



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Appliquée*

Intitulé :

**Etude comparative des lectines extraites à partir de deux plantes
médicinales (*Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens*)**

Présenté et soutenu par : CHEROUAT Narimene

Le : 02-07-2019

OUSKOURT Mahdia

Jury d'évaluation :

Président du jury : LOUAAR I

(Pr-UFM Constantine)

Rapporteur : BAHI A

(Pr-UFM Constantine)

Examineur : DJEMAI ZOUGHLACHE S

(MAA-UFM Constantine)

*Année universitaire
2018 – 2019*



Remerciement

Nous remercions notre dieu qui nous a donné le courage et la volonté de poursuivre nos études, ainsi que nos parents qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements et le plus grand respect à notre promotrice Dr Bahi A pour sa compréhension, sa disponibilité, de savoir-faire, ses conseils judicieux, et toute l'aide qu'elle nous a rapporté.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail et de nous avoir honoré par leur présence.

Nous remercions toute la famille, tous les amis pour leurs encouragements.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la mise en œuvre de ce travail.

Merci

Dédicace

*Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour,
sincérité et fierté :*

*A mes chers parents, source de tendresse, de noblesse et
d'affection. Puisse cette étape constituer pour vous un motif
de satisfaction.*

*A mes chers frères Nadjib, Walid et sa femme Khawla, en
témoignage de la fraternité, avec mes souhaits de bonheur,
de santé et de succès.*

*A mon petit cher neveu Wail Taim Allah, que j'aime
beaucoup.*

Et à tous les membres de ma famille.

A tous mes amies et mes professeurs.

*Et sans oublier surtout mes meilleurs amis Nihad et Moïse
qui m'a vraiment aidé.*

A mon binôme Narimene.

Et à tout qui compulse ce modeste travail.

Mahdia

Dédicace

*C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je dédie ce
modeste travail qui est le fruit de ma profonde
reconnaissance à :*

*Mes très chers parents, que nulle dédicace ne puisse
exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience
illimitée, leur encouragement contenu, leur aide, en
témoignage de mon profond amour et respect pour leur
grand sacrifices.*

*Ils m'ont soutenu à fond pour que je puisse mener à bien mes
études et qui attendent ce jour avec impatience ; que Dieu les
garde et les protège.*

Mes deux chers frères Skandare et Med Anouar.

Mes chères sœurs Bouchra et Romaïssa.

Familles : Cherouat et Farah.

Mon binôme : Mahdia.

*Mes enseignants et mes amis de l'étude et à tous ceux que
j'aime dans le monde.*

Narimene

RÉSUMÉ

Résumé

Les lectines constituent un groupe de protéines ou de glycoprotéines d'origine non-immunitaire, qui se lient de façon réversible aux hydrates de carbone et le plus souvent agglutinent les cellules ou précipitent les polysaccharides et des glycoconjugués. Notre étude est focalisée sur la recherche de la présence des lectines dans les extraits racinaires de deux plantes médicinales : *Ruta graveolens* et *Cyperus rotundus* par le test de l'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par la chromatographie sur colonne.

L'activité hémagglutinante est très forte chez les deux plantes *Ruta graveolens* et *Cyperus rotundus*, le traitement thermique des extraits bruts des racines de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* à différentes températures de 40°C jusqu'à 100°C pendant 1h, n'a pas été suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante. L'activité d'hémagglutination des lectines *Cyperus rotundus* reste stable dans la gamme du pH testée de 2 à 12. Par contre les lectines de *Ruta graveolens* perdent leurs activités à pH de 1 à 3. Les études d'inhibition de l'hémagglutination réalisées avec des protéines purifiées des racines de plantes : *Cyperus rotundus*, et *Ruta graveolens*, ont révélé que la lectine est inhibée par les sucres simples et les glycoprotéines à la fois, mais beaucoup plus par les glycoprotéines.

Pour le test ABO, les lectines extraites de nos plantes ont présentées une sélectivité pour tous les groupes sanguins humains.

La purification sur colonne de Sephadex G75 a montré deux pics pour *Ruta graveolens*, cependant *Cyperus rotundus* a présenté un seul pic.

Mots clés : Lectines, Extraction, Plantes médicinales, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, Sucres, Monosaccharides, Glycoprotéines.

Abstract

Lectins are a group of proteins or glycoproteins of non-immune origin that bind reversibly to carbohydrates and most often agglutinate cells or precipitate polysaccharides and glycoconjugates. Our study focuses on the presence of lectins in the root extracts of two medicinal plants : *Ruta graveolens* and *Cyperus rotundus* by the haemagglutination test and their biological study. The extraction was done by grinding and maceration in a buffer solution followed by column chromatography.

The haemagglutinating activity is very strong in the two plants *Ruta graveolens* and *Cyperus rotundus*, the heat treatment of the crude extracts of the roots of *Cyperus rotundus* and *Ruta graveolens* at different temperatures of 40 ° C up to 100 ° C for 1 hour, did not enough to completely inactivate the haemagglutinating activity. The haemagglutination activity of the lectins *Cyperus rotundus* remains stable in the range of pH tested from 2 to 12. On the other hand, the lectins of *Ruta graveolens* lose their activities at a pH of 1 to 3. The haemagglutination inhibition studies carried out with purified proteins from plant roots: *Cyperus rotundus*, and *Ruta graveolens*, revealed that lectin is inhibited by simple sugars, and by glycoproteins.

For the ABO test, lectins extracted from our plants showed selectivity for all human blood groups.

Sephadex G75 column purification showed two peaks for *Ruta graveolens*, however *Cyperus rotundus* showed a single peak.

Key words: Lectins, Extraction, Medicinal plants, Haemagglutination, ABO system, Inhibition, Sugars, Monosaccharides, Glycoproteins.

ملخص

اللكتينات هي عبارة عن مجموعة من البروتينات أو البروتينات السكرية ذات الأصل غير المناعي التي ترتبط بشكل عكسي بالكربوهيدرات. الغرض من هذه الدراسة هو استخلاص ودراسة مختلف اللكتينات المستخلصة من نبتتين طبيئتين *Cyperus rotundus et Ruta graveolens* وهذا من خلال اختبار التراص والدراسة البيولوجية. وجاء هذا الاستخراج عن طريق الطحن والنقع في محلول ملحي ثم تمريرها في الكروماتوغرافي العمودي. نشاط التراص قوي جدا في كلتا المستخلصين. المعالجة الحرارية لكل من المستخلصين ابتداء من درجة حرارة 40° الى 100° لم يكن كافيا لتثبيطها.

يبقى نشاط التراص للمستخلص *Cyperus rotundus* مستقر عند درجات الحموضة المختبرة من 1 الى 12 لمدة ساعة واحدة. اما بالنسبة لمستخلص *Ruta graveolens* يفقد نشاط التراص عند درجات الحموضة من 1 الى غاية 3. اظهر اختبار التثبيط مع البروتينات المستخلصة من جذور النبتتين *Cyperus rotundus et Ruta graveolens* بأن اللكتينات تثبط عن طريق السكريات البسيطة وغالبا بالسكريات البروتينية. بالنسبة لاختبار ABO, اللكتينات المستخرجة من النبتتين تظهر انتقائية مع جميع فصائل الدم البشرية. وقد بين الاستخلاص باستخدام Sephadex G75 الحصول على ذروتين بالنسبة لـ *Ruta graveolens* اما بالنسبة لـ *Cyperus rotundus* فقد اظهر ذروة واحدة فقط.

الكلمات المفتاحية: ليكتينات، استخلاص، نباتات طبية، تراص، نظام ABO، تثبيط، سكريات، سكريات أحادية، بروتينات سكرية.

SOMMAIRE

Sommaire

Résumé
Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des photos

Introduction

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les lectines

1.	Définition des lectines.....	1
2.	Historique.....	2
3.	La structure des lectines	4
3.1	Les lectines simple.....	4
3.2	Les lectines en mosaïques.....	5
3.3	Les assemblages macromoléculaires	5
4.	Les sites de liaisons des lectines	6
5.	La spécificité et l'affinité des lectines.....	7
6.	La Classification des lectines	8
6.1	Chez les animaux.....	8
6.1.1	Les lectines extracellulaires	8
6.1.2	Les lectines intracellulaires	8
6.2	Chez les végétaux	8
6.2.1	Les mérolectines.....	8
6.2.2	Les hololectines.....	9
6.2.3	Les chimérolectines	9
6.2.4	Les superlectines	9
7.	Distribution des lectines dans le monde de vivant.....	10
7.1	Les lectines animales	10
7.2	Les lectines des plantes.....	11
7.3	Les lectines des microorganismes	12
8.	Fonction biologique des lectines.....	13
8.1	Chez les plantes	13

8.2	Chez l'homme.....	14
9.	Propriétés des lectine	14
9.1	L'interaction lectine–glucide	14
9.2	L'agglutination des cellules.....	14
9.3	L'activité mitogène.....	15
9.4	Effets mimétiques des hormones.....	15
9.5	Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses	15
9.6	La propriété antivirale	15
9.7	La propriété antibactérienne	16
9.8	Autres propriétés.....	16
10.	L'intérêt des lectines	16
10.1	En biochimie et protéomique.....	16
10.2	Dans le domaine biomédical.....	17
10.2.1	Hématologie	17
10.2.2	Immunologie	17
10.2.3	Biologie cellulaire	17
10.2.4	Cancérologie.....	17
10.3	Dans le domaine agronomique	18
11.	Le rôle des lectines dans l'immunité.....	18
Chapitre II : le système sanguin		
1.	Historique.....	19
2.	Le système ABO.....	19
3.	Facteur rhésus	19
4.	Structure des antigènes de groupes sanguins du système AB	20
5.	Détermination du groupe sanguin.....	21
Chapitre III : Généralités sur les plantes		
I.	<i>Ruta graveolens</i>.....	22
1.	Généralité.....	22
2.	Classification scientifique.....	22
3.	Description botanique.....	23
4.	Les Propriétés médicinales de la plante	23
II.	<i>Cyperus rotundus</i>.....	24

1. Généralité.....	24
2. Classification scientifique.....	24
3. Description botanique.....	25
4. Les Propriétés médicinales.....	25

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétale.....	26
II. Les méthodes.....	26
1. La Préparation des plantes	26
2. L'extraction des plantes	26
2.1. Le principe	26
2.2. La Technique d'extraction	26
3. Le test d'hémagglutination.....	28
3.1 La Préparation des hématies à 3%.....	28
3.2 Lavage des hématies.....	28
3.3 La dilution des hématies.....	28
3.4 La technique d'hémagglutination.....	28
4. L'effet de la température sur l'hémagglutination.....	28
5. L'effet du pH sur l'hémagglutination.....	29
6. Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides et des glycoprotéines.....	29
7. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	29
7.1 Principe.....	29
8. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G75.....	29
8.1. La préparation de la colonne de Sephadex G75	29
8.2. La filtration des lectines	29

Résultats et discussion

1. Le test d'hémagglutination.....	31
2. L'effet de la température sur l'hémagglutination.....	32
3. L'effet du pH sur l'hémagglutination.....	32
4. Le test d'inhibition d'hémagglutination par des glycoprotéines et les saccharides.....	33
5. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	34

6. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de Sephadex G75.....	35
Conclusion et perspectives.....	37
Références bibliographique.....	38
Annexes.....	49

***LISTES DES
ABRÉVIATIONS***

LISTE DES ABREVIATIONS

Ca : Calcium

Con A : *Concavaline A* lectine

ConBr : Lectine de *Canavalia brasiliensis*

ConM : *Canavalia maritima*

CRD: Carbohydrate Recognition Domain.

