines pourraient fonctionner comme des protéines de stockage ayant un potentiel limité de participation à des processus biochimiques et cellulaires majeurs. (Naithani *et al.*, 2021).

9.2 Chez l'être humain

Parmi les fonctions des lectines chez l'être humain, on a :

- ✓ Diminution des taux de maladie cardiovasculaire. (Boston and Ma 02115 +1495-1000, 2019)
- ✓ Peuvent contribuer à déterminer le taux de digestion des hydrates de carbone, donc la diminution de taux de diabète de type 2. (Rea, Thompson and Jenkins, 1985)
- ✓ Possède un potentiel élevé en tant que produit anti-inflammatoire naturel pouvant être examiné à des fins pharmacologiques. (Campos *et al.*, 2016)
- ✓ Les lectines sont des protéines végétales biologiquement actives, donc inhiber le développement de cellules cancéreuses. (Eg and Vi, 2005)
- ✓ Les lectines, en tant que déterminants antigéniques des groupes sanguins, sont devenues un outil important pour identifier différents groupes sanguins. (F *et al.*, 2002)
- ✓ Utiliser lectins pour cibler et livrer des drogues à leur site d'action. (Bies, Lehr and Woodley, 2004)
- ✓ Inhibiteur de la transcription inverse du VIH-1.
- ✓ L'activité antioxydante des lectines peut être utilisée pour soigner diverses maladies causées par les radicaux libres. (Singh, Walia and Kennedy, 2020)

10 Application et utilisation des lectines

En raison de leur capacité à se lier de manière réversible à des structures glucidiques spécifiques et de leur grande disponibilité, les lectines ont été largement utilisées comme outils moléculaires dans diverses disciplines de la biologie et de la médecine. Bien qu'elle ait été autrefois considérée comme une toxine alimentaire, l'accent mis sur les lectines végétales s'est déplacé vers la compréhension des propriétés utiles de ces lectines et leur utilisation dans des applications médicales pour promouvoir la santé humaine. (Bah, Fang and Ng, 2012)

Tableau 4: Les différentes applications des lectines.

	Application	Exemple	Référence
Biomédical	Hématologie : utilisées pour distinguer les sous-types des différents groupes sanguins ABO.	- la lectine Dolichos biflorus. - La lectine d' <i>Ulex europaeus</i>	(‘Glossary: Lectins - Blood Bank Guy Glossary’, no date)
	Cancérologie: inhibe la prolifération déclenchée par la fixation des lectines aux récepteurs glycoalyx respectifs.	- <i>Flammulina velutipes</i> - La petite lectine de soja noir brillant (<i>Glycine max</i>)	(‘Plant lectin: A promising future anti-tumor drug’, 2022) (Lam and Ng, 2011b) (Wongkham, Boonsiri and Wongkham, 1994)
Agronomique	Ils augmentent la mortalité ou ralentissent la croissance des insectes, en modifiant leur activité enzymatique.	- <i>Arisaema jacquemontii</i> lectin ,	(Lam and Ng, 2011b)
Protéomique et biochimique	Les lectines ont été largement utilisées en protéomique, car elles servent d'outils de détection et d'enrichissement pour des glycanes spécifiques.	/	(Hirabayashi, 2008) (Haab, 2012)

11 Le rôle immunitaire des lectines

- Paul Ehrlich a utilisé les lectines comme antigènes en immunologie au début des années 1890. Les changements morphologiques et biochimiques dans les lymphocytes stimulés par la lectine in vitro ressemblent à la plupart des réponses immunitaires causée par des antigènes présents dans le corps.(Goldstein *et al.*, 1980).
- Les lectines purifiées activent l'immunité innée par stimulation les macrophages, ainsi que l'activité des neutrophiles dans la rate et le foie, éliminent le carbone colloïdal du sang par pinocytose et opsonisation de cet antigène.(TOUMI 2020)
- La phagocytose se produit lorsque des micro-organismes entrent en contact avec la membrane d'une cellule phagocytaire. En raison de la présence de lectines de surface, la première étape implique l'adhésion du microorganisme à la membrane de phagocytose. Ces lectines reconnaissent les structures glucidiques présentes sur les glycoprotéines ou glycolipides de la membrane externe, notamment chez les bactéries : récepteurs du mannose

- fucose, récepteurs du galactose et récepteurs des bêta-glucanes. (*Système du complément - Immunologie; troubles allergiques*, no date)
- Plusieurs lectines de sources distinctes ont montré des effets immunomodulateurs, comme l'activité mitogénique et l'induction de réponses de type 1 (Th1), 2 (Th2) ou 17 (Th17) (figure8). (Coelho *et al.*, 2017)

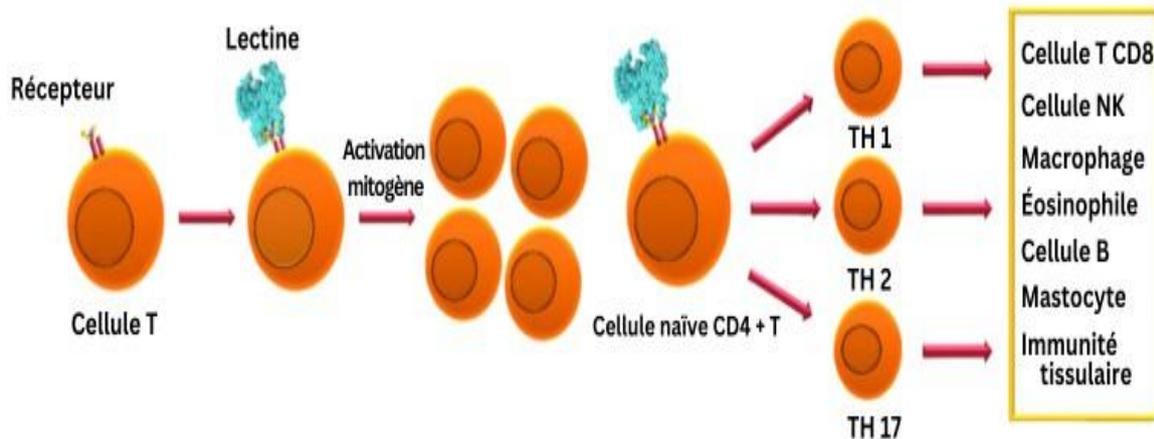


Figure 8 : L'influence de lectine sur les cellules immunitaire T.

- La lectine a favorisé un effet antianaphylactique et a empêché la réaction d'Arthus *in vivo* ; un potentiel thérapeutique contre la colite ulcéreuse a été observé chez des rats prétraités avec la lectine par injection intrapéritonéale qui ont montré un meilleur rétablissement par rapport aux rats post-traités. (Coelho *et al.*, 2017)

12 Système ABO

• Définition

La composition du sang est la même pour tous, mais les antigènes trouvés sur les cellules sanguines - globules rouges, globules blancs, plaquettes - et certaines protéines plasmatiques (telles que les immunoglobulines) sont variables d'une personne à l'autre et définissent, entre autres, le groupe sanguin.

13 Groupe ABO

Le système de groupe sanguin ABO est défini par la présence d'antigènes sur les globules rouges et la présence d'anticorps naturels de routine dans le plasma. La présence d'antigène sur les globules rouges exclut la présence d'anticorps dans le plasma. En conséquence, par exemple : si les globules rouges sont porteurs de l'antigène A dans le sang d'une personne, il est alors impossible d'avoir des anticorps anti-A dans le plasma. Sinon, la réaction antigène-anticorps provoquera une agglutination. (Alain Ramé, Philippe Naccache, 2015)

Les groupes sanguins principaux : A, B, AB, O sont définis par la détection des antigènes A et B avec des anticorps spécifiques.

Les groupes sanguins

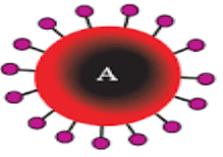
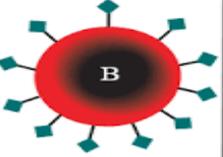
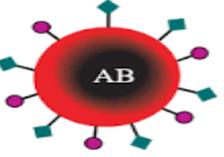
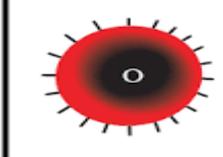
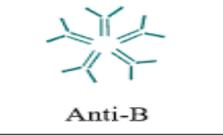
	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O
Globule Rouge				
Anticorps	 Anti-B	 Anti-A	Aucun	 Anti-A et Anti-B
Antigène	Antigène A	Antigène B	Antigène A et B	Pas d'antigène

Figure 9: Les antigènes et les anticorps des groupes sanguins du système ABO(Bailly, Chiaroni and Roubinet, 2015).

14 Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Les glycolipides présents à la surface des érythrocytes sont les antigènes du système ABO. Leur structure principale est constituée de céramides lipidiques associés à des oligosaccharides composés de glucose (Glu), de galactose (Gal), de N-acétyl- galactosamine (Gal-Nac), de galactose (gal) et de fucose (fuc). Les sujets du groupe O ne produisent que ces glycolipides. Les sujets du groupe A contient une enzyme ajoute une molécule de N-acétyl- galactosamine à la chaîne oligosaccharidique de l'antigène A, tandis que les sujets du groupe B contiennent une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment également la structure primaire terminale sans glucides, ce qui explique pourquoi les anticorps dirigés contre le groupe O ne sont pas produits. (Parham, 2003)

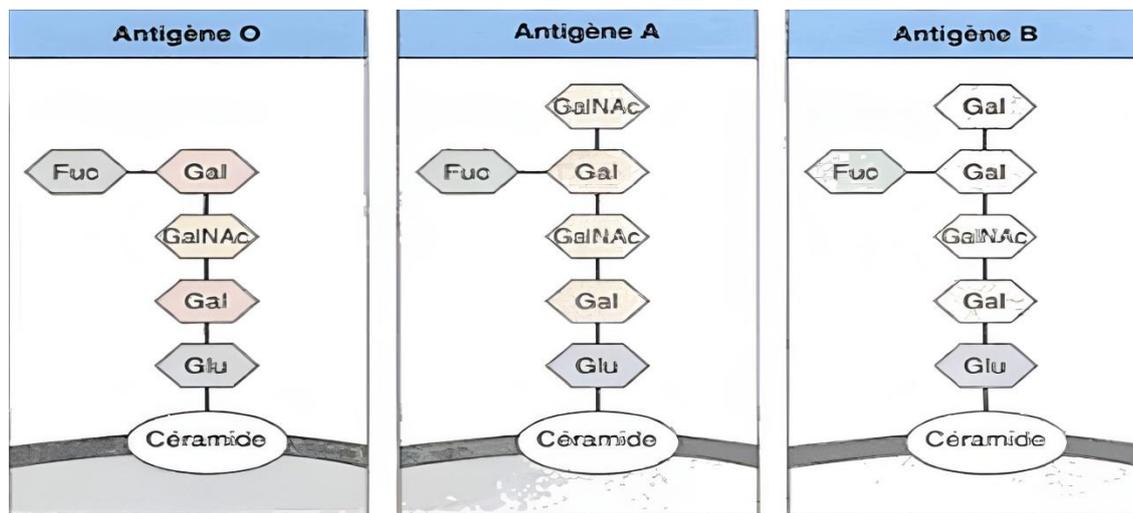


Figure 10: Structure des antigènes de groupe sanguins du système ABO.(Parham, 2003)

15 Les lectines spécifiques des groupes sanguins

Plusieurs lectines agglutinent les hématies des foies avec des spécificités de groupe sanguin (tableau 5)

Tableau 5 : exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins

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

Chapitre II
Généralités sur les plantes



1 Généralités sur la menthe poivrée (*Mentha piperita*)

1.1 Origine et culture

La menthe poivrée (*Mentha piperita*) est originaire du Moyen-Orient et ressemble beaucoup à l'Asie, elle est une plante vivace herbacée sauvage appartenant aux *Lamiacées*. C'est le résultat du croisement entre deux espèces, à savoir la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*) (Baudoux, 2002).