E.coli : *Escherichia coli*.

EDTA : l'acide éthylène diamine tétra acétique.

Fuc: L-fucose.

Gal: D- galactose.

GalNAc: N- acétylgalactosamine.

Glc: Glucose.

GlcNAc: N-acétylglucosamine.

GNA: *Galanthus nivalis* agglutinin.

HGal-7: galectin-7.

KDa : Kilo Dalton.

LecRKs : Les lectines récepteurs des kinases

LTLs : Les lectines humain de type L.

Man: Mannose.

MASPS: MBL-Associated Serine Protease.

MBL: Mannose-binding lectin.

Moringa G: *Moringa guilandina*.

Moringa M : *Moringa moringa*.

NeuAc : Acide N-acétylneuraminique.

NeuAc : Acide N-acétylneuraminique.

Nm : nanomètre.

PBS : Phosphate Buffer Saline.

R : Rhésus.

Rip : Ribosomin activating proteine.

RIPs : Ribosomes inactivant les protéines.

VIH: Human immuno deficiency virus.

VSP : Végétatif stockage protéines.

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : les lectines et leurs applications.....	01
Tableau 02 : Historique de la découverte des lectines.....	02
Tableau 03 : La Spécificité osidique de certaines plantes a lectines.....	07
Tableau 04 : Les lectines spécifiques des groupes sanguins.....	21
Tableau 05 : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut des échantillons testées.....	31
Tableau 06 : Effet de la température sur l'activité d'hémagglutination des lectines extraites des racines des plantes <i>Cyperus rotundus</i> et <i>Ruta graveolens</i>	32
Tableau 07 : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante des extraits <i>Cyperus rotundus</i> et <i>Ruta graveolens</i>	32
Tableau 08 : Inhibition de l'activité hémagglutinante de la lectine extraite des racines de <i>Cyperus rotundus</i> et <i>Ruta graveolens</i> par des glycoprotéines.....	33
Tableau 09 : Inhibition de l'activité hémagglutinante de la lectine extraite des racines de <i>Cyperus rotundus</i> et <i>Ruta graveolens</i> par les sucres.....	33
Tableau 10 : L'agglutination des hématies humaines (A, B, O) par l'extrait brute <i>Cyperus rotundus</i> et <i>Ruta graveolens</i>	34

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de <i>concanavoline A</i> de <i>Canavalia ensiformis</i> en complexe avec le trimannosoïde.....	04
Figure 02 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique.....	05
Figure 03 : Représentation schématique de différents fimbriales de la bactérie <i>d'Escherichia coli</i>	06
Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides	06
Figure 05 : La classification structurale des lectines des plantes.....	10
Figure 06 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T).....	11
Figure 07 : Tétramère de la protéine ConM de <i>Canavalia maritima</i> complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6).....	12
Figure 08 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	20
Figure 09 : <i>Ruta graveolens</i> L.....	22
Figure 10 : <i>Cyperus rotundus</i>	24
Figure 11 : Le schéma d'extraction des lectines à partir des poudres racinaires..... des plantes.....	27
Figure 12 : hémagglutinine de lectine extraite des racines de <i>Cyperus Rotundus</i> (A), et <i>Ruta Graveolens</i> (B) avec suspension de lapin érythrocytes GX40.....	31
Figure 13 : L'extraction des lectines à partir des racines de <i>Cyperus rotundus</i> (A) et <i>Ruta graveolens</i> (B) par séphadex G 75.....	35

INTRODUCTION

Introduction

Les lectines constituent un groupe de protéines ou de glycoprotéines d'origine non-immunitaire, qui se lient de façon réversible aux hydrates de carbone et le plus souvent agglutinent les cellules ou précipitent les polysaccharides et des glycoconjugués. (**Goldstein *et al.*, 1980**). Les lectines ont été redéfinies par Peumans et Van Damme (1995) en tant que protéines possédant au moins un domaine non catalytique, qui se lie de façon réversible à un mono ou oligosaccharide spécifique. Toutefois, selon Cummings (1997), des protéines à activité enzymatique liés à des hydrates de carbone ne peuvent pas être considérés comme des lectines. En conséquence de leurs propriétés chimiques, ils sont devenus un outil dans plusieurs domaines de la recherche biologique (immunologie, biologie cellulaire, structure de la membrane, recherche sur le cancer et le génie génétique). Les lectines sont présentées dans un large éventail d'organismes de la bactérie aux animaux, étant présentes dans toutes les classes et les familles, mais pas dans tous les genres et les espèces (**Lis et Sharon, 1994**).

Beaucoup de plantes à fleurs de groupes taxonomiques divers s'accumulent de grandes quantités de ce qu'on appelle VSP (végétatif stockage protéines) dans divers organes de stockage végétatif. Ces VSP jouent un rôle primordial dans l'accumulation d'azote, le stockage et la distribution dans les plantes bisannuelles et vivaces, et en conséquence, on pense à contribuer à la survie de la plante dans son environnement naturel (**Staswick, 1994**). En outre, certains VSP avec une activité enzymatique particulière ou autre activité biologique agissent comme des protéines de défense contre les animaux herbivores spécifiques ou des invertébrés phytophages par exemple, et peut donc jouer un double rôle de stockage / défense (**Peumans et Van Damme, 1995 ; Yeh et al., 1997**).

Plusieurs arbres de légumineuses non seulement ont démontré l'apparition de VSP spécifique à écorce abondante, mais aussi conduit à l'identification de certains de ces VSP d'écorce. La présente étude a été réalisée afin d'étudier la présence des lectines dans les plantes : *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens*.

L'objectif de ce travail se décompose en plusieurs étapes :

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

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

CHAPITRE I
GÉNÉRALITÉS SUR LES
LECTINES

1. Définition des lectines

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capables de reconnaître des glucides complexes de manière spécifique et réversible. Ces protéines ne montrent aucune activité enzymatique vis-à-vis de leur ligand (**Lis et Sharon, 1998**). Cette classe des protéines est dénommée par Boyd en 1954, sous le nom « lectine » dérivée du mot latin « lectus » qui est le participe passé du verbe « légère », qui veut dire « sélectionner » ou « choisir » (**Liener et al., 1986**). Les lectines sont relativement petites, leurs masses moléculaires étant comprises entre 50 et 120 KD. Elles sont habituellement formées de deux (dimères) ou quatre (tétramères) sous-unités identiques (**Ghopkins et Evrard, 2003**).

Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Cette caractéristique très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes, car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissances par molécule, ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination de cellules diverses (**Liener et al., 1986**). Les lectines provoquent l'hypertrophie de l'intestin grêle et du pancréas et l'atrophie de la rate et de thymus. Ces effets néfastes des lectines sont inactivés (principalement) par leur traitement thermique dont l'efficacité est en fonction de la température et de la durée de traitement (**Meite et al., 2006**). Bien qu'il existe des lectines thermorésistants (**Guillaume, 1993**). Quelques lectines importantes sont énumérées dans le (Tableau 01).

Tableau 01 : les lectines et leurs applications (**Bothan et Weil, 2011**).

Lectines	Exemples et commentaires
Lectine de légumes.	<i>Concanavaline A</i> , lectine de pois.
Agglutinine de germe de blé.	Fréquemment utilisée dans l'étude des surfaces ou membranaires de cellules normales ou cancéreuses.
Ricine.	Glycoprotéines cytotoxiques provenant des graines de ricine.
Toxines bactériennes.	Entérotoxine thermolabile d' <i>E.coli</i> et toxine du choléra.

Hémagglutinine de virus de la grippe.	Responsable de l'attachement à la cellule hôte et de la fusion membranaire.
Lectine de type S.	Lectine animales se lient le B-galactose, elles ont des rôles dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire.

2. Historique

En 1888, P.H Stillmark a découvert la première lectine qui décrit dans sa thèse de doctorat présentée à l'université de Dorpat (maintenant Tartu, Estonie) que des extraits de graines de ricin (*Ricinus communis*) agglutinaient des érythrocytes. (Sharon et Lis, 2004). A partir de ce moment, d'autres substances d'origine végétale possédant une activité hémagglutinante ont été découvertes. Ensuite P. Ehrlich a découvert la même activité dans l'extrait du pois rouge (*Abrus precatorius*).

En 1919, James B. Sumner, de l'université Cornell (Ithaca, New York), isola à partir du pois (*Canavalia ensiformis*) la première hémagglutinine pure, la concanavaline A (Sumner, 1919). Il fallut patienter presque vingt ans et les travaux de Sumner et Howell en 1936 pour que la spécificité de ces protéines pour les sucres soit mise en évidence avec l'inhibition de l'hémagglutination de la concanavaline A par des saccharoses (Sumner et Howell, 1936).

En 1954, Boyd et Sharpleigh ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des érythrocytes humains d'un groupe sanguin donné (Boyd et Sharpleigh, 1954). L'étape importante dans l'histoire des hémagglutinines est la découverte que certaines d'entre elles agglutinent les globules rouges appartenant uniquement à un groupe sanguin donnée (système ABO) sans affecter les cellules sanguines des autres groupes.

Tableau 02 : Historique de la découverte des lectines (Renato et al., 1991).

Année	Auteur	Découvertes
1884	Warden et Waddel /Bruyllant et Venneman	-Toxicité de la graine d' <i>Abrus precatorius</i> .
1886	Dixson	-Toxicité de la graine de <i>Ricinus communis</i> .

1888	Stillmark	-Activité hémagglutinante de la graine de <i>Ricinus communis</i> . -La toxicité de la graine de <i>Croton tiglium</i> .
1890	Ehrlich	Utilisation de l'abrine et de la ricine dans les recherches immunologiques.
1891	Hellin	Activité hémagglutinante de la graine d' <i>Abrus Precatorius</i> .
1897	Elfstrand	Introduction du terme d'hémagglutinine.
1902	Landsteiner	La réversibilité de l'hémagglutination par la chaleur.
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la <i>Concanavaline A</i> (Con A).
1926-7	Marcusson-Begun / Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins.
1947-9	Boyd et Reguera / Renkonen	Spécificité de groupe sanguin des plantes hémagglutinines.
1949	Jaffé et Liener	Inactivation Thermique des hémagglutinines de <i>Phaseolus vulgaris</i> .
1952	Watkins et Morgan	-L'inhibition de lectines par les sucres simples. -Démonstration à l'aide de lectines que les sucres sont des déterminants de groupe sanguin.
1954	Boyd et Sharpleigh	Introduction du terme de lectine.
1960	Nowell	La stimulation mitogénique des lymphocytes par la lectine de <i>Phaseolus vulgaris</i> .
1965	Agrawal et Golstein	Chromatographie d'affinité pour la purification des lectines.
1966	Boyd	Lectines dans les algues.