M. × piperita est connue pour son utilisation traditionnelle dans le traitement de la fièvre, du rhume, du système digestif, antiviral, antifongique et de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la gorge. Des études scientifiques ont amélioré la prise de conscience des effets biologiques de l'utilisation de *M. × piperita*, tels qu'antioxydant, antibactérien, antiviral, anti-inflammatoire, biopesticide, larvicide, anticancéreux, radioprotection, génotoxicité et antidiabétique. (Mahendran and Rahman, 2020)

1.2 Description botanique

La menthe poivrée est une plante herbacée vivace à long rhizome, de la famille des *Lamiacées* à tige quadruple, rougeâtre mesurant 50 à 80cm. Ses feuilles sont longues de 4 à 10 cm, ovales, opposées et fortement palpées généralement d'une belle couleur verte, pigmentées aux nuances de rouge au soleil, de rouge cuivré à l'ombre. (Morigane, 2007)

Les fleurs colorées sont formées par des épis très courts et de forme ovale à l'extrémité des branches qui se développent en groupes aux moyeux foliaires. (Morigane, 2007)



Figure 11: Morphologie générale de *Mentha piperita*. (A) Aspect général de la plante (Originale, 2022), (B) feuilles vertes (Anonyme, 2021), (C) Fleur violacée (ArnaudLerch, 2015)

- Selon Kouane et al. (2016), la classification botanique de la menthe poivrée est :

Règne	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Angiosperme
Sous embranchement	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Sympétales
Famille	Lamiacées (labiacées)
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha piperita L.</i> , 1753

2 Généralités sur le mûrier (*Morus alba*)

2.1 Généralités sur la plante

Le mûrier est un arbre rustique, atteignant généralement une hauteur de 8 à 15 m, avec un grand déploiement qui le fait paraître vigoureux et bien fructifié (**Le Bellec and Le Bellec, 2007**).

D'origine très incertaine, il appartient à la famille des Moracées, plus précisément au genre *Morus* (**Roques, 1837**).

2.2 Le mûrier blanc

2.2.1 Description botanique

Aussi connu sous le nom de mûrier commun, c'est un arbre fruitier originaire d'Asie du sud-est. Le mûrier blanc appartient à la famille des Moracées. Il existe une variété de mûrier, Le fruit blanc est blanc ou noir à maturité. Dans certaines variétés, les fruits mûrs est un duopole (blanc lavé de violet ou de rose). L'arbre a joué un rôle important dans la passe dans la culture sérielle. C'est un arbre de taille moyenne qui rencontre parfois sous la forme d'un arbuste vigoureux, il couronne s'ouvre en étant branches rugueuses(**Hanelt, Buttner and Mansfeld, 2001**).



Figure12: La forme générale du mûrier blanc

En médecine, Les feuilles de *Morus alba* possèdent divers effets pharmacologiques bénéfiques dans le contexte du diabète de type 2, tels que l'amélioration de l'absorption du glucose, la stimulation de

la sécrétion d'insuline, une action antioxydante, des propriétés antihyperglycémiques et antihyperlipidémiques, ainsi que la régulation de l'obésité.(**Morales Ramos et al., 2021**) ; Propriétés anti-cancéreuses grâce à certains composés présents dans le *Morus alba*, tels que la kuwanon et la resvératrol, peuvent avoir des effets anti-cancéreux en inhibant la croissance des cellules cancéreuses et en induisant l'apoptose (mort cellulaire programmée).(Chen et al., 2020) ; Le *Morus alba* peut aider à protéger le foie.(Chaiwong et al., 2021)

2.3 Classification botanique

selon (**Roques, 1837**) , le mûrier blanc est classé comme suit :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Hamamelidae
Ordre	Urticales
Famille	<i>Moraceae</i>
Genre	<i>Morus</i>
Espèce	<i>Morus alba</i> L, .1753.

3 Généralité sur le grenadier (*Punica granatum*)

Le grenadier est une espèce fruitière vivace tolérante à la sécheresse susceptible d'être évaluée le sol pauvre et salé. Il a une grande capacité d'adaptation aux conditions environnementales caractérisées par une sécheresse climatique marquée (**Melgarejo Moreno and Salazar Hernández, 2003**).

D'un point de vue environnemental, elle est l'une des plus anciennes plantes arborescentes utilisées pour ses propriétés thérapeutiques, médicinales et pharmacologiques. La grenade a été traditionnellement utilisée pour traiter diverses affections telles que la toux, le rhume, les ulcères, les troubles intestinaux, les pellicules et les maladies cardiovasculaires. Des preuves de plus en plus nombreuses démontrent que la grenade, ainsi que ses composés actifs, présentent un fort potentiel dans l'amélioration, la prévention et le traitement du cancer, des virus, de l'inflammation, de l'obésité, du diabète, de la malaria, de la fibrose du foie, des infections fongiques et des infections bactériennes.(Maphetu et al., 2022)

3.1 Caractères botaniques de grenadier

- Feuilles

Les feuilles du grenadier sont opposées ou subopposées, brillantes, étroites, Oblong, entier, 3-7 cm de long, 2 cm de large (Ben-Arie, Segal and Guelfat-Reich, 1984).

- Fleurs

Ses fleurs sont rouge vif, de 3 cm de diamètre et comportent 5 pétales. Ils sont hermaphrodites, avec 4 à 8 sépales coriaces et un nombre égal de pétales rouges, de nombreuses étamines et un nombre variable de sépales, constituant l'ovaire infère (Ben-Arie, Segal and Guelfat-Reich, 1984).

- Fruits

Son fruit est une baie, entre 7 et 12 cm de diamètre et de forme hexagonale, arrondie, son écorce est épaisse, rouge et contient de nombreuses graines (Ben-Arie, Segal and Guelfat-Reich, 1984).

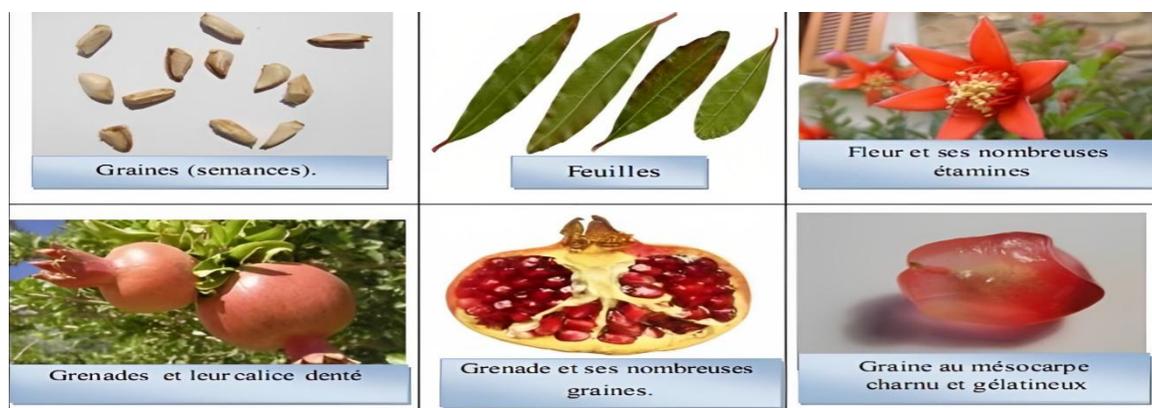


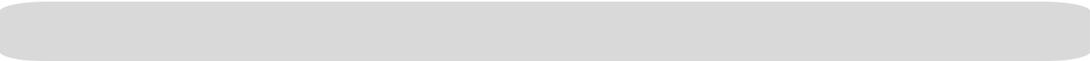
Figure 13: Caractéristiques botaniques du grenadier(Athmen Reguieg Yssaad, K. Hammadi, 2017)

3.2 Classification botanique

Selon (Spichiger, 2004), le grenadier est classé comme suit :

Règne	Plantae
Ordre	Myrtales
Embranchement	Spermaphytes
Ordre famille	<i>Punicaceae</i>
Sous- embranchement	Angiospermes
Genre	<i>Punica</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Espèce	<i>Punica granatum</i>

CHAPITRE III
Matériels et Méthodes



Il s'agit d'une étude menée au Laboratoire de Génie Microbiologique Et Application de l'Université des frères Mentouri Constantine.

1 Matériels

1.1 Le matériel vivant

Les érythrocytes utilisés proviennent de :

- Le sang de lapin a été prélevé à partir d'un lapin mâle adulte au niveau de laboratoire.
- Le sang humain prélevé chez des donateurs de sang (notre sang).

1.2 Le matériel végétal

Nos recherches ont été menées sur trois racines des plantes médicinales :

- ❖ Les racines de *Mentha x piperita*.
- ❖ Les racines de *Morus alba L.*
- ❖ Les racines de *Punica granatum*.

(Ces racines sont collectées à partir d'une plantation située à Ferdoua la wilaya de Mila.)

2 Méthodes

2.1 La Préparation des plantes

Nous avons fait ces étapes suivantes sur les racines de 9 plantes médicinales (*Mentha x piperita* ; *Morus alba L* ; *Punica granatum* ; *Phaseolus vulgaris* ; *Prunus armeniaca* ; *Olea europaea* ; *Urtica dioica L.* ; *Citrus x sinensis* ; *Ficus carica*) Et les grains de 5 autre plantes qui sont : (*Linum usitatissimum* ; *Salvia hispanica* ; *Foeniculum vulgare* ; *Syzygium aromaticum* ; *Geastrum Lageniforme*).

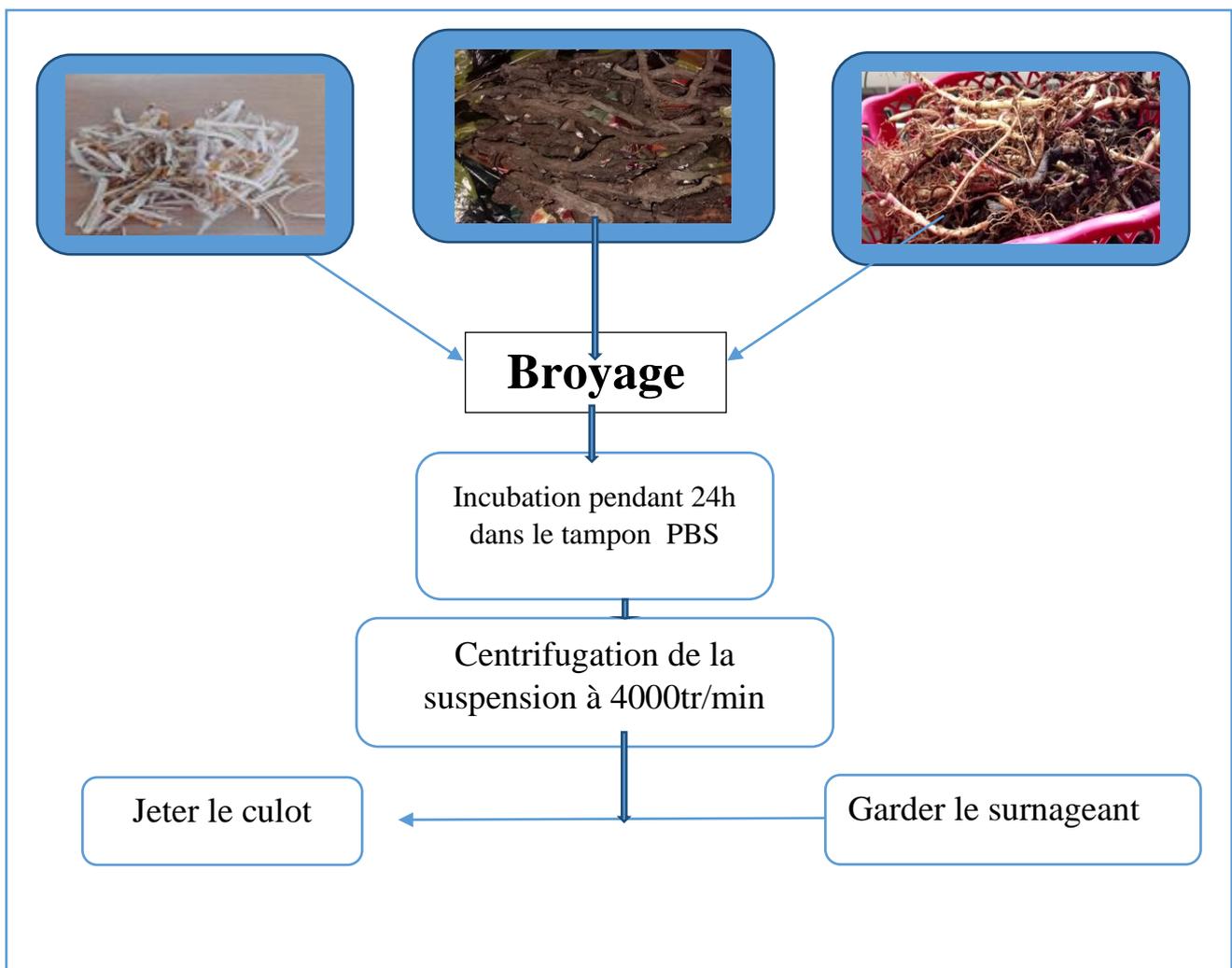
- ❖ Rinçage: les racines ont été bien lavées avec l'eau du robinet.
- ❖ Séchage : les racines des plantes ont été séchées et exposé à l'air libre pendant quelques jours.
- ❖ Broyage : les racines ont été broyées dans un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre et ils sont récupérés dans des flacons de verre.

2.2 L'Extraction des protéines totales

- Principe

Il s'agit d'un procédé visant à récupérer les substances hydrosolubles des poudres végétales par macération à l'aide d'une solution tampon PBS (10 mM pH 7,4).

- Technique d'extraction
- D'abord, nous avons ajouté 6 ml de solution tampon PBS sur 4g des poudres de notre 14 échantillons.
- Le mélange a été incubé pendant 24h dans un réfrigérateur.
- Ensuite, réalisé une centrifugation de la suspension à 4000tr/min durant 30min.
- Enfin, Les surnageant obtenus ont été utilisés pour évaluer la présence de lectines et les culots ont jeté.



2.3 L'activité hémagglutinante de l'extrait

- La préparation de suspension d'hématies à 3% :

a. Lavage des hématies :

- Le sang de lapin a été recueilli en ponctionnant le sinus rétro-orbitaire dans des tubes citrates.
- Centrifuger les tubes à 3000 rpm pendant 10 min à 4°C, puis retirer le plasma et récupérer le culot.
- Les culots récupérés ont été lavés par une solution saline stérile (tampon PBS 10 mM pH 7,4) ; Centrifuger à 1000 rpm pendant 5 minutes à 4°C. Ces deux étapes seront répétées trois fois de suite.

b. Fixation des érythrocytes :

Les globules rouges ont été incubés dans du PBS 10 mM pH 7,4 contenant le glutaraldéhyde 1% pendant 10 à 15 minutes ; suivie d'un lavage et de centrifugations 5 fois (le dernier cycle de lavage a été réalisé par la glycine 1M dans le PBS afin d'éliminer l'excès de glutaraldéhyde et son interaction avec les GR).(TOUMI, 2020)

c. La dilution 3% :

À la fin, les érythrocytes fixées diluées par le tampon PBS (3ml des GR fixés plus 97ml de PBS) pour avoir une concentration de 3%.(TOUMI, 2020)

2.4 Test d'agglutination

Pour tester l'activité d'hémagglutination des extraits, la technique des microplaques a été utilisée.

Pour les 14 échantillons ; dans chaque 3 puits d'une microplaque,

- 25µL de tampon PBS a été disposé puis le même volume de la solution brute des échantillons a été ajoutée dans le premier puits et une gamme de concentration par double dilution a été réalisé tout au long les 2 puits reste.
- Un volume de 25µl des hématies a été ajouté aux extraits dilués dans chaque puits.

Après une heure d'incubation à une température ambiante, la lecture d'activité hémagglutinante a été réalisée.

2.5 La limite d'agglutination

- Dans chaque puits, 25µl de solution tampon phosphate ont été ajoutés suivis de 25µl d'extrait brut de *Mentha x piperita*, *Morus alba* et *Punica granatum* successivement au niveau des premiers puits.
- Puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants.

- en fin autre 25µl du RBC de lapin ont été ajoutés dans tous les puits.
- La lecture a été effectuée après 1 heure d'incubation à une température ambiante.

Après la lecture et selon le résultat obtenu, une dilution des 3 échantillons a été réalisée comme suit :

- Dilution 1/32 pour *Mentha x piperita* (100µl échantillon brut + 3100µl PBS).
- Dilution 1/16 pour *Morus alba* (100µl échantillon brut + 1500µl PBS).
- Dilution pour 1/8 *Punica granatum* (100µl échantillon brut + 700 µl PBS).

2.6 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

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

- Dans chacun 3 puits d'une microplaque, 50µl des hématies de chaque groupe ont été ajoutés à 50µl d'extrait des 3 plantes diluées.
- Après 1 heure d'incubation, la lecture a été faite à l'œil nu.

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

La spécificité des lectines pour les glucides a été étudiée par la capacité d'une série de glucides à inhiber l'agglutination des érythrocytes de lapin.

- Dans chaque 3 puits d'une microplaque 25µl de PBS a été déposé, tout en ajoutant 25µl de solution de saccharides [inositol, Maltose, Cellobiose, fructose, Lactose, Galactose, Mannitol, Sorbitol, Methyl α -D-mannopyranoside, Mannose, Methyl beta-L-Fucopyranoside, Methyl alpha-L-fucopyranoside, Methyl alpha-D-galactopyranoside.] dans le premier puits.
- une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les 2 puits suivant.
- 25µl de chaque échantillon a été déposé.
- Incubation pendant 30min.
- 50µl des hématies du lapin à 3% ont été rajoutées.
- Après une heure la lecture a été faite à l'œil nu.

2.8 L'effet de température sur l'hémagglutination

- Un petit volume de l'échantillon brut a été pris dans un tube.

- Ce dernier a été incubé à différentes températures (40, 60, 80 et 100°C) pendant 1 heure chacun dans un bain-marie.
- Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à température ambiante et finalement soumis à un test d'hémagglutination.

2.9 L'effet du pH sur l'hémagglutination

- L'effet du pH sur l'activité d'hémagglutination a été déterminé en réalisant le test d'hémagglutination sur la lectine à l'aide de tampon PBS à différentes valeurs de pH de 3 à 10 (Glycine-HCl, Citratephosphate, PBS 10mM pH 7,4, Glycine-NaOH). (annexe 2)
- 3 g de poudre d'échantillon a été incubés dans chacun des tampons pendant 24h.
- Après l'incubation à 4 °C, le test d'hémagglutination a été effectuée sur le surnageant.

2.10 Purification de la lectine de *mentha X piperita*

2.10.1 Précipitation et fractionnement des protéines par salting out :

La séparation des protéines de l'extrait brut se fait avec du sulfate d'ammonium (AMS)((tableau de précipitation à 0 °C, annexe 4) ; une fraction protéique avec saturation de 80% en AMS a été collecté après la solubilisation du sel dans l'extrait protéique après l'ajout d'une quantité suffisante d'AMS pour atteindre une saturation de 80 % dans l'extrait initial puis dissolution sous agitation à froid dans un bain de glace pendant 20 min. Les protéines précipitées sont récupérées après 30 min de centrifugation à 15000 rpm et à 4 °C.

Le surnageant récupéré sera utilisé.



Figure 15 : Colonne de DEAE-Sepharose.

2.10.2 Dialyse :

La fraction 80% est solubilisée dans un volume de 15 mL de tampon PBS (10 mM à pH 7,4) et versées dans un boudin de dialyse de nature cellulosique de 12 kDade force de rétention (Spectra/Por® Membrane Dialysis Products), puis dialysées pendant 24h contre l'eau distillée. Le dialysat a été récupéré et un test d'HA a appliqué pour déterminer est ce que l'activité d'HA augmente.

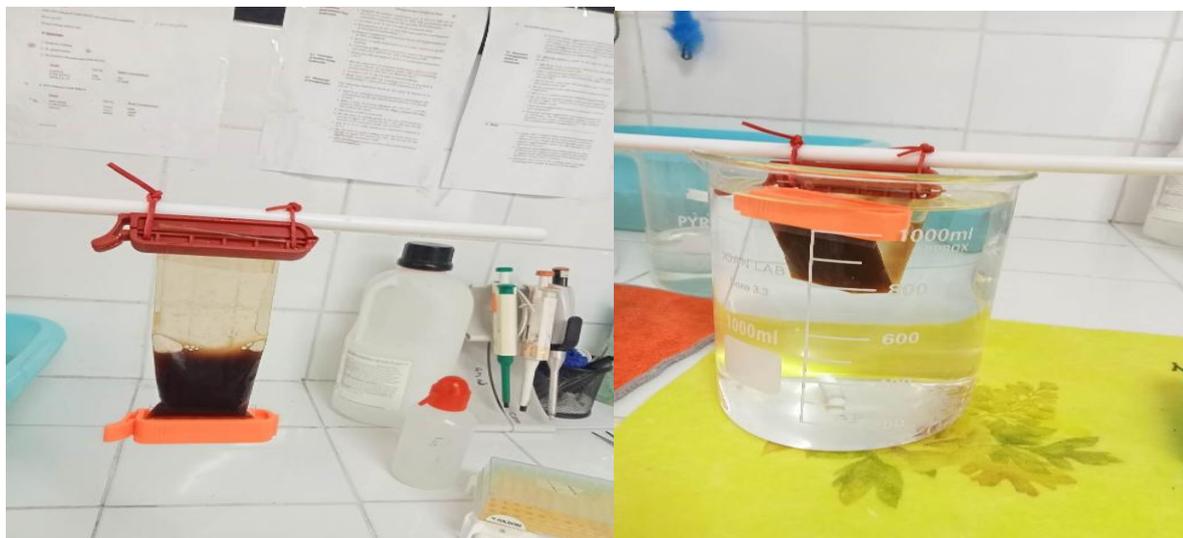


Figure 16: Boudin de dialyse avant l'opération de dialyse.