1981	Reinsner et al	L'utilisation de lectines dans les greffes de moelle osseuse.
1990	Yamauchi et Minamikawa	Expression de <i>Con A</i> dans les cellules d' <i>Escherichia coli</i> .

3. La structure des lectines

Les lectines sont classées en trois grandes classes :

3.1 Les lectines simple

Ces lectines sont formées de plusieurs monomères (pas forcément identiques), dont la masse moléculaire généralement ne dépasse pas 40KDa. Cette classe comprend pratiquement toutes les lectines végétales, les lectines bactériennes solubles et les galectines (une famille de lectines animales spécifique pour le galactose) (**Lenka, 2006**) (figure 01).

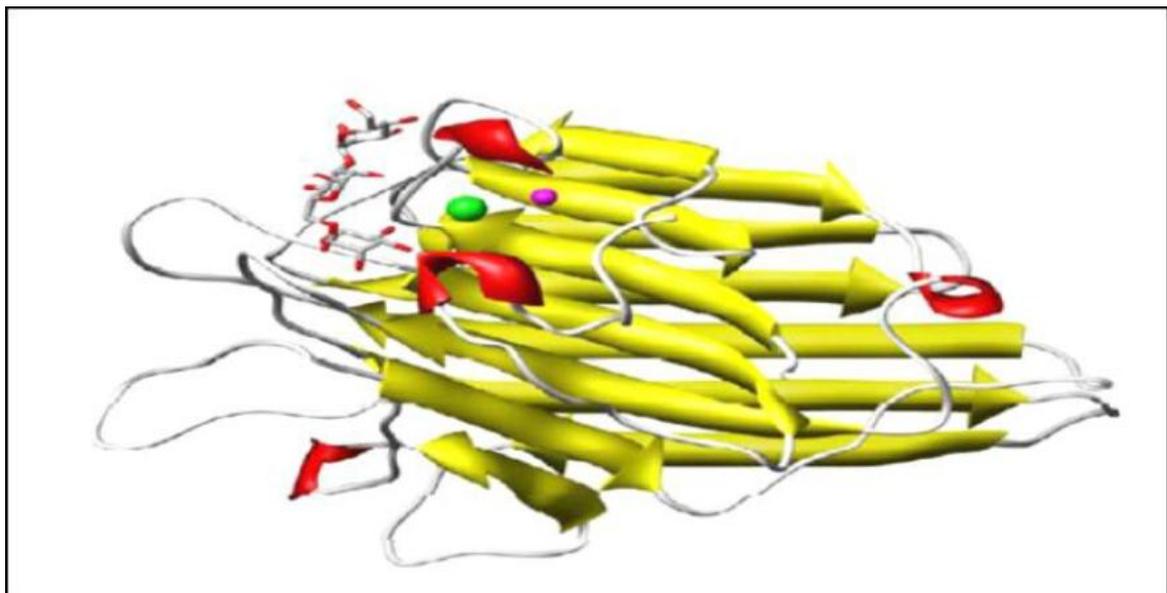


Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de *concanaviline A* de *Canavalia ensiformis* en complexe avec le trimannosoïde (**Lenka, 2006**).

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

3.2 Les lectines en mosaïques

Cette classe regroupe diverses lectines de différentes sources (animale, virus) il s'agit de molécules complexe composée de plusieurs types de domaines ou modules, dont un seul possède le site de liaison (**Lenka et al., 2006**).

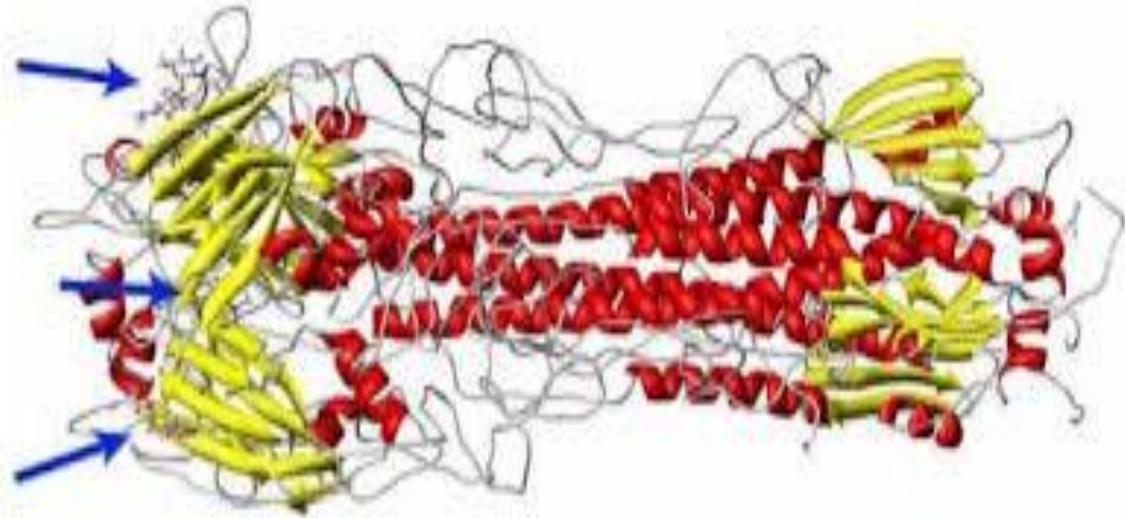


Figure 02 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (**Lenka et al., 2006**).

3.3 Les assemblages macromoléculaires

Les lectines de ce type sont fréquemment trouvées chez les bactéries, où elles forment des structures filamenteuses de 3 à 7 nm de diamètre et jusqu'à 100 nm de longueur, appelées fimbriale ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbriale est formée par la polymérisation d'une unité prédominante, qui ne joue qu'un rôle structural. Seul un type d'unités, généralement une composante minoritaire, possède le site de liaison pour les glucides et donc est responsable de la capacité d'adhésion du fimbriale (**Lenka, 2006**) (Figure 03).

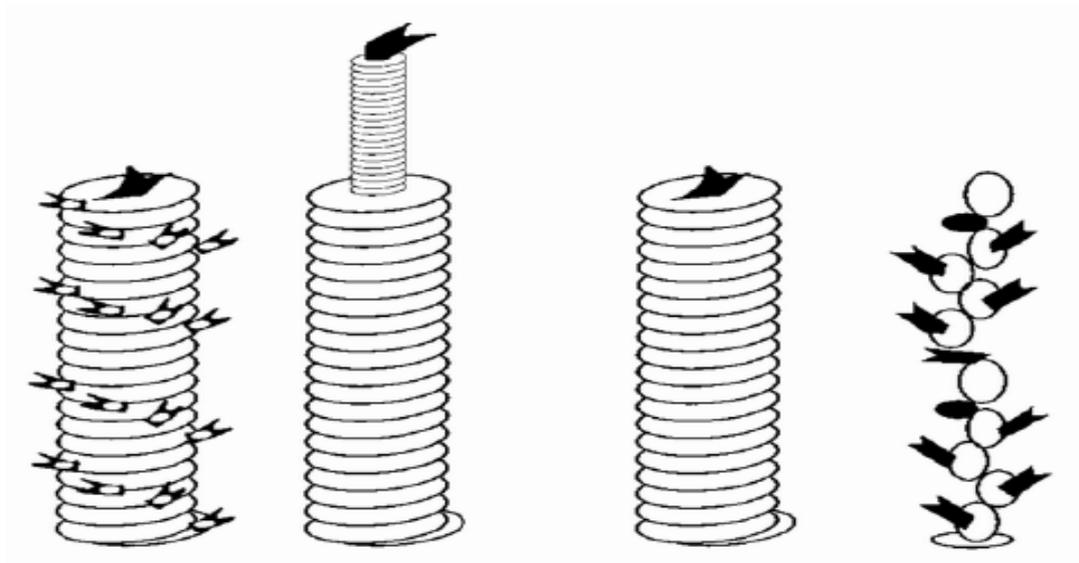


Figure 03 : Représentation schématique de différents fimbriale de la bactérie *d'Escherichia coli*.

4. Les sites de liaisons des lectines

Le site de liaison d'une lectine est généralement constitué par un creux sur la surface de la protéine, dont la forme ne varie pas beaucoup après la liaison du ligand. La lectine interagit avec le ligand par un réseau de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes (**Goldstein et Poretz, 1986**). Les interactions de type salin ne sont généralement pas impliquées dans les interactions lectine-sucre sauf pour des glucides chargés comme l'acide sialique (**Pontet, 1996**). Les lectines ne modifient pas biochimiquement les hydrates de carbone aux quels se lient (**Gabius, 1985**).

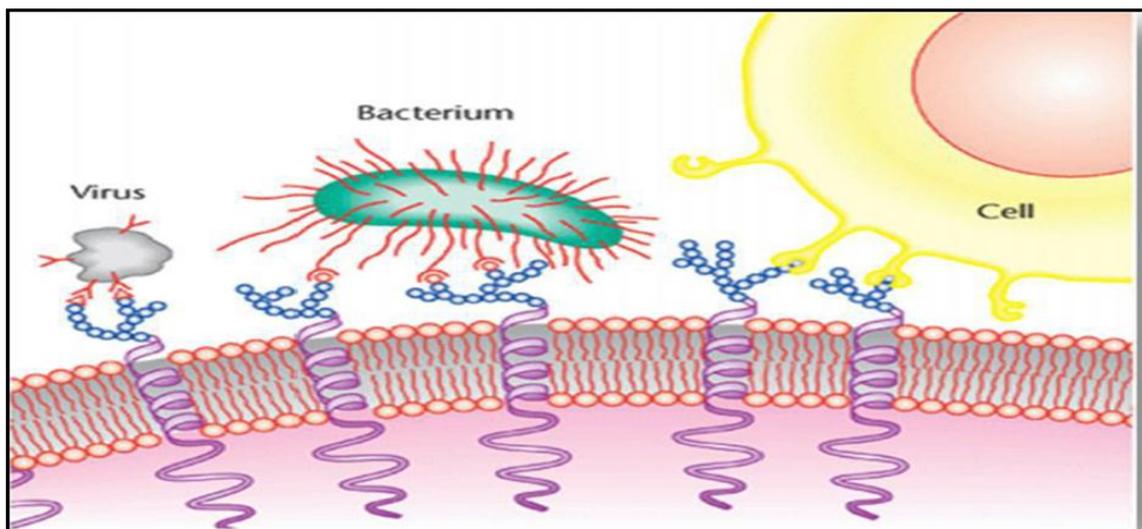


Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (**Sharon et Lis, 1993**).

5. La spécificité et l'affinité des lectines

La spécificité d'une lectine est généralement définie par les sucres qui inhibent le mieux ses propriétés d'agglutination ou de précipitation (**Robert, 2008**). La plupart des lectines sont spécifiques pour un petit nombre de sucres et que, dans la majorité des cas, ces sucres sont présents dans et sur la surface des cellules, surtout sous la forme de glycoconjugués. On peut identifier deux classes de lectines par rapport à leur spécificité : celles qui reconnaissent un monosaccharide spécifique et celles qui reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (**Sharon, 2003**). Les protéines spécifiques pour des monosaccharides sont classifiées en cinq groupes, selon le sucre pour lequel la lectine présente la plus forte affinité : le Mannose (Man), le Galactose (Gal), N-acétylgalactosamine (GalNAc), le N-acétylgalactosamine (GlcNAc), le Fucose (Fuc), l'Acide sialique (acide N-acétylneuraminique, (NeuAc) (**Lis et Sharon, 1998**). Cette reconnaissance est souvent désignée comme « la spécificité primaire » des lectines. Ces monosaccharides et leurs dérivés sont ceux qui sont le plus souvent présents sur les épitopes glycaniques des surfaces cellulaires. La plupart des lectines peuvent se lier à des monosaccharides, mais leur affinité sera en général plus forte pour certains oligosaccharides. (**Dam et Brewer, 2002**).