2.10.3 Chromatographie échangeuse d'anions sur colonne de DEAE-Sephacyl :

Dans la chromatographie sur gel DEAE-sephacryl, les molécules sont séparées selon leur charge. Après le dégazage de la résine elle a été coulée dans une colonne de 1,5 cm×10cm, puis lavée 5 fois et équilibrée avec le PBS 10 mM pH 8,4 filtré par une membrane de filtration de 0,45 µm.

- Un volume de 3 mL de la fraction 80% a été ajouté dans la colonne. L'élution des fractions adsorbées a été effectué successivement par de trois tampons PBS 10mM pH 8,4 à des molarités croissantes en NaCl 0,3 ; 0,5 et 1 M (annexe1).
- Après sa les fractions ont été collectées avec un volume de 4 mL par un collecteur de fractions GILSON FC80.
- Le spectre chromatographique a été réalisé après la lecture des absorbances (Abs) avec une longueur d'onde égale à 280 nm (visible).
- Un test d'HA des piques a été appliqué.



Figure 17: Collection des fractions purifiées par le collecteur de fractions GILSON FC80.

En raison de l'échec de la purification en fonction de charge par la technique Chromatographie échangeuse d'anions sur colonne de DEAE-Sephacyl, la purification a été répétée en utilisant une autre technique: la chromatographie sur colonne de Sephadex G-50.

2.11 Extraction des lectines par chromatographie d'exclusion

- La préparation de la colonne de Sephadex G-50
 - 4 g de Sephadex G-50 a été mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH : 7,2).
 - Le mélange a ensuite été incubé pendant 48 h à température ambiante. Enfin il a été coulé dans une colonne.

- La filtration des lectines
 - 2ml de surnageant d'extrait brut a été récupéré puis versé au niveau de la colonne Sephadex G-50 et équilibrée avec un tampon phosphate (10mM, pH 7,4), avec lequel elle a été recueillie par élution dans des tubes secs (5ml/tube) à l'aide d'un collecteur de fractions GILSON FC80.
 - L'extrait récupéré a été testé sur les hématies du lapin pour assurer la présence de l'activité hémagglutinante de notre extrait.
 - Les extraits issus de la chromatographie sur colonne sont placés dans le Spectrophotomètre à UV pour mesurer l'absorbance à longueur d'onde 280 nm, qui a été utilisée pour estimer la teneur en protéines dans les éluât de la colonne et tracer la courbe d'absorbance en fonction des tubes.

2.12 Dosage des protéines

La quantification de protéines récupérées de l'étape de la purification a été réalisée par la méthode du Bradford. (1976), En utilisant le sérum albumine bovin (BSA) comme un standard, les Abs ont été lues à 595 nm avec le spectrophotomètre JENWAY 7035 UV Visible (annexe 5).

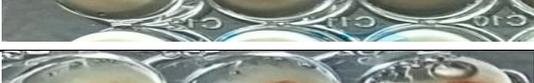
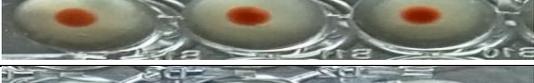
CHAPITRE VI
Résultats et Discussions



1 Le test d'hémagglutination

Les résultats d'agglutination des érythrocytes de lapin avec nos extraits végétaux sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: Résultats de tests d'hémagglutination.

	Résultats	Figure
<i>Urtica dioica</i>	---	
<i>Mentha x piperita</i>	+++	
<i>Linum usitatissimum</i>	---	
<i>Geastrum Lageniforme</i>	---	
<i>Salvia hispanica</i>	---	
<i>Morus alba</i>	+	
<i>Punica granatum</i>	++	
<i>Prunus armeniaca</i>	---	
<i>Phaseolus vulgaris</i>	---	
<i>Olea europaea</i>	---	
<i>Citrus x sinensis</i>	---	
<i>Syzygium aromaticum</i>	---	
<i>Ficus carica</i>	---	
<i>Foeniculum vulgare</i>	---	
Témoin négatif	---	

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

Une très forte agglutination est observée à l’œil nu dans le cas de l’extrait brut de la plante *Mentha x piperita* avec une forte agglutination dans le cas de *Punica granatum* et moins forte dans le cas de *Morus alba* vis-à-vis les hématies du lapin. C’est à cause de la présence des lectines dans nos 3 extraits, tant que la plupart des lectines sont capables d’interagir avec les érythrocytes (animaux ou humains) pour former un réseau entre eux, cela conduit au phénomène de l’hémagglutination. Ces résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des racines des plantes *Cyperus Rotundus*, *Pistacia Lentiscus* et *Ruta Graveolens* qui ont montré également de très fortes agglutinations lors de l’addition de la suspension d’érythrocytes de lapin(Necib *et al.*, 2015)

Les autres 11 échantillons représentent un résultat négatif tel que le témoin, il y avait une déposition naturelle des hématies au fond des puits car il n’y a pas des lectines. Les plantes que nous avons choisies pour notre étude sont : *Mentha x piperita*, *Punica granatum*, *Morus alba* (racines).

2 Test des limites d’hémagglutination

Tableau 6: L’Activité de la limite d’hémagglutination de *Punica granatum*, *Mentha x piperita*, *Morus alba*

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
Résultats				6	2	4	28	56	2	24	04	96
<i>Punica granatum</i>	+++	++ +	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mentha x piperita</i>	+++	++ +	+++	++	++	+	+	-	-	-	-	-
<i>Morus alba</i>	+++	++ +	+++	++ +	++	+	-	-	-	-	-	-

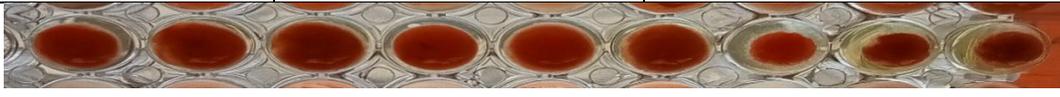
- Agglutination absente /+ : faible agglutination. ++ Forte agglutination /+++ : très forte agglutination.

- L’activité hémagglutinante de l’extrait de *Punica granatum* (tableau 6) montre une très forte agglutination lors de sa dilution au niveau des 1^{er} jusqu’à 3^{ème} puits alors qu’elle diminue au niveau du 4^{ème} puits, L’agglutination continue et disparaît complètement au niveau des puits suivants (5 jusqu’à 12).

- Pour le deuxième échantillon, *Mentha x piperita* montre une très forte agglutination lors de sa dilution au niveau des 1^{er} jusqu'à 3^{ème} puits et baisse au niveau de 4^{ème} jusqu'à 7^{ème} puits puis disparaît au niveau des puits suivants.
- Pour le troisième extrait, *Morus alba* montre une très forte agglutination lors de sa dilution au niveau de 1^{er} jusqu'à 4^{ème} puits et diminue au niveau de 5^{ème} jusqu'à 6^{ème} puits puis disparaît au niveau des puits suivants (7 jusqu'à 12).

3 L'effet d'agglutination sur les hématies humaines ABO

Tableau 7: L'agglutination des hématies humaines (A, B, O) par l'extrait brut de *Mentha x piperita*, *Morus alba* et *Punica granatum*.

	A	B	O
A			
Menthe	+	-	-
B			
Grenadier	+	+	+
C			
Mûrier	+	+	+

- : Agglutination absente.

+ : Présence d'hémagglutination.

A / Les résultats de tableau (7) montrent que la lectines de *mentha x piperita* est donnée une très forte agglutination avec les hématies de type A contrairement à les types B et O ce qui indique leur sélectivité au groupe sanguin A. Comme le montrent les résultats de la recherche avec les lectines de l'espèce *Morus nigra* (Necib *et al*, 2014) Ce résultat indique que nous pourrions utiliser la lectine de *Mentha X piperita* comme réactif pour le typage des groupes sanguins. Et nous pouvons dire que la lectine est spécifique.

B et C / Les résultats indiquent que la lectine de *Morus alba et Punica granatum* est donnée une très forte agglutination avec tous les hématies de système ABO, cette poly agglutinabilité est due au fait que la lectine reconnaît le même sucre sur la membrane globulaire des différents groupes sanguins, Ce résultat est similaire avec les études réalisées sur *Geotrupes stercorarius* qui a la même propriété. (devi *et al*, 2014)

Donc nous pouvons classer les lectines qui agglutinent tous les groupes sanguins humains dans la classe des lectines non spécifique.

4 Le test d'inhibition d'agglutination par les saccharides

Pour déterminer la spécificité de nos extraits vers des structures glucidiques spécifiques, un test d'inhibition de l'hémagglutination des saccharides a été réalisé. Qualitativement ce test évalue la spécificité de ces lectines aux glucides et détermine les sucres pouvant être utilisés pour leur purification.

Tableau 8: L'Activité d'inhibition d'hémagglutination de *Punica granatum*, *Mentha x piperita*, *Morus alba* par les saccharides.

	MENTHE (A)	MURE (B)	GRENADIER (C)
Fructose	+++	---	---
Inositol	---	---	---
Mannitol	+++	---	---
Cellobiose	---	---	---
Mannose	---	---	---
Lactose	+	---	---
Sorbitol	+++	---	---
Methyl α -d-Mannopyranoside	---	---	---
Maltose	+++	---	---
Methyl beta-L-Fucopyranoside	+++	---	---
Methyl α -l-Fucopyranose	---	---	---
Methyl α -d-Galactopyranoside	---	---	---

+++ : Inhibition de l'activité hémagglutinante dans les 3 puits.

--- : Pas d'inhibition de l'activité hémagglutinante.

+ : Inhibition de l'activité hémagglutinante dans un seul puits.

A \Rightarrow L'extrait du *Mentha x piperita* démontré une inhibition avec certains saccharides (fructose, mannitol, sorbitol, maltose et Methyl beta-L-Fucopyranoside) ce qui prouve la différenciation de ses récepteurs. L'inhibition de l'activité agglutinante des lectines par les glucides est due au fait qu'un ou plusieurs de ces glucides occupent un ou plusieurs sites actifs ou également connus sous le nom de domaines de reconnaissance des glucides.(TOUMI, 2020)

B et C \Rightarrow Les extraits des racines des plantes *Morus alba* et *Punica granatum* ne montrent aucune inhibition avec tous les types de sucres mentionnés ci-dessus. Il n'y a donc pas de récepteurs actifs pour ces sucres dans la lectine de ces échantillons (non spécifique).

5 Effet de température sur l'hémagglutination

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

Tableau 9: Résultats d'effet de température sur l'hémagglutination de *mentha x piperita*.

Température	40°	60°	80°	100°
<i>MENTHA X PIPERITA</i>	+++	+++	++	++

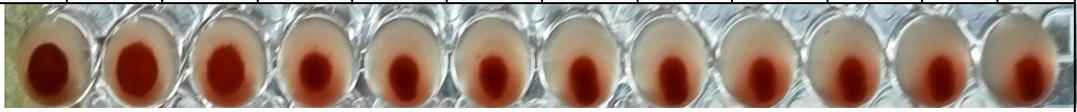
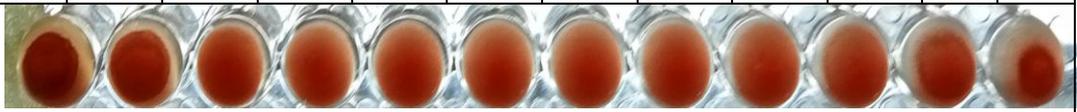


Figure 18: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Mentha x piperita*.

Le traitement thermique à l'extrait de *mentha x piperita*, réduit significativement son activité d'hémagglutination jusqu' à 100 °C, mais pas suffisamment pour l'inactiver complètement l'activité hémagglutinante (Figure 18). cela est dû aux changements dans la composition de la lectine, où la chaleur décompose leurs liaisons d'hydrogène, conduisant finalement à la dénaturation de la protéine.(Carrillo *et al.*, 2017) ; Ces résultats sont similaires à l'étude de la lectine de *Momordica charantia*. (Silva *et al.*, 2023)

6 L'effet du pH sur l'hémagglutination

Tableau 10: L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante d'extrait de *Mentha x piperita*.

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/12	1/25	1/51	1/10	1/2	1/4
PH							8	6	2	24	04	09
											8	6
3												
	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
4												
	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6												
	++ +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++ +
7												
	++ +	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
9												
	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-

● +++:Très forte agglutination. / ++ : Forte agglutination / + : faible agglutination / - : Absence d'agglutination.

La présence de groupements chimiques (COOH, OH, NH₂, etc.), plus souvent des groupements hydroxyles, dans les acides aminés ionisables (positifs ou négatifs) des CDR est associée à des changements de pH, puisque chaque changement de pH du milieu induit ces groupes, l'ionisation de la lectine modifie alors la charge ionique de la lectine, ce qui affecte finalement la force de l'interaction avec le ligand. Cela aidera à augmenter ou à diminuer l'activité de la lectine.(TOUMI, 2020)

D’après les résultats obtenus :

L’activité agglutinante de la lectine de menthe poivrée est stable dans la gamme de [3 à 9] tant que ces lectines ont une faible activité à ph acide (Ph= 3 et 4), au-delà du ph=6 l’activité augmente jusqu’à atteinte d’une valeur maximale dans une zone neutre de PH compris entre [6 et 9] où ça commence à baisser progressivement.

Cela montre que la lectine de menthe poivrée reste stable tout au long de la gamme de pH [3 à 9]. Et ils hémagglutinent mieux les globules rouges à pH alcalin qu’à pH acide. Les résultats obtenus sont presque similaires à ceux obtenus avec les lectines de «*Phaseolus coccineus*», L’activité hémagglutinante de ces lectines est stable dans l’intervalle de pH compris entre 3 et 10.(González-Cruz *et al*, 2022).

7 Résultat de purification

Le résultat de test d’HA de lectine qui a été effectué après l’application de la technique «salting out » par rapport à l’activité hémagglutinante avec notre solution brute.

Les résultats sont comme suit :

Tableau 11: Résultats de test d’HA après l’application de la technique «salting out ».

	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 brute												
	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-	-
Extrait au sulfate d’ammonium												
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-

D’après les résultats obtenus (tableau 11) nous avons remarqué une augmentation importante de l’HA car la précipitation avec AMS élève le nombre des protéines (Les protéines sont empêchées de former des liaisons d’hydrogène avec l’eau, tandis que le sel facilite leurs interactions, formant des agrégats qui tombent ensuite hors de la solution.)(Grodzki and Berenstein, 2010), donc l’augmentation de la concentration en protéines augmente le nombre de sites de liaison CDR.

- Les résultats de l’absorbance des fractions que nous avons collectées après la chromatographie échangeuse d’anions sur colonne de DEAE-Sephacyl avec la longueur d’onde 280nm sont comme suit :

Tableau 12: Résultats d'extraction de 51 fractions de *Mentha x piperita* obtenus après la colonne échangeuse d'ions.

Tube	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
Abs	/	0.009	0.023	0.067	0.212	0.207	0.287	0.459	0.518	0.541
Tube	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Abs	0.527	0.405	0.030	0.078	0.066	0.049	0.067	0.123	0.194	0.102
Tube	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Abs	0.053	0.071	0.071	0.053	0.022	0.042	0.078	0.097	0.108	0.037
Tube	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Abs	0.037	0.020	0.045	0.088	0.101	0.102	0.115	0.057	0.047	0.038
Tube	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
Abs	0.052	0.032	0.031	0.101	0.028	0.046	0.047	0.091	0.052	0.032
Tube	51									
Abs	0.014									

- Tubes de couleur gris : la fraction par le tampon tampons PBS 10 mM pH 8,4 /0, 3 M .
- Tubes de couleur bleu : la fraction par le tampon tampons PBS 10 mM pH 8,4 / 0, 5 M .
- Tubes de couleur rose : la fraction par le tampon tampons PBS 10 mM pH 8,4 /1 M .

7.1 Les résultats de test d'HA :

Nous avons remarqué que l'activité est absente, donc il n'y a pas de lectines dans nos fractions, ça peut être survenu à cause de la perturbation de la structure des lectines tant que l'utilisation de conditions expérimentales inappropriées, telles que la congélation, des forces ioniques élevées ou d'autres facteurs dénaturants, peut perturber la structure des lectines. Cela peut entraîner une perte d'activité biologique des lectines pendant la purification, ce qui peut être considéré comme une "faille" dans la méthode.

8 L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de Sephadex G-50

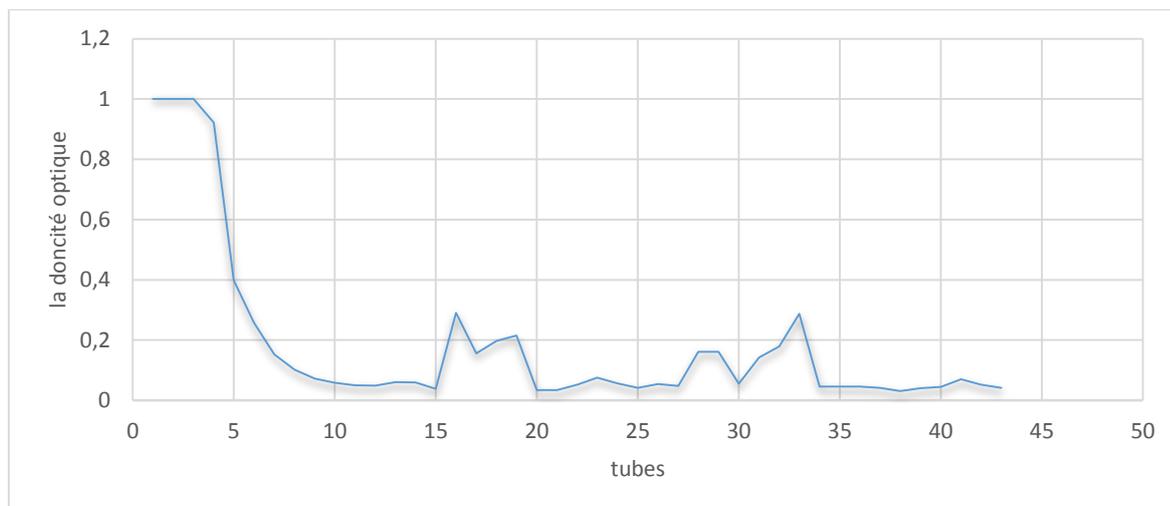


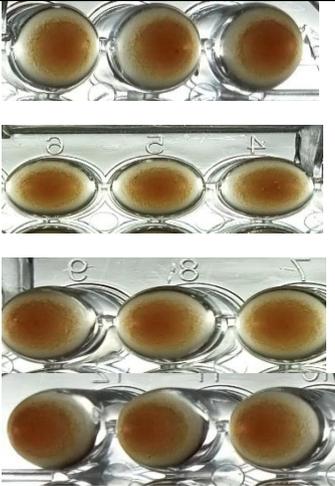
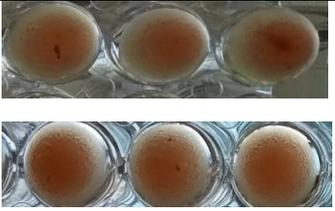
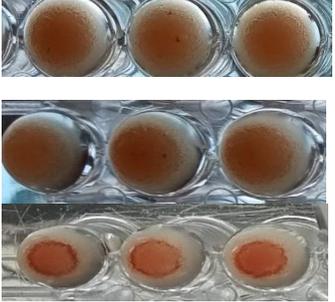
Figure 19: Courbe représentant le profil d'élution de l'absorbance en fonction du volume d'élution des différentes fractions protéiques.

Éluant était : PBS (pH= 7, 34) ; Absorbance à 280nm ; Le volume de rétention : 4ml

L'extraction des lectines à partir d'extrait des *Mentha x piperita* est réalisée selon l'absorbance à 280 nm, trois pics ont été observés qui sont correspondu aux protéines de haut poids moléculaire.

Afin de confirmer la présence des lectines au niveau des pics. Un test d'hémagglutination a été effectué avec les hématies de lapin selon le protocole décrit dans le chapitre précédent.

Tableau 13: Résultats d'extraction de 51 fractions de *Mentha x piperita* obtenus après chromatographie sur colonne de G-50.

Pics	Fractions	Résultat	Discussion
1	16, 17,18, 19		Forte activité
2	28, 29		Forte activité
3	31, 32,33		Forte activité

Les résultats obtenus par la suite ont réellement confirmé la présence de lectines dans ces 9 tubes (correspondant aux fractions 16, 17, 18,19 et 28,29 et 31, 32,33) avec une très forte hémagglutination.

Ces résultats sont similaires de celle de *Cillus sp* séparées par chromatographie sur colonne (Meita, Kouame and Offomou, 2008) Tandis que l'extrait de *Mentha x piperita* a une activité hémagglutinante plus élevé que l'extrait brut.

Résultats de dosage

- Calcul de la concentration de l'extrait brut

Ont été déterminé la concentration de notre extrait brut en protéine à partir de droite étalon.

La D.O de notre EB est de 0,836.

$$y = 0,0113x + 0,2844$$

$$0,836 = 0,0113x + 0,2844$$

$$x = (0,836 - 0,2844) / 0,0113$$

$$x = 48,81 \mu\text{g} / \text{ml}.$$

➤ **La concentration de l'EB en protéines = 48,81 $\mu\text{g} / \text{ml}$.**

- Calcul de la concentration de l'extrait purifiée

La D.O de notre EP est de 0,651.

$$y = 0,0113x + 0,2844$$

$$0,651 = 0,0113x + 0,2844$$

$$x = (0,651 - 0,2844) / 0,0113$$

$$x = 32,44 \mu\text{g} / \text{ml}.$$

➤ **La concentration de l'EP en protéines = 32,44 $\mu\text{g} / \text{ml}$.**

Conclusion et prescriptive



1 Conclusion

Dans le cadre de notre travail de recherche, nous nous sommes intéressées à 3 plantes : *Mentha x piperita*, *Punica granatum* et *Morus alba*.