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

Espèces	Spécificité
<i>Abrus precatorius</i>	Gal
<i>Adenia digitata</i>	Gal
<i>Aleuria aurantiaca</i>	L-Fuc
<i>Canavalia brasiliensis</i>	Man >Glc
<i>Canavalia ensiformis</i>	Man >Glc
<i>Dolicho sbiflorus</i>	GalNAc
<i>Phaseolus vulgaris</i>	GalNAc

<i>Vicia sativa</i>	Man
<i>Ulex europaeus I</i>	L Fuc
<i>Momordica charantia</i>	GalNAc
<i>Cytissus sessilifolia</i>	GlcNAc>Fuc>Gal
<i>Datura stramonium</i>	GlcNAc

6. La Classification des lectines

6.1 Chez les animaux

6.1.1 Les lectines extracellulaires

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

6.1.2 Les lectines intracellulaires

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

6.2 Chez les végétaux

6.2.1 Les mérolectines

Les mérolectines sont de petits peptides, formés d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides, dit monovalentes (exemple : hévéine,

protéines d'orchidées), et ils sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules, donc non agglutinantes (**Peumans et Van Damme, 1995**).

6.2.2 Les hololectines

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

6.2.3 Les chimérolectines

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

6.2.4 Les superlectines

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

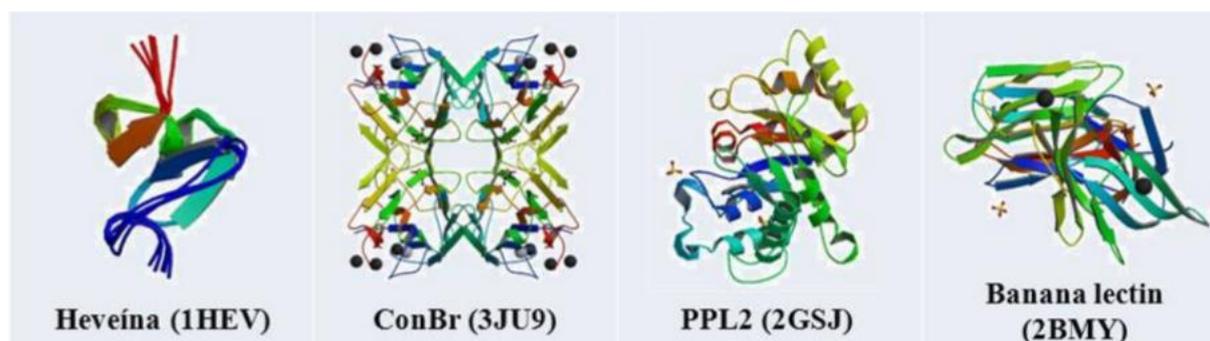


Figure 05 : La classification structurale des lectines des plantes (Van Damme *et al.*, 1998).

7. Distribution des lectines dans le monde de vivant

Initialement décrites dans le règne végétal où elles sont particulièrement abondantes, notamment chez les légumineuses et les graminées, les molécules sont en fait des molécules universelles. Elles sont en effet largement répandues dans le monde vivant puisque l'on en rencontre même chez les virus et les bactéries. A titre d'exemple, le virus grippal présente des spicules d'hémagglutinine qui permettent son ancrage à la surface des cellules épithéliales de l'oropharynx. Des lectines sont également décrites chez les protozoaires tels que *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*, on en rencontre même chez les animaux supérieurs, notamment chez l'homme où elles sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques (Bouchara *et Trouchin*, 2003).

7.1 Les lectines animales

Les lectines animales sont réparties dans des familles très différentes. Les trois familles les plus étudiées sont les galectines, les lectines de type C et les sigles.

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

selectine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (Somers *et al.*, 2000) (Figure 06).

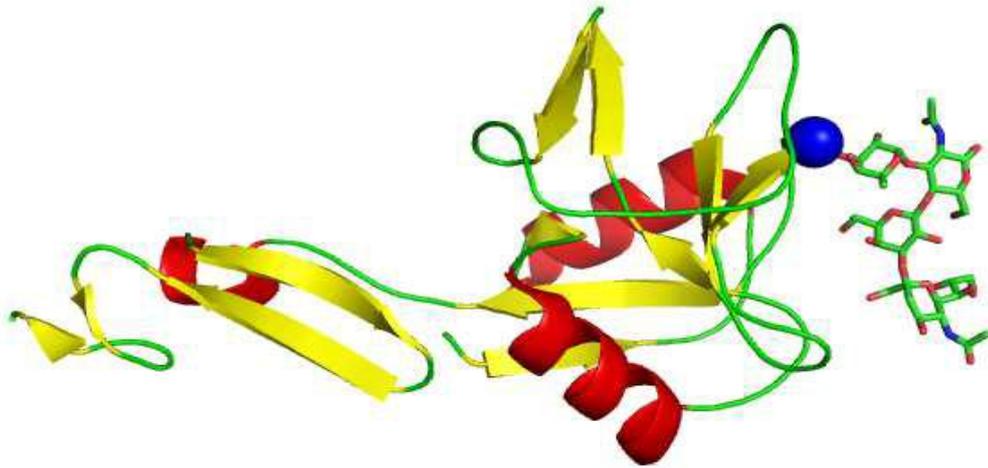


Figure 06 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (Somers *et al.*, 2000). Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

- Les Sigles, ou lectines de type I, constituent une famille de lectines qui reconnaissent l'acide sialique (Crocker, 2002).
- Les autres classes de lectines animales comprennent les lectines du type P qui sont formées par les lectines qui fixent le mannose-6-phosphate, comme la lectine bovine CDMPR (Roberts *et al.*, 1998). Les pentraxines qui sont une famille des lectines capables de se lier à des ligands de manière Ca^{2+} dépendante (Emsley *et al.*, 1994). La plupart des lectines des vertébrés ont une localisation extracellulaire et sont capables de détecter les modifications de glycosylation sur les cellules environnantes. Elles jouent donc un rôle dans la vie sociale des cellules et sont impliquées dans des processus tels que la fécondation, la migration et le développement cellulaire (Aragao, 2009).

Par exemple, dans le processus de fécondation, un glycoconjugué de la surface de l'ovule interagit avec une lectine (spermadhésine) du spermatozoïde (Topfer-Petersen *et al.*, 1998).

7.2 Les lectines des plantes

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

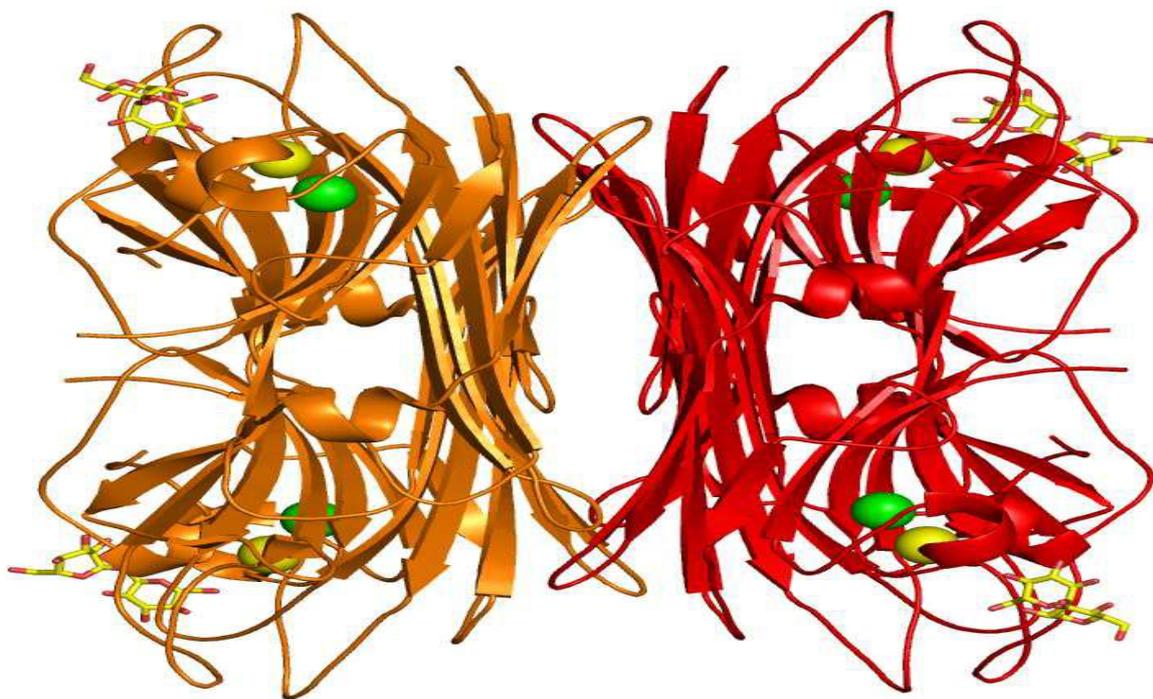


Figure 07 : Tétramère de la protéine ConM de *Canavalia maritima* complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6) (Delatorre *et al.*, 2006). Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets.

La famille des Monocotylédones présente des lectines spécifiques pour le mannose, la première structure 3-D a été la *Galanthus nivalis* agglutinine (GNA) (Wright C.S et Hester ,1996). La famille de Moraceae est formée par les lectines qui fixent le galactose telle que la jacaline isolée des graines de *Artocarpus integrifolia* (Sankara narayanan *et al.*, 1996). La famille Amaranthaceae contient la lectine ACA de *Amaranthus caudatus* qui a été cristallisée avec le Gal 1-3GalNAc (Transue *et al.*, 1997).

Les lectines de plantes semblent être impliquées dans la défense contre les phytopathogènes et les prédateurs, certaines ayant des activités insecticides (Chrispeels *et Raikhel*, 1991 ; Rudiger *et Gabius*, 2001).