La recherche des lectines à partir de nos plantes a conduit à une activité d'agglutination.

La limites d'agglutinant de *Mentha x piperita*, *Morus alba*, et *Punica granatum* ont été 1 :8(512), 1 :6 (64) et 1 :4 (16) respectivement.

Les lectines de *punica granatum* et *Morus alba* n'ont pas été inhibées par les saccharides.

La lectine de *Mentha x piperita* est inhibé par le fructose, mannitol, sorbitol, maltose, methyl-beta L fucopyranoside.

L'extrait de *Punica granatum* et *Morus alba* montrent une spécificité pour les hématies des groupes sanguins du système ABO, donc agglutinent tous les types de groupe sanguins qui ne peuvent pas être utilisés comme des réactifs de groupages d'origines végétales ; par contre l'extrait de *Mentha x piperita* montre une spécifié avec les hématies de groupe sanguine A.

Nos résultats indiquent que les lectines de *Mentha x piperita* sont thermorésistants et plus résistant à la température.

L'extrait des lectines de *Mentha x piperita* (racines) est stable dans un intervalle allant de (pH=3 à 9) alors qu'elle est faible de (pH=1 à 3).

La chromatographie d'exclusion sur colonne Séphadex G-50 a donné trois pics indiquant la présence des lectines, dont on a prouvé la présence par test d'hémagglutination.

2 Perspectives

Les perspectives à court terme de ce travail sont nombreuses.

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

Références



Références

A.

Aglyamova, A. *et al.* (2022) ‘Growing Maize Root: Lectins Involved in Consecutive Stages of Cell Development’, *Plants*, 11(14), p. 1799. Available at: <https://doi.org/10.3390/plants11141799>.

Alain Ramé, Philippe Naccache (2015) *Transfusion sanguine - Le mémo - Alain Ramé , Philippe Naccache -... - Librairie Eyrolles*. Available at: <https://www.eyrolles.com/Sciences/Livre/transfusion-sanguine-le-memo-9782757307885/> (Accessed: 26 March 2023).

Anticancéreux : Les points essentiels (no date). Available at: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/anticancereux-les-points-essentiels> (Accessed: 6 April 2023).

Araujo-Filho, J.H. *et al.* (2010) ‘A ConA-like lectin from *Dioclea guianensis* Benth. Has antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides*, unlike its homologues, ConM and ConA’, *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(7), pp. 4090–4096.

De Arruda, M.C.S. *et al.* (2023) ‘Antitumor lectins from algae: A systematic review’, *Algal Research*, 70, p. 102962. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102962>.

Assreuy, A.M.S. *et al.* (2009) ‘Vasodilator effects of Diocleinae lectins from the *Canavalia* genus’, *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 380, pp. 509–521.

Athmen Reguieg Yssaad, K. Hammadi (2017) [PDF] *In Vitro Antimicrobial Activity of Phenolic Extracts of the Pomegranate (Punica granatum) | Semantic Scholar*. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/In-Vitro-Antimicrobial-Activity-of-Phenolic-of-the-Yssaad-Hammadi/457637a25b2f8d595e5f59115484ab40e4e3a86b> (Accessed: 21 May 2023).

B.

Bah, C.S.F., Fang, E.F. and Ng, T.B. (2012) ‘Medicinal Applications of Plant Lectins’, *Antitumor Potential and other Emerging Medicinal Properties of Natural Compounds*, pp. 55–74. Available at: https://doi.org/10.1007/978-94-007-6214-5_5.

Bailly, P., Chiaroni, J. and Roubinet, F. (2015) *Les groupes sanguins érythrocytaires*. John Libbey Eurotext.

- Barauna, S.C. *et al.* (2006) 'Antidepressant-like effect of lectin from *Canavalia brasiliensis* (ConBr) administered centrally in mice', *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 85(1), pp. 160–169.
- Barbosa, T. *et al.* (2001) 'In vivo lymphocyte activation and apoptosis by lectins of the Diocleinae subtribe', *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, pp. 673–678. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000500016>.
- Basu, D. and Appukuttan, P.S. (1983) 'Plant lectins specific for N-acetyl- β -D-galactosamine', *Journal of Biosciences*, 5, pp. 131–135.
- Baudoux, D. (2002) *L'aromathérapie: se soigner par les huiles essentielles*. Amyris.
- BELDJOUUDI, M.F. (2019) *Implication de la transduction du signal par le facteur de transcription E2F1 dans les cancers broncho-pulmonaires : Détection de glycanes tronqués par la lectine recombinée rPVL*. doctorat. Université de MOSTEFA BENBOULAID-Batna 2.
- Ben-Arie, R., Segal, N. and Guelfat-Reich, S. (1984) 'The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate', *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(6), pp. 898–902.
- Bies, C., Lehr, C.-M. and Woodley, J.F. (2004) 'Lectin-mediated drug targeting: history and applications', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(4), pp. 425–435. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.030>.
- Boettner, D.R., Huston, C. and Petri, W.A. (2002) 'Galactose/N-acetylgalactosamine lectin: the coordinator of host cell killing', *Journal of biosciences*, 27, pp. 553–557.
- Boston, 677 Huntington Avenue and Ma 02115 +1495-1000 (2019) *Lectins, The Nutrition Source*. Available at: <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/anti-nutrients/lectins/> (Accessed: 4 April 2023).
- Bouchara, J.-P. and Tronchin, G. (2003) 'Lectines fongiques et adhérence', in *Annales de l'Institut Pasteur. Actualités*, pp. 167–180.
- Boyd, W.C. and Shapleigh, E. (1954) 'Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins)', *Science*, 119(3091), pp. 419–419. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.119.3091.419>.
- Breitenbach Barroso Coelho, L. c. *et al.* (2018) 'Lectins as antimicrobial agents', *Journal of Applied Microbiology*, 125(5), pp. 1238–1252. Available at: <https://doi.org/10.1111/jam.14055>.
- Bulteau, F. (2020) *Ciblage in vivo des tumeurs via l'antigène Tn: Développement d'un cluster de Macrophage Galactose Lectine*. PhD Thesis. Université Grenoble Alpes [2020-.....].

C.

Campos, J.K.L. *et al.* (2016) 'Anti-inflammatory and antinociceptive activities of Bauhinia monandra leaf lectin', *Biochimie Open*, 2, pp. 62–68. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopen.2016.03.001>.

Carrillo, C. *et al.* (2017) 'Effects of temperature, pH and sugar binding on the structures of lectins ebulin f and SELfd', *Food Chemistry*, 220, pp. 324–330. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.007>.

Chabrol, E. (2012) *Caractérisation structurale et fonctionnelle d'une lectine de type-C des cellules de Langerhans : La Langérine*. These de doctorat. Grenoble. Available at: <https://www.theses.fr/2012GRENV022> (Accessed: 18 May 2023).

Chaiwong, S. *et al.* (2021) 'Dried mulberry fruit ameliorates cardiovascular and liver histopathological changes in high-fat diet-induced hyperlipidemic mice', *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(4), pp. 356–368. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2021.02.006>.

Chan, E.W.C. *et al.* (2020) 'Phenolic constituents and anticancer properties of Morus alba (white mulberry) leaves', *Journal of Integrative Medicine*, 18(3), pp. 189–195. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.joim.2020.02.006>.

Coelho, L.C.B.B. *et al.* (2017) 'Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/Pharmacological and Therapeutic Applications', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, p. e1594074. Available at: <https://doi.org/10.1155/2017/1594074>.

D.

Damme, E.J.V. *et al.* (1998) 'Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles', *Critical Reviews in Plant Sciences*, 17(6), pp. 575–692.

David, S. (1995) *Chimie moléculaire et supramoléculaire des sucres: Introduction chimique aux glycosciences*. EDP Sciences.

De Coninck, T. and Van Damme, E.J. (2022) 'Plant lectins: handymen at the cell surface', *The Cell Surface*, p. 100091.

De Mejía, E.G. and Prisecaru, V.I. (2005) 'Lectins as bioactive plant proteins: a potential in cancer treatment', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(6), pp. 425–445. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408390591034445>.

DeFranco, A.L., Robertson, M. and Locksley, R.M. (2009) *Immunité: la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires*. De Boeck Supérieur.

Devi, P.R. *et al.* (2014) 'Purification And Characterization Of A Novel Lectin From *Geotrupes Stercorarius*. International Journal of Advanced Biotechnology and Research, 2014'.

Dos Santos, A.F. *et al.* (2010) 'Toxicity of some glucose/mannose-binding lectins to *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*', *Bioresource Technology*, 101(2), pp. 794–798.

E.

Eg, D.M. and Vi, P. (2005) 'Lectins as bioactive plant proteins: a potential in cancer treatment', *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(6). Available at: <https://doi.org/10.1080/10408390591034445>.

El-Araby, M.M. *et al.* (2020) 'Characterization and antimicrobial activity of lectins purified from three Egyptian leguminous seeds', *AMB Express*, 10(1), p. 90. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01024-4>.

Elfstrand, M. (1898) 'Über blutkörperchenagglutinierende Eiweisse', *Görberdorfer Veröffentlichungen a. Band I*, pp. 1–159.

F.

F, K. *et al.* (2002) 'Lectins as markers for blood grouping', *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 8(12). Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12503049/> (Accessed: 4 April 2023).

Figueiredo, J.G. *et al.* (2009) 'Antinociceptive activity and toxicology of the lectin from *Canavalia boliviana* seeds in mice', *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 380, pp. 407–414.

G.

Lectins - Blood Bank Guy Glossary' (no date) *Blood Bank Guy*.

URL: <https://www.bbguy.org/education/glossary/gll02/> (Accessed: 6 April 2023).

Goldstein, I.J. *et al.* (1980) 'What should be called a lectin?', *Nature*, 285(5760), pp. 66–66.

URL: <https://doi.org/10.1038/285066b0>.

Goldstein, I.J. (1986) 'Poretz RD (1986) Isolation, physicochemical characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins', *The Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine*. Academic Press, New York, pp. 33–248.

Gomes, B.S. *et al.* (2012) 'Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion', *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, pp. 770–778. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200042>.

González-Cruz, L. *et al.* (2022) 'Partial Purification and Characterization of the Lectins of Two Varieties of *Phaseolus coccineus* (Ayocote Bean)', *Agronomy*, 12(3), p. 716. URL: <https://doi.org/10.3390/agronomy12030716>.

Greer, F., Brewer, A.C. and Pusztal, A. (1985) 'Effect of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) toxin on tissue weight and composition and some metabolic functions of rats', *British Journal of Nutrition*, 54(1), pp. 95–103. URL: <https://doi.org/10.1079/BJN19850096>.