7.3 Les lectines des microorganismes

Les infections sont toujours initiées par l'attachement du microorganisme aux tissus de l'hôte. Ce phénomène implique la reconnaissance des cellules de l'hôte le microorganisme, et nécessite la présence à la surface des deux protagonistes de molécules complémentaires de type récepteur-ligand (Bouchara *et Trouchin*, 2003). Les microorganismes pathogènes, virus,

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

L'exemple le plus marquant de lectine de virus est l'hémagglutinine du virus de la grippe (Influenza virus). Cette hémagglutinine interagit avec un récepteur de la surface des cellules hôtes, l'acide 5-N-acétylneuraminique (l'acide sialique). Sa structure 3-D a été résolue en complexe avec son récepteur naturel et avec 12 analogues de ligands (**Weis et al., 1990**). Les bactéries qui s'attachent aux surfaces s'agglutinent dans une matrice polymère hydrate qu'elles produisent, et donc forment un bio film (**Imberty, 2011**). Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriale (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (**Imberty et al., 2005**) *Entamoeba histolytica* est un parasite entérique qui peut tuer les cellules hôtes via un mécanisme dépendant du contact. Cette assassinat implique la protéine de surface amibienne dénommé le Gal / GalNac lectine se lie au galactose et au N acétyl galactosamine permettant l'adhérence des amibes aux cellules hôtes (**Boettner et al., 2002**). Les lectines des champignons ont principalement des propriétés pharmacologiques intéressantes, par exemple la stimulation du système immunitaire contre l'hypertension et contre l'hypercholestérolémie mais aussi antivirales et anticancéreuses (**She et al., 1998 ; Sze et al., 2004**).

8. Fonction biologique des lectines

8.1 Chez les plantes

Fonction dans l'élongation des parois cellulaires ; fonction de cofacteurs enzymatiques agissant avec des enzymes glycoprotéiques ; intervention dans le transport des glucides et dans leur mise en réserve dans les graines ; contrôle de la division cellulaire (mitogénicité) et de la germination ; intervention dans les processus de reconnaissance de cellule à cellule (**Etzler, 1986 ; Kaminski et al., 1987**). D'autres études, suggèrent que les lectines favorisent l'invasion des plantes par des pathogènes en servant de récepteurs pour des phytotoxines, ou de molécules d'adhésion pour le pathogène. L'infection de la canne à sucre par le champignon *Helminthosporium sacchari* est un exemple de ce type de pathogénèse (**Etzler, 1986**).

8.2 Chez l'homme

Les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche et dans le secteur biomédical. Elles sont utilisées lors du test d'hémagglutination en pratique clinique pour distinguer les types du sang (A, B et O), exemple : la lectine de haricot de lima (*Phaseolus lunatus*) se lie à N-acétyl-D galactosamine et agglutine seulement des globules rouges de type A (Gokeret *et al.*, 2008). Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses présentent des propriétés anti-inflammatoires (Alencar *et al.*, 2005 ; Gomes *et al.*, 2012). Elles contrôlent les niveaux des protéines dans le sang (Rydz *et al.*, 2013) car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs (Sutapa *et Gopa*, 2013). Les lectines ont la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses, La récente découverte suggère que les cellules malignes sont plus facilement agglutinées par des lectines que les cellules normales. Ces agglutinations sélectives pourraient être utilisées dans le traitement du cancer (Voet, 2005).

9. Propriétés des lectine

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées :

9.1 L'interaction lectine–glucide

Les lectines sont toutes constituées d'au moins une cavité de reconnaissance glycanique qui possède une plasticité et leur permet d'interagir plus spécifiquement avec certains glycoconjugués que d'autres (Jain *et al.*, 2001), ces glycannes interagissent par des liaisons non-covalentes avec les acides aminés formant la cavité de reconnaissance saccharidique de la lectine (Jeyaprakash *et al.*, 2003). La partie non glycanique des glycoconjugués peut également interagir avec les acides aminés avoisinant la cavité de reconnaissance (Jeyaprakash *et al.*, 2003).

9.2 L'agglutination des cellules

C'est la manifestation la plus visible de l'interaction des lectines avec les cellules. Pour qu'elle se produise, les lectines doivent posséder au moins deux sites de reconnaissance et de liaison avec des saccharides de surface des cellules animales ou autres (bactéries, virus,

mycoplasme, champignon). Les lectines monovalentes à un seul site de reconnaissance ne provoquent pas d'agglutination (Peumans *et al.*, 1995 ; Wang *et al.*, 1998).

9.3 L'activité mitogène

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

9.4 Effets mimétiques des hormones

Les lectines des graines d'haricot rouge (*Phaseolus vulgaris*), qui ont une haute réactivité avec les membranes cellulaires et leurs récepteurs peuvent mimer les effets des hormones. En effet, les lectines pures des graines de haricot rouge sont connues pour avoir une activité insuline-like sur les grosses cellules isolées (Greer *et al.*, 1985).

9.5 Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses

Les travaux de Valentier *et al.* (2003) suggèrent que les lectines alimentaires pourraient inhiber la croissance cellulaire des cellules du cancer du sein de l'homme *in vitro*. Les lectines peuvent être injectées dans la circulation sanguine à des doses non toxiques pour l'organisme afin d'induire spécifiquement la mort de cellules tumorales par apoptose, autophagie ou en activant les défenses immunes anticancéreuses (Poiroux, 2011). Egalement ils inhibent leur migration (Banwell, 1983).

9.6 La propriété antivirale

Les lectines peuvent avoir des actions antivirales comme celles observées par les RIPs (Ribosomes inactivant les protéines) (Wang *et al.*, 1998). Les lectines mannose-spécifiques isolées de bulbes de 15 espèces sauvages du genre *Narcissus* cultivées en Espagne ont une activité inhibitrice anti-VIH1. L'activité anti-VIH-1 la plus efficace est obtenue avec les extraits de l'espèce *Narcissus tortifolius* (Lopez, 2003).

9.7 La propriété antibactérienne

Les lectines sont des outils de régulation de la migration et l'adhésion des cellules bactériennes (**Tanne et Neyrolles, 2010**). Les lectines animales comme les lectines récepteurs des kinases (LecRKs) sont impliquées dans la résistance aux bactéries (**Singh et al., 2012**) aussi bien pour les lectines de type C qui résistent contre la bactérie *Listeria monocytogenes* (**Mukherje et al., 2014**). Concernent les lectines humain de type L (LTLs), elles ont la capacité d'agglutinées les bactéries par une manier calcium dépendent ou par leurs opsonisation en fixent sur les glycoconjugués de ces micro-organismes (**Zhang et al., 2012 ; Huang et al., 2014 ; Xu et al., 2014**)

9.8 Autres propriétés

Les lectines expriment diverses activités biologiques telles que la précipitation des glycoprotéines, l'activation de la voie alterne du complément et l'agrégation des immunoglobulines (**Nachbar et al., 1980**), l'induction de la libération de l'histamine à partir des cellules basophiles et des mastocytes (**Gomes, 1994**), les effets pro et anti inflammatoires (**Assreuy, 1997**), l'induction de l'apoptose (**Kulkarni, 1998**).

10. L'intérêt des lectines

Les lectines peuvent interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'évènements et fonctions dans ces organismes vivants. Ces interactions ont une grande importance car elles se retrouvent impliquées dans des processus biologiques ainsi que dans des processus pathologiques (**Lis et Sharon, 1998**). Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédical et dans le domaine agronomique.

10.1 En biochimie et protéomique

Les lectines fournissent des outils pour étudier les glycoprotéines (anticorps, cytokines, hormones, facteur de croissance, enzymes, récepteurs et même toxines et virus) pour les purifier (par affinité, une fois couplés à un support chromatographique) ; pour les détecter (une fois marqué par un fluorophore ou un une enzyme, immuno-blotting, immuno-précipitation ...). Les

glycoprotéines éventuellement après clivage enzymatique, peuvent ainsi être caractérisées quantitativement. (Structure des complexe et interaction) (**Dole.A et Linderberg. S, 2005**)

10.2 Dans le domaine biomédical

10.2.1 Hématologie

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

10.2.2 Immunologie

De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent être utilisées pour l'identification et la purification des glycoconjugués aussi bien que pour leur caractérisation (**Hirabayashi, 2004**). Les lectines mitogènes sont employées pour déceler les allergies médicamenteuses, pour reconnaître les déficiences immunologiques congénitales ou acquises, pour étudier les sensibilisations dues aux maladies infectieuses et pour juger des effets de diverses manipulations immunosuppressives et immuno thérapeutiques (**Jaffe, 1980**).

10.2.3 Biologie cellulaire

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

10.2.4 Cancérologie

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

10.3 Dans le domaine agronomique

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

11. Le rôle des lectines dans l'immunité

Les lectines sont utilisées en immunologie par Paul Ehrlich au début des années 1890, comme antigène. Les changements morphologiques et biochimiques qui se produisent dans les lymphocytes stimulés par les lectines *in vitro* ressemblent à la plupart des réactions immunitaires provoqués par un antigène qui se déroulent *in vivo* (**Sharon, 1983**). Dans les cellules animales les lectines jouent un rôle dans la défense dans le cadre d'une réponse de l'immunité innée (**De Hoff *et al.*, 2009**). Le système du complément, son activation peut être initiée par des complexes immuns (voie classique), par des oligosaccharides microbiens (voie des lectines) ou par divers composants de surface des pathogènes (voie alterne) (**Cavaillon, 2005**). La voie lectine est initiée par la fixation de diverses lectines, telles la MBL, sur des résidus glucidiques de membranes microbiennes, cette interaction permet de l'activation des protéases MASPS (MBL-Associated Serine Protéase) (**Aymeric *et Lefranc*, 2009**). La lectine liant le mannose (mannose binding lectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la voie lectine du complément qui joue un rôle dans l'immunité innée (**Roos *et al.*, 2007**). Les invertébrés n'ont pas un système immunitaire adaptatif et les lectines jouent un rôle important dans leurs systèmes immunitaires innés en reconnaissant microbes ou agents pathogènes (**Kawsar *et al.*, 2010**). La phagocytose se produit lorsque les microorganismes entrent en contact avec les membranes cellulaires des phagocytes. La première étape consiste en l'adhésion des microorganismes à la membrane des phagocytes grâce à l'existence de lectines de surface. Ces lectines reconnaissent des structures glucidiques présentes sur les glycoprotéines ou des glycolipides des membranes externes notamment bactériennes : récepteur de mannose – fucose, récepteur de galactose et récepteur de β -glucane (**Guénard *et al.*, 2001**).

CHAPITRE II

LE SYSTÈME SANGUIN

1. Historique

En 1900 le médecin Autrichien Karl Landsteiner (1868-1943) démontre que les sangs humains ne sont pas tous semblables ni tous compatibles entre eux. Il découvre le système ABO, suivant lequel le sang se partage en quatre groupes : A, B, AB ou O, selon les antigènes que l'on trouve associés aux globules rouges des personnes (**Boucher, 2008 ; Danic et Lefrère, 2011**). Un autre antigène important des globules rouges est le facteur rhésus Rh identifié en 1940 par Landsteiner et Weiner (**Brooker, 2001**).

2. Le système ABO

Le système de groupe sanguin ABO se définit à la fois par la présence d'antigène sur les hématies et par la présence d'anticorps naturels réguliers dans le plasma. La présence sur les globules rouges d'un antigène exclut la présence dans le plasma de l'anticorps qui lui correspond, exemple : si, dans le sang d'un individu, les hématies sont porteuses de l'antigène A, le plasma ne peut pas posséder d'anticorps anti A. sinon la réaction antigène-anticorps provoquerait une agglutination (**Ramè et Naccache, 2001**).

Les antigènes A et B détectés par des anticorps spécifiques définissent quatre groupes sanguins principaux : A, B, AB, O (**Ramata, 2010**).