Grodzki, A.C. and Berenstein, E. (2010) 'Antibody purification: ammonium sulfate fractionation or gel filtration', *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 588, pp. 15–26. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-324-0_3.

H.

Haab, B.B. (2012) 'Using lectins in biomarker research: addressing the limitations of sensitivity and availability', *Proteomics. Clinical applications*, 6(0), pp. 346–350. Available at: <https://doi.org/10.1002/prca.201200014>.

Hanelt, P., Buttner, R. and Mansfeld, R. (2001) 'Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops (except Ornamentals).', *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops (except Ornamentals)*. [Preprint]. Available at: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20177200361> (Accessed: 21 May 2023).

Hopkins, W.G. (2003) *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.

Hopkins, W.G., Evrard, C.-M. and Rambour, S. (2003) *Physiologie végétale*. 1er édition. Bruxelles: DE BOECK SUP.

I.

Imberty, A. and Varrot, A. (2008) 'Microbial recognition of human cell surface glycoconjugates', *Current opinion in structural biology*, 18(5), pp. 567–576.

Iordache, F. *et al.* (2015) 'Antimicrobial and Antiparasitic Activity of Lectins', *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 16(2), pp. 152–161. Available at: <https://doi.org/10.2174/138920101602150112151907>.

J.

Joshi, N.V. and Srisudha, S. (2012) 'Biochemical characterization, haemagglutinating activity and cytotoxic activity of *Padina gymnospora* (Kutzing) Sonder', *Int J Bio Phar Res*, 3(8), pp. 956–961.

K.

Kerrigan, A.M. and Brown, G.D. (2009) 'C-type lectins and phagocytosis', *Immunobiology*, 214(7), p. 562. URL: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2008.11.003>.

L.

Lal, K. (2021) *Structure-based design of glycomimetic ligands for the N-terminal domain of BC2L-C lectin*. PhD Thesis. Université Grenoble Alpes [2020-....]; Università degli studi (Milan, Italie).

Lam, S.K. and Ng, T.B. (2011a) 'Lectins: production and practical applications', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(1), pp. 45–55. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2892-9>.

Lam, S.K. and Ng, T.B. (2011b) 'Lectins: production and practical applications', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(1), pp. 45–55. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2892-9>.

Le Bellec, F. and Le Bellec, V. (2007) *Le verger tropical: cultiver les arbres fruitiers*. Ed. Orphie.

LECTINES, Rôles dans les plantes - Encyclopædia Universalis (no date). URL: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/lectines/4-roles-dans-les-plantes/> (Accessed: 2 April 2023).

Lis, H. and Sharon, N. (1998) 'Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition', *Chemical Reviews*, 98(2), pp. 637–674. URL: <https://doi.org/10.1021/cr940413g>.

M.

Mahendran, G. and Rahman, L.-U. (2020) 'Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha × piperita* L.)-A review', *Phytotherapy research: PTR*, 34(9), pp. 2088–2139. URL: <https://doi.org/10.1002/ptr.6664>.

Mann, K. *et al.* (2001) 'The amino-acid sequence of the glucose/mannose-specific lectin isolated from *Parkia platycephala* seeds reveals three tandemly arranged jacalin-related domains', *European Journal of Biochemistry*, 268(16), pp. 4414–4422.

Maphetu, N. *et al.* (2022) 'Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A review', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, p. 113256. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113256>.

Marouf, A. and Reynaud, J. (2007) *La botanique de A à Z: 1 662 définitions*. Dunod.

Matsushita, M. *et al.* (2012) 'Soluble Host-Defense Lectins', *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. URL: <https://doi.org/10.1155/2012/275970>.

Melgarejo Moreno, P. and Salazar Hernández, D.M. (2003) *Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas (Vol. II). Algarrobo, granado y jinjolero*.

MIÈGE, J. (2023) *LECTINES, Structure et propriétés - Encyclopædia Universalis*. URL: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/lectines/2-structure-et-proprietes/> (Accessed: 27 March 2023).

Milos, N.C. *et al.* (1990) 'Localization of endogenous galactoside-binding lectin during morphogenesis of *Xenopus laevis*', *Anatomy and Embryology*, 182(4), pp. 319–327. URL: <https://doi.org/10.1007/BF02433492>.

Mishra, Abtar *et al.* (2019) 'Structure-function and application of plant lectins in disease biology and immunity', *Food and Chemical Toxicology*, 134, p. 110827. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110827>.

Morales Ramos, J.G. *et al.* (2021) 'Medicinal properties of *Morus alba* for the control of type 2 diabetes mellitus: a systematic review', *F1000Research*, 10, p. 1022. URL: <https://doi.org/10.12688/f1000research.55573.1>.

Moreira, R. de A. *et al.* (1991) 'Plant lectins, chemical and biological aspects', *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 86 Suppl 2, pp. 211–218. URL: <https://doi.org/10.1590/s0074-02761991000600048>.

Morigane (2007) *Grimoire des Plantes. Par Morigane - PDF Téléchargement Gratuit*. URL: <https://docplayer.fr/28076057-Grimoire-des-plantes-par-morigane.html> (Accessed: 31 May 2023).

N.

Nabi-Afjadi, M. *et al.* (2022) 'Lectins and lectibodies: potential promising antiviral agents', *Cellular & Molecular Biology Letters*, 27(1), p. 37. URL: <https://doi.org/10.1186/s11658-022-00338-4>.

Naithani, S. *et al.* (2021) 'Plant lectins and their many roles: Carbohydrate-binding and beyond', *Journal of Plant Physiology*, 266, p. 153531. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153531>.

Necib, Y. *et al.* (2014) 'IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF LECTIN EXTRACTED FROM BARK OF THE BLACK MULBERRY (*MORUS NIGRA*)', *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(1).

Necib, Y. *et al.* (2015) 'COMPARATIVE STUDY OF A NEW LECTIN EXTRACTED FROM ROOTS OF PLANTS: *CYPERUS ROTUNDUS*, *PISTACIA LENTISCUS* AND *RUTA GRAVEOLENS*', *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(1).

NOTOVA, S. (2022) *Ingénierie de neo-lectines et lectines Janus Engineering of neo-lectins and janus lectins*. PhD Thesis. Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.

Nunes, B.S. *et al.* (2009) ‘Lectin extracted from *Canavalia grandiflora* seeds presents potential anti-inflammatory and analgesic effects’, *Naunyn-Schmiedeberg’s archives of pharmacology*, 379, pp. 609–616.

P.

Parham, P. (2003) *Le système immunitaire*. De Boeck Supérieur.

Peumans, W.J. and Van Damme, E.J. (1995) ‘Lectins as plant defense proteins.’, *Plant Physiology*, 109(2), pp. 347–352.

Plant Lectin - an overview | ScienceDirect Topics (no date). Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/plant-lectin> (Accessed: 27 March 2023).

‘Plant lectin: A promising future anti-tumor drug’ (2022) *Biochimie*, 202, pp. 136–145. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2022.08.002>.

Pontet, M. (1996) ‘Structure et activité biologique d’une nouvelle famille de lectines animales: les galectines’, *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 11(5), pp. 297–305.

Pontet, M (1996) ‘Structure et activité biologique d’une nouvelle famille de lectines animales: les galectines’, *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 11(5), pp. 297–305. URL: [https://doi.org/10.1016/0923-2532\(96\)88203-2](https://doi.org/10.1016/0923-2532(96)88203-2).

R.

Raposo, C.D., Canelas, A.B. and Barros, M.T. (2021) ‘Human Lectins, Their Carbohydrate Affinities and Where to Find Them’, *Biomolecules*, 11(2), p. 188. URL: <https://doi.org/10.3390/biom11020188>.

Rea, R.L., Thompson, L.U. and Jenkins, D.J.A. (1985) ‘Lectins in foods and their relation to starch digestibility’, *Nutrition Research*, 5(9), pp. 919–929. URL: [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(85\)80105-6](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(85)80105-6).

Roques, J. (1837) *Nouveau traité des plantes usuelles, spécialement appliqué a la médecine domestique, et au régime alimentaire de l’homme sain ou malade*. P. Dufart.

S.

Schmidt, E.L. and Bohlool, B.B. (1981) ‘The Role of Lectins in Symbiotic Plant-Microbe Interactions’, in W. Tanner and F.A. Loewus (eds) *Plant Carbohydrates II*:

Extracellular Carbohydrates. Berlin, Heidelberg: Springer (Encyclopedia of Plant Physiology), pp. 658–677. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-642-68234-6_26.

Sharon, N. (1996) ‘Carbohydrate—Lectin interactions in infectious disease’, *Toward anti-adhesion therapy for microbial diseases*, pp. 1–8.

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

URL: <https://doi.org/10.1093/glycob/cwh122>.

Shruthishree D. Padiyappa *et al.* (2022) ‘Characterization of antioxidant, anti-cancer, and immunomodulatory functions of partially purified garlic (*Allium sativum* L.) lectin’, *Biomedicine*, 42(4), pp. 703–712. URL: <https://doi.org/10.51248/.v42i4.1862>.

Silva, J.F. da *et al.* (2023) ‘Lectin Purification through Affinity Chromatography Exploiting Macroporous Monolithic Adsorbents’, *Separations*, 10(1), p. 36.

URL: <https://doi.org/10.3390/separations10010036>.

Singh, R.S., Walia, A.K. and Kennedy, J.F. (2020) ‘Mushroom lectins in biomedical research and development’, *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, pp. 1340–1350. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.180>.

ŠNAJDROVÁ, L. (2006) *Modélisation moléculaire des lectines et des glycosyltransférases*. PhD Thesis. UNIVERSITE JOSEPH FOURIER.

Somers, W.S. *et al.* (2000) ‘Insights into the Molecular Basis of Leukocyte Tethering and Rolling Revealed by Structures of P- and E-Selectin Bound to SLeX and PSGL-1’, *Cell*, 103(3), pp. 467–479. URL: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00138-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00138-0).

Soussi, T. (2000) ‘Fiche n°39 : Gène : p53 (TP53) - Catégorie : Gène suppresseur de tumeur’, *Bulletin du Cancer*, 87(10), pp. 691–2.

Sumner, J.B. (1919) ‘The globulins of the jack bean, *Canavalia ensiformis*: preliminary paper’, *Journal of Biological Chemistry*, 37(1), pp. 137–142.

Sumner, J.B. and Howell, S.F. (1936) ‘Identification of hemagglutinin of jack bean with concanavalin A’, *Journal of bacteriology*, 32(2), pp. 227–237.

Surya, S. and Haridas, M. (2018) ‘A New Galactose-Specific Lectin from *Clerodendrum infortunatum*.’, *Iranian Journal of Biotechnology*, 16(4), p. e1449.

URL: <https://doi.org/10.21859/ijb.1449>.

Système du complément - Immunologie; troubles allergiques (no date) *Édition professionnelle du Manuel MSD*.

URL: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/immunologie-troubles-allergiques/biologie-du-syst%C3%A8me-immunitaire/syst%C3%A8me-du-compl%C3%A9ment> (Accessed: 27 April 2023).

T.

Teixeira, E.H. *et al.* (2006) 'In vitro inhibition of Streptococci binding to enamel acquired pellicle by plant lectins', *Journal of applied microbiology*, 101(1), pp. 111–116.