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

3. Facteur rhésus

Le facteur R est l'un des plus importants systèmes de groupes sanguins après le système ABO, ses antigènes (C, D et E) sont aussi importants que ceux de système ABO. Les personnes

dans le sang des quelles cet antigène est, sont dites Rh+, tandis que les autres sont Rh- (Boucher, 2008).

4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Les antigènes du système ABO proviennent d'une famille des glycolipides présents à la surface des globules rouges. Leur structure de base est constituée de lipide céramide auquel est attaché un oligosaccharide composé d'un glucose (Glu), d'un galactose (Gal), d'une N-acétyl-galactosamine (Gal Nac), d'un galactose (Gal) et d'une fucose (Fuc). Les sujets du groupe O ne produisent que ce glycolipide. Les sujets du groupe A ont un enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaîne oligosacchridique pour former l'antigène A, alors que les sujets du groupe B ont une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment en plus la structure de base dépourvue des glucides terminaux, ce qui explique pourquoi des allo anticorps ne sont pas produits contre le groupe O (Parham, 2000) (figure 08).

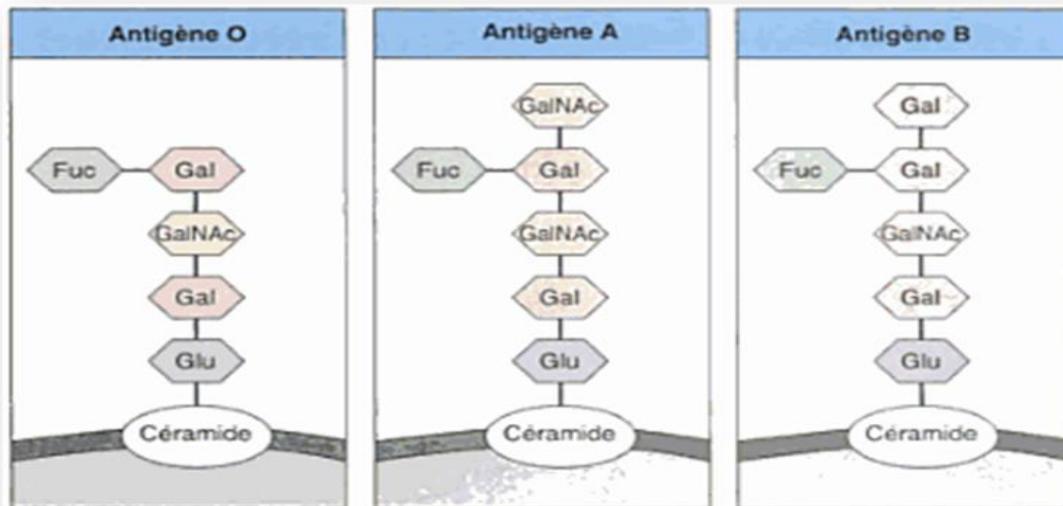


Figure 08 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Parham, 2000).

5. Détermination du groupe sanguin

La détermination des groupes sanguins ABO se fait à l'aide de deux épreuves : L'épreuve globulaire dite de Beth-Vincent (consiste à détecter les antigènes présents sur les globules rouges du patient grâce à des anticorps de spécificité connue = sérum test) et l'épreuve sérique dite de Simonin (consiste à détecter les anticorps naturels présents dans le plasma grâce à des globules rouges de groupe connu (globules tests). La détermination du groupe sanguin ABO d'un patient est systématiquement associée à la recherche de l'antigène D (Béziat *et al.*, 1996). (Tableau 04).

Tableau 04 : Les lectines spécifiques des groupes sanguins

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

CHAPITRE III
GÉNÉRALITÉS SUR
LES PLANTES

I. *Ruta graveolens*

1. Généralité

Ruta graveolens L. est une plante vivace ornementale, d'origine méditerranéenne. Elle est présente dans les lieux secs et rocaillieux. Elle est utilisée depuis longtemps pour des usages thérapeutiques et culinaires ; en tant qu'épice (Pline, 1999). (Mioulane, 2004) mentionne qu'il s'agit d'un sous-arbrisseau très ramifié. Les fleurs et le feuillage aromatiques sont le principal attrait de cette plante. *Ruta graveolens* ; *graveolens* vient du latin « gravis » qui signifie fort et du verbe « olere » qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable (Doerper, 2008).

Noms vernaculaire : le plus connue en Algérie fidjlet el djbel ou Fidjela

Nom commun : rue-officinale, rue-puante, rue fétide, et également rue des jardins (Le moine, 2001). Ainsi, cette espèce est appelée vulgairement Fidjen (Abdulbasset *et al.*, 2008).

2. Classification scientifique

Selon Bonnier (1999) et Wiart (2006), *Ruta graveolens* est classé comme suit :

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Super division : *Spermatophyta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Rosidae*

Ordre : *Sapindales*

Famille : *Rutaceae*

Genre : *Ruta*

Espèce : *Ruta graveolens* L



Figure 09 : *Ruta graveolens* L (Hammiche et Azzouz, 2013).

3. Description botanique

La famille des Rutaceae est constituée d'environ 700 espèces spontanées, présentes dans les régions tempérées et chaudes. Il existe une soixantaine d'espèces dans le genre *Ruta* dont certaines se trouvent sur le pourtour méditerranéen (**Hammiche et Azzouz, 2013**). *Ruta graveolens* L c'est une plante méditerranéenne vivaces, semi arbustive, d'un mètre de haut environ, très ramifiée et ligneuse à la base. La floraison s'étend de mai à août. Ses fleurs regroupées en corymbe, sont composées de 4 à 5 pétales jaunes verdâtres soudés à la base (**Doerper, 2008 ; 31TSarembaud31T, 2017**).

- **Couleur :** verte avec des fleurs jaunes
- **Odeur :** forte et fétide, nauséuse désagréable (due à une huile essentielle contenue dans d'énormes poches sécrétrices).
- **Saveur :** amère

4. Les Propriétés médicinales de la plante

La plante médicinale *Ruta graveolens* a plusieurs utilisations (**El Rhaffari et al., 1999, 2002**) :

- ✚ Traitement des maladies digestives
- ✚ Dermato cosmétologie
- ✚ Système nerveux central et périphérique
- ✚ Pathologie de la musculature et ossements
- ✚ Parasitoses
- ✚ Appareil urinaire ; génital ; respiratoire et circulatoire
- ✚ Ophtalmologie
- ✚ Infection par germes pathogènes
- ✚ Cancers et tumeurs

II. *Cyperus rotundus*

1. Généralité

Cyperus rotundus, une plante de la famille des Cyperaceae, ordre Cyperales, est largement distribué en Méditerranée zones de bassin. Cette plante, qui pousse naturellement dans les régions tropicales, et tempérées, est répandu dans le nord-est, centre et sud de la Tunisie (Cuénod, 1954). Le nom de genre *Cyperus* est dérivé de Cypeiros, ancien nom grec du genre. Rotundus est un mot latin signifiant rond et désigne le tubercule (David WH, VV Vernon, Jason AF., 2012). *Cyperus rotundus* est une plante géophyte qui se multiplie rapidement et principalement par voie végétative grâce à la production de nombreux tubercules répartis en réseau le long des rhizomes (Siriwardana G. et Nishimot R.K, 1987).

Nom commun : Souchet rond, Souchet d'Asie, Souchet officinal, Herbe à oignon ou Souchet à tubercule.

2. Classification scientifique

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Liliopsida*

Sous classe : *Commelinidae*

Ordre : *Cyperales*

Famille : *Cyperaceae*

Genre : *Cyperus*

Espèce : *Cyperus rotundus L*



Figure 10 : *Cyperus rotundus*

3. Description botanique

C'est une plante herbacée vivace et effilée, à la base de la tige épaissie de façon nodulaire et soudainement rétrécie en un rhizome raide, sub-solitaire, triquètre au sommet. Feuilles longues, tige souvent chevauchante. Fleurs portées dans une ombelle composée, épis lâchement spéculés de 3-8 spixelets. Graines sous forme de noix, fleurs et fruits trigones presque toute l'année, mais surtout pendant la saison des pluies (**Chatterjee A, Pakrashi SC., 2009**).

- **Couleur** : Les fleurs sont assemblées en épillets de couleur rouge pourpre à maturité avec une marge plus claire.
- **Odeur** : forte et poivrée.

4. Les Propriétés médicinales

Cyperus Rotundus est une plante médicinale traditionnelle très répons chez les Indiens et les Chinois, elle est utilisée comme :

- ✚ Des médicaments naturels utilisés contre les spasmes.
- ✚ Traiter les troubles et les maladies inflammatoires de l'intestin. (**Gupta et al., 1971 ; Singh PN et Singh SB, 1980 ; Thebtaranonth et al., 1995**).
- ✚ Dans la médecine traditionnelle égyptienne, ses tubercules sont utilisés comme anthelminthiques, aphrodisiaques, diurétiques, sédatifs, carminatifs, stimulants, toniques et stomacaux (**Boulos L, El-Hadidi MN., 1984**).
- ✚ Ils sont utilisés comme remède coliques néphrétiques et la dysenterie (**Boulos L., 1983**).

***MATERIELS ET
METHODES***

I. Matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur deux plantes médicinales :

✚ *Ruta Graveolens*

✚ *Cyperus Rotundus*

II. Les méthodes

1. La Préparation des plantes :

- ✓ **Lavage** : les racines ont été bien rincées avec l'eau et débrassé de toute impureté.
- ✓ **Séchage** : les racines des plantes ont été séchées à température ambiante pendant 7 jours.
- ✓ **Broyage** : les racines ont été coupées, puis ils sont broyés dans un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre.

2. L'extraction des plantes

2.1 Le principe

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

2.2 La Technique d'extraction

9g des poudres obtenues à partir des 2 plantes ont été mises dans des flacons contenant chacune 30ml solution tampon (0.01M pH=7.4) (**annexe 1**) pendant 24h. Après la centrifugation de la suspension à 6000tr/min pendant 30min, le surnageant est récupéré et conservé pour la réalisation des tests souhaités.

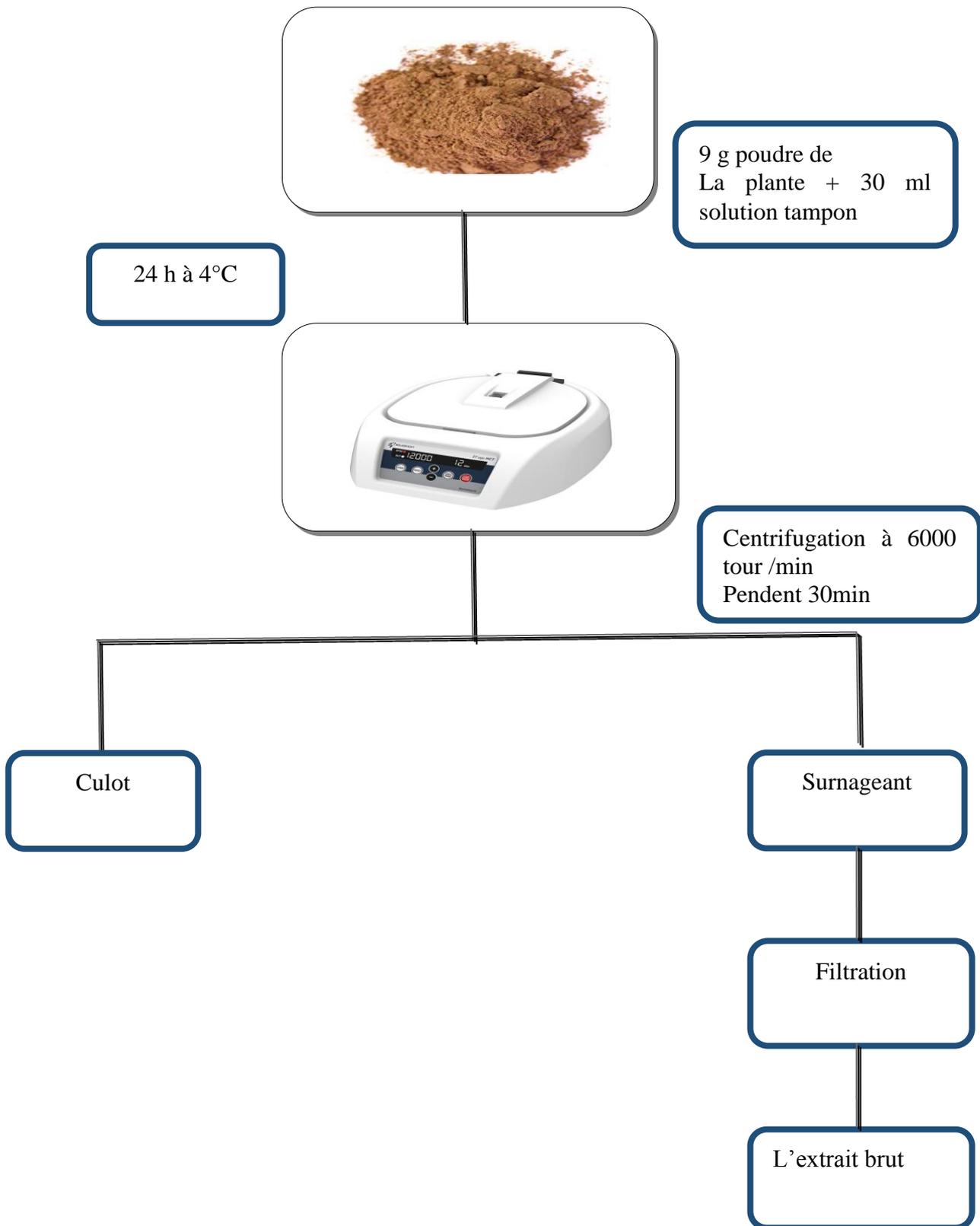


Figure 11 : Le schéma d'extraction des lectines à partir des poudres racinaires des plantes.

3. Le test d'hémagglutination

Ce test a été porté sur les hématies du lapin et permet d'affirmer la présence des lectines dans les extraits. Il se base sur l'observation de l'agglutination, et par conséquent de la précipitation des érythrocytes en présence des lectines.

3.1 La Préparation des hématies à 3%

Le sang humain est collecté à partir de laboratoire d'analyse médicale polyclinique ELHOUCAINI et IBENSINA, le sang du lapin est collecté à partir des lapins provenant au niveau de l'animalerie de l'université de Constantine¹. Les hématies du lapin sont collectées pour la mise en évidence de la présence des lectines dans les extraits, et les hématies de groupe sanguins humains ABO pour tester la spécificité des lectines des extraits au groupe sanguin ABO. Les hématies collectées ont été au préalable soumises à un lavage, puis à une dilution.

3.2 Lavage des hématies

Le tube contenant une quantité de sang (1.5 ml) a été centrifugé à 3000tr /min pendant 30 min, le surnageant résultant est versé et une solution de Na Cl 0.9% est ajoutée au culot ; après avoir bien mélangé le tube est soumis à nouveau à une centrifugation. L'opération est répétée 3 fois jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair.

3.3 La dilution des hématies

Après avoir terminé le lavage le culot contenant les globules rouges est dilué par une solution saline d'eau physiologique sachant que 1.5 ml des hématies dans 48.5 ml de Na Cl 0.9% afin d'obtenir des hématies à 3%.

3.4 La technique d'hémagglutination

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

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

Quatre tubes à essai, contenant chacun une aliquote de l'extrait brut ont été incubés à des températures différentes (40, 60, 80, 100°C) dans un bain marie pendant 1h.

Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à une température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été fait.

5. L'effet du pH sur l'héماغglutination

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

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

Dans chaque puits d'une microplaque 50 µl de l'extrait a été déposé, tout en ajoutant 50 µl de solution de saccharides ou de glycoprotéine (0,1g/1ml de Na Cl 0,9%) (**Annexe 2**) [Fructose, Glucose, Mannitol, Galactose, Lactose, Mannose, Rhamnose, Glucosamine HCL, Mucine, Fétuine, Ovalbumine, BSA, caséine.]. Le mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante, cela permet de reconnaître le sucre, 50 µl des hématies du lapin à 3% ont été rajoutées. Après une heure la lecture a été faite à l'œil nu.

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

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

7.1 Principe

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

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

8.1 La préparation de la colonne de Sephadex G75

4 g de Sephadex G75 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.

8.2 La filtration des lectines

Un échantillon de surnageant d'extrait brut a été récupéré puis versé au niveau de la colonne Sephadex G75 et équilibrée avec un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,2), avec lequel elle a été recueillie par élution dans des tubes secs (5ml/tube). L'extrait récupéré a été testé sur les hématies du lapin pour assurer la présence de l'activité héماغglutinante de notre extrait.

Les extraits issus de la chromatographie sur colonne sont placés dans le spectrophotomètre à UV afin de mesurer l'absorbance à longueur d'onde 280 nm, qui a été utilisée pour estimer la teneur en protéines dans les éluât de la colonne et tracer la courbe d'absorbance en fonction des tubes.

***RÉSULTATS ET
DISCUSSION***

1. Le test d'hémagglutination

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

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

Plantes	Tests d'agglutination
<i>Cyperus rotundus</i>	++
<i>Ruta graveolens</i>	++

++ : Forte agglutination.

Une très forte agglutination est observée dans les deux cas de l'extrait brut de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* vis-à-vis les hématies du lapin. Cette agglutination est observée à l'œil nu ce qui prouve que nos plantes contiennent des lectines. En général l'interaction entre les lectines et les hématies est manifesté lors du dépôt des lectines au niveau du puits contenant les globules rouges, ces derniers vont sédimenter au niveau du puits dès lors dépôt et former un amas homogène sous forme d'une phase gélatineuse ; c'est le phénomène d'hémagglutination. Ces Résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des racines des plantes de *Moringa G Et Moringa M* et qui ont montré également de très fortes agglutinations lors de l'addition de la suspension d'érythrocytes de lapin (Necib *et al*, 2014).

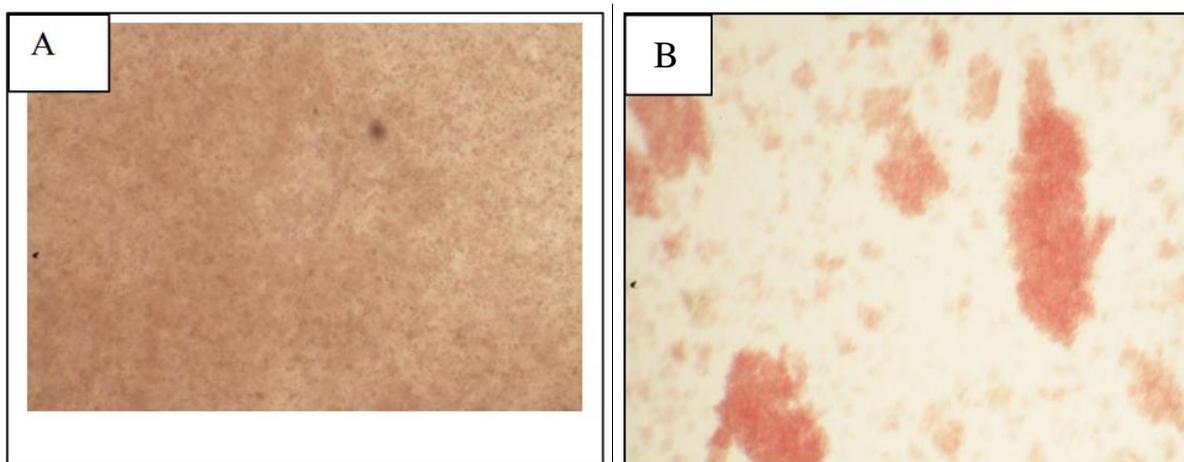


Figure 12 : hémagglutinine de lectine extraite des racines de *Cyperus Rotundus* (A), et *Ruta Graveolens* (B) avec suspension de lapin érythrocytes GX40.

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

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

Tableau 06 : Effet de la température sur l'activité d'hémagglutination des lectines extraites des racines des plantes *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens*.

Température Extrait	40°C	60°C	80°C	100°C
<i>Cyperus rotundus</i>	+++	+++	+++	+++
<i>Ruta graveolens</i>	+++	+++	+++	+++

+++ : Très forte activité hémagglutinante.

Le traitement thermique des extraits bruts des racines de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* à différentes températures de 40, 60, 80, 100°C pendant 1h, n'est pas suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante. Ce résultat indique que nos hémagglutinines sont très résistantes à la température (thermorésistante), comme est le cas des lectines extraites à partir de l'algue rouge *Pterocladia capillacea* et la racine de la plante *Pistacia lentiscus* pousse jusqu'à 100°C (Necib et al, 2015).

3. L'effet du pH sur l'hémagglutination

Tableau 07 : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante des extraits *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens*.

PH Extrait	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Cyperus rotundus</i>	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Ruta graveolens</i>	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

+++ : Très forte agglutination.

- : Absence d'agglutination.

L'activité d'héماغglutination des lectines *Cyperus rotundus* est perdue à pH de 1 mais reste stable dans la gamme du pH testée de 2 à 12. Par contre les lectines de *Ruta graveolens* perdent leurs activités à pH de 1 à 3. Les résultats de *Cyperus rotundus* est en accord avec celle trouvée avec la lectine de *Pterocladia capillacea* (Necib *et al.*, 2015).

4. Le test d'inhibition d'héماغglutination par des glycoprotéines et les saccharides

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

Tableau 08 : Inhibition de l'activité héماغglutinante de la lectine extraite des racines de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* par des glycoprotéines.

Extrait Glycoprotéines	<i>Cyperus rotundus</i>	<i>Ruta graveolens</i>
Fétuine	+	+
Insuline	-	-
Caséine	+	+
BSA	-	+
Ovalbumine	-	+

+ : Inhibition de l'activité héماغglutinante.

- : Pas d'inhibition.

Tableau 09 : Inhibition de l'activité héماغglutinante de la lectine extraite des racines de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* par les sucres.

Extrait Sucres	<i>Cyperus rotundus</i>	<i>Ruta graveolens</i>
Glucose	-	-
Galactose	-	-
Lactose	-	-

Mannose	-	-
D-glucosamine	+	+
Xylose	-	-
Saccharose	-	-
Cellulose	-	-
Arabinose	-	+
inositol	-	-
Rhamnose	-	-
Fructose	-	-
Méthyl mannopyranoside	-	+

+ : Inhibition de l'activité hémagglutinante.