TOUMI, M.E. (2020) *Purification et caractérisation des lectines à partir des champignons : Lactarius deliciosus, Laetiporus sulphureus avec des tests biologiques*. UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE-1.

Tripati, M. (2021) 'Carbohydrate Binding Proteins: Lectins', 10(160).

V.

Vasta PhD, G.R. and Ahmed PhD, H. (eds) (2008) 'Animal Lectins: A Functional View', in. CRC Press. URL: <https://doi.org/10.1201/9781420006971>.

Vyas, N.K. (1991) 'Atomic features of protein-carbohydrate interactions', *Current Opinion in Structural Biology*, 1(5), pp. 732–740.

W.

Wang, H. and Ng, T.B. (1998) 'Ribosome inactivating protein and lectin from bitter melon (*Momordica charantia*) seeds: sequence comparison with related proteins', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 253(1), pp. 143–146. URL: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9765>.

Wehner, R. and Gehring, W. (1999) *Biologie et physiologie animales: bases moléculaires, cellulaires, anatomiques et fonctionnelles; orientations comparée et évolutive*. De Boeck Supérieur.

Wongkham, S., Boonsiri, P. and Wongkham, C. (1994) 'Plant lectins and their applications', in. *[Biotechnology and Biology Diversity]*, Bangkok (Thailand), 8-9 Sep 1994.

URL:https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Plant+lectins+and+their+applications&author=Sopit+Wongkham&publication_year=1994 (Accessed: 6 April 2023).

Y.

Yuriev, E. and Ramsland, P.A. (2012) *Structural glycobiology*. CRC Press.

Z.

Zhuravleva, M.A., Trandem, K. and Sun, P.D. (2008) 'Structural implications of Siglec-5-mediated sialoglycan recognition', *Journal of molecular biology*, 375(2), pp. 437–447.

Zitouni, A. and Necib, Y. (2017a) 'Extraction, purification, caractérisation et effet immuno-modulateur Des lectines fongiques de Terfèzia boudiéri (Truffe Blanche du Sahara)'.

Zitouni, A. and Necib, Y. (2017b) 'Extraction, purification, caractérisation et effet immuno-modulateur Des lectines fongiques de Terfèzia boudiéri (Truffe Blanche du Sahara)'.

Annexes

Annexes

Annexe 01

-Préparation des tampons

Composition	PM (g/mol)	Molarité mM	PBS-EDTA Disodique pH7.4 X10	PBS 1X (10Mm) pH8.4		
				NaCl 0.3M	NaCl 0.5M	NaCl 1M
Na ₂ HPO ₄	141.96	10	14.196g	0.70g		
KH ₂ PO ₄	136.086	2	2.7g	0.1g		
KCl		2.7	2g	0.135g		
NaCl	58.44	137	80g	8.75g	14.9g	29.22g
MilliQ	/	/	1000ml	500ml		

Annexe 02

- Préparation des solutions tampons à différents pH (3-9) avec 20 mM de concentration par la titration

Tampon	pH	Molarité	Composition	Quantité	volume
Glycine-HCl	3-4	20 mM	Glycine	1.5014 g	1000ml
			HCl	Quelques gouttes	
Citratephosphate	6		Acide citrique	3.842 g	
			Phosphate disodique	2.8388 g	
Glycine-NaOH	9		Glycine	1.5014 g	
			NaOH	0.8 g	

Annexe 03

- Préparation des monosaccharides et des glycoprotéines.

Sucre	NaCl
0,1g	1ml

Annexe 04

-Tableau de précipitation au sulfate d'ammonium

% de saturation en sulfate d'ammonium à 0°C																% saturation initiale en sulfate d'ammonium (à 0°C)	
20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95		100
grammes de sulfate d'ammonium à ajouter à un litre de solution:																	
106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697	0
79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662	5
53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627	10
26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592	15
0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557	20
	0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522	25
		0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488	30
			0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453	35
				0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	40
					0	29	59	90	123	156	190	226	263	302	342	383	45
						0	30	60	92	125	159	194	230	268	308	348	50
							0	30	61	93	127	161	197	235	273	313	55
								0	31	62	95	129	164	201	239	279	60
									0	31	63	97	132	168	205	244	65
										0	32	65	99	134	171	209	70
											0	32	66	101	137	174	75
												0	33	67	103	139	80
													0	34	68	105	85
														0	34	70	90
															0	35	95
																0	100

Annexe 05

- Dosage des protéines 'méthode du Bradford, 1976'

A- Préparation du réactif de Bradford

- 1- Dissolvez 100 mg de Coomassie Blue R-250 dans 50 mL d'éthanol à 96° ou d'éthanol absolu, puis ajoutez 100 mL d'acide orthophosphorique ou phosphorique à 85 %.
- 2- Mets sous agitation après complète avec de l'eau distillée jusqu'à ou le volume final à atteindre 1 L.
- 3- Après agitation, filtrer le mélange 3 fois à travers du papier filtre Whatman n° 3 ou n° 1 pour éliminer l'excès et la fraction de bleu de Coomassie non dissoute.
- 4- Conserver les réactifs au réfrigérateur à 4°C à l'abri de la lumière.

B- Préparation de la gamme d'étalonnage de BSA

Utiliser une solution mère de BSA (sigma) préparée à une concentration de 1 mg/mL dans du tampon PBS 10 mM pH 7,4.

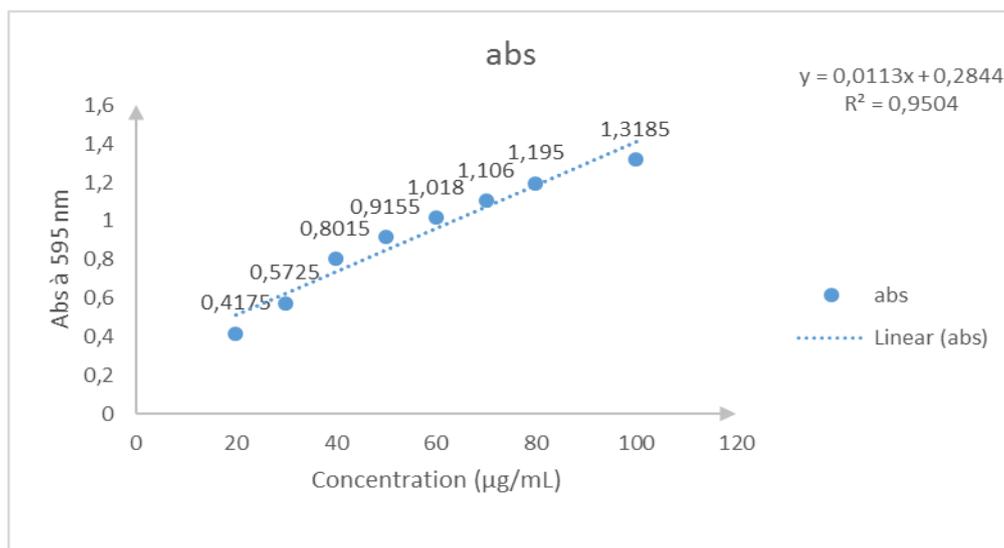
Dilutions : 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 et 1000 µg/mL en double pour chaque dilution.

Dilution (µg/mL)	200	300	400	500	600	700	800	1000
BSA (1 mg/mL) (µL)	20	30	40	50	60	70	80	100
E. Distillée (µL)	80	70	60	50	40	30	20	0
Réactif de Bradford (mL)	2 ml							

- Un volume de 2 ml de réactif de Bradford doit être utilisé pour traiter 100 µl d'échantillons comme indiqué dans le protocole. Après 5-10 min d'incubation à l'obscurité, lire les tubes contenant le mélange réactionnel à λ 595 nm avec un spectrophotomètre UV-Vis JENWAY 7035.

Les densités optiques mesurées à 595 nm correspondent à la gamme

Concentration de BSA (1 mg/mL) (µL)	20	30	40	50	60	70	80	100
DO 1	0,413	0,555	0,807	0,898	1,015	1,096	1,202	1,319
DO 2	0,422	0,590	0,796	0,933	1,021	1,116	1,188	1,318
Moyenne	0,4175	0,5725	0,8015	0,9155	1,018	1,106	1,195	1,3185



La gamme d'étalonnage de BSA

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : BOUABDALLAH Teqwa BENSSACI Zeyneb
Thème: Extraction et caractérisation des lectines à partir des racines des plantes <i>Mentha x piperita</i>, <i>punica granatum</i> et <i>morus alba</i>.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie	
<p>Résumé</p> <p>Les lectines sont des protéines ou des glycoprotéines ubiquitaires, ayant une nature non immunogène capable de reconnaître les motifs des hydrates de carbone des glucides complexes et de s'y lier spécifiquement et de manière réversible sans altérer la structure conformationnelle des liaisons glucosylées reconnues, ce qui entraîne, dans certains cas, l'agglutination des globules rouges. Les lectines appartiennent à une catégorie importante d'organismes vivants et présentent une large gamme d'activités biologiques essentielles pour le fonctionnement cellulaire et l'ensemble de l'organisme. En raison de l'extrême spécificité de leur liaison réversible aux hydrates de carbone, elles constituent des outils précieux largement utilisés en biologie et en médecine.</p> <p>Notre étude s'est concentrée sur la recherche et l'extraction des lectines à partir des racines de quatorze plantes différentes, réalisées par broyage et trempage dans une solution de PBS. Un test d'agglutination sanguine a été réalisé pour détecter la présence de lectines dans les racines des plantes. Une agglutination a été observée avec les racines de la menthe poivrée, les racines de l'arbuste à baies et les racines du grenadier, tandis que les autres plantes n'ont pas montré d'agglutination, ce qui indique l'absence de lectines dans ces plantes. Une hémagglutination de titre élevé a été observé chez l'extrait protéique de menthe poivrée (<i>Mentha x piperita</i>).</p> <p>Les lectines présentes dans les racines du mûrier et les racines du grenadier n'ont pas été inhibées par les sucres. L'étude a été poursuivie uniquement avec les racines de la menthe poivrée, car elles étaient les seules à avoir leurs lectines inhibées par les sucres suivants : maltose, fructose, mannitol, sorbitol et méthyl-β- L – fucopyranoside.</p> <p>Les différents extraits testés ont une hémagglutination vis-à-vis les globules rouges humaines, seuls l'extraits de menthe a une sélectivité pour le groupe sanguin A.</p> <p>L'étude des caractéristiques biochimiques des lectines présentées dans la menthe poivrée a révélé que ces macromolécules ont une thermostabilité, et un pH optimal égale 6 pour une activité agglutinante de titre 512 UHA.</p> <p>Ces lectines de menthe poivrée ont été partiellement purifiées en utilisant une chromatographie sur gel. Où nous avons obtenu différents pics ayant une activité agglutinante.</p>	
Mots clés : Lectines, Extraction, Agglutination, Sucres, Glucides, Spécificité, Sélectivité, Inhibition, Groupes sanguins.	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Génie Microbiologique et Application (Université Frères Mentouri, onstantine 1).	
Président : BAHLA.	MCA. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1.
Encadreur : NECIB Y.	Pr. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1.
Examineur : TOUMI.M.ES	MAB. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1.