- : pas d'inhibition.

Les études d'inhibition de l'hémagglutination réalisées avec des protéines purifiées des racines de plantes : *Cyperus rotundus*, et *Ruta graveolens*, ont révélé que la lectine est inhibée par les sucres simples et les glycoprotéines à la fois, mais beaucoup plus par les glycoprotéines. Ceci est en accord général avec ceux trouvés pour les nombreuses lectines d'algues marines, telles que *Cystoclonium purpureum*, *Solieria chordalis* (Rogers, D.J et al., 1990).

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

Tableau 10 : L'agglutination des hématies humaines (A, B, O) par l'extrait brute *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens*.

Groupe sanguin	A	B	O
Extrait			
<i>Cyperus rotundus</i>	+++	+++	+++
<i>Ruta graveolens</i>	+++	+++	+++

+++ : Très forte agglutination.

Les extraits de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* Agglutinent avec tous les types de groupe sanguins humains, Ce résultat est en accord avec les études réalisées sur *Geotrupes stercorarius* et sur *Diplotaxis assurgens* et *Raphanus sativus* qui ont la même propriété (Devi et al., 2014 ; Deeksha et al., 2015). Alors nous pouvons classer les lectines de *Cyperus rotundus*

et *Ruta graveolens* dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains, qui sont généralement désignées comme non spécifique.

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

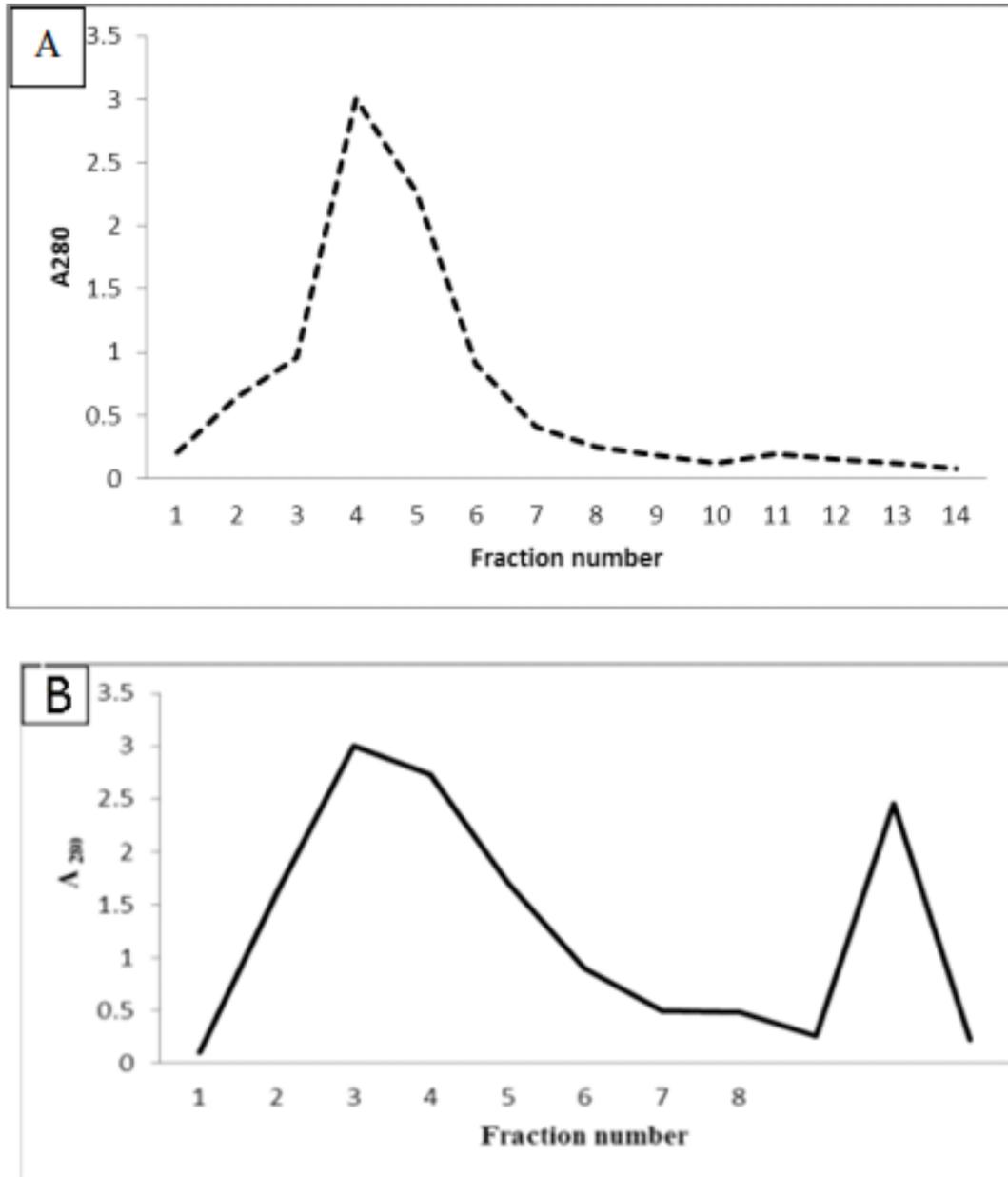


Figure 13 : L'extraction des lectines à partir des racines de *Cyperus rotundus* (A) et *Ruta graveolens* (B) par séphadex G 75.

- Eluant : PBS (pH = 7.4).
- Absorbance : 280 nm.
- Volume de la fraction : 5 ml.

Les résultats de séparation en utilisant le séphadex G 75 ont montrés un bon fractionnement des extraits (pics séparées), dont *Ruta graveolens* à donner deux pics, ce résultat est en accord avec celle des lectines de *Pistacia lentiscus* fractionné sur gel séphadex G75 (*Necib et al., 2015*). Par contre les résultats sont différents avec les lectines de *Cyperus rotundus* et en marquer un seul pic, comme est le cas des lectine de *Pteroclatiella capillacea* séparées par chromatographie sur colonne de séphadex G 75 (*Necib et al., 2015*).

***CONCLUSION ET
PERSPECTIVES***

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

A l'issue de ce travail, une étude d'extraction de nouvelles lectines des espèces *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* a été réalisée. La recherche des lectines à partir de nos plantes a conduit à une activité d'hémagglutination.

- L'extrait de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* 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 utilisées comme des réactifs de groupages d'origines végétales.
- Le test d'inhibition d'hémagglutination révèle qu'il y a une affinité différente chez les monosaccharides et les glycoprotéines, les lectines de *Cyperus rotundus* sont inhibés par le D-glucosamine et celles de *Ruta graveolens* sont inhibés par le D-glucosamine arabinose et Méthyl mannopyranoside, cette affinité de la lectine pour ce sucre peut être utilisée pour sa purification.
- Nos résultats indiquent que les lectines de *Cyperus rotundus* (racine) et *Ruta graveolens* (racine) sont plus résistant à la température (thermorésistants).
- La chromatographie sur séphadex G75 a donné un seul pic pour l'extrait de *Cyperus rotundus* (racine) par contre la chromatographie sur séphadex G75 a donné deux pics pour *Ruta graveolens* (racine).

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.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Alencar. N.M, Cavalcante CF, Vasconcelos .M.P, Leite KB, Aragao .K.S, Assreuy .A.M, Nogueira NA, Cavada BS and Vale MR. (2005). Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J Pharm Pharmacol.* (57), 919-922.

Assreuy J (1997). Role of nitric oxide and superoxide in *G. lamblia* killing. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 30(1) : 93-99.

Aragao K.S. (2009). Études structure-fonction de lectine (Disc I et Disc II) de *Disctyostelium discoideum*. *Biomolécules.* Université Joseph-Fourier-Grenoble I. France. Pp :17-27.

Aymeric Luc, Gérard Lefranc (2009) : Immunologie humaine, éditions De Boeck Université, ISBN 978-2-8041-1910-2, pp.

Abdel basset M.E. et Abdel tawab A.H., (2008) - Médicinal Herba Guide. Ed. Alfa – Publishing : 428 -429.

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

Bothan M. B, Weil K. R. (2011) Biochimie de harper. 4ème édition. DE BOECK : 510.

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

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

Boyd. W. C., Shapleigh. E. (1954) Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). *Science.* 119 : 419.

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

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

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

Boettner.D.R, Huston.C ,Petri.J.R, William.A.(2002). Galactose/ Nacétylgalactosamine lectin : the coordinator of host cell killing. *J. Biosci* 27, 553-557.

Bonnier G., (1999) - La Grande Flore en Couleur. Ed. Belin et Tome, (3) : 205 -206.

Boulos L, El-Hadidi MN (1984). The weed flora of Egypt. Cairo : The American University in Cairo Press, 58.

Boulos L. (1983) Medicinal plants of North Africa. Algonac : Reference Publications ; 1983, 82.

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

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

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

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

Chatterjee A, Pakrashi SC (2009). The Treatise on Indian Medicinal Plants. Vol.VI. New Delhi : National Institute of Science Communication (CSIR) ; 2009. p. 809-1250.

Cuénod, Germaine Pottier-Alapetite, A. Labbe (1954). Office de l'Experimentation et de la Vulgarisation Agricoles de Tunisie, 1954 - 287.

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

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

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

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

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

Danic B, Lefrère J-J. (2011). La transfusion sanguine et le don de sang traité par le cinéma. *Hématologie* 17(16) ,402-409.

Doerper S. (2008) - Modification de la synthèse des furo-Coumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique. Thèse de Nancy, Université INRA : 12 -34.

David WH, Vernon VV, Jason AF. (2012) Purple nutsedge, *Cyperus rotundus* L. Florida (U.S.A) : Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida ; 2012. p. 02-15.

Emsley.J, White H.E, O'Hara B.P, Oliva G, Srinivasan N, Tickle I.J, Blundell T.L, Pepys

M.B and Wood S.P. (1994). Structure of pentameric human serum amyloid P component. *Nature.* 367, 338-345.

Edelman G.M, Cunningham B.A, Reeke G.N, Becker J.W, Waxdal M.J and Wang J.L. (1972). The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 69, 2580-2584.

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

El rhaffari L., zaid A., et El alami F. (1999). Valorisation et protection de la flore utilisée en médecine traditionnelle dans le Tafilalet et les environs, *Minbar Al Jamiâa*, 1 : 183-189.

El rhaffari L., Zaid A. (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée In : *Des sources du savoir aux médicaments du futur.* Montpellier : IRD Éditions, 2002.

Falasca A I. (1989). Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of

Trichosanthes kirilowii Maximowics. *Febs Lett.* 246(1-2), 159 -162.

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

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

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

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

Gabius. H.J, Springer W.R and Barondes S.H. (1985). Receptor for the cell binding site of discoidinI.Cell. (42), 449-456.

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

Gomes-Rezende JA, Gomes-Alves AG, Menino JF, Coelho MA, Ludovico P, p, Sturme MH,Rodrigues F. (2012). Functionality of the Paracoccidioides Mating alpha-Pheromone-Receptor System. PLoS One 7(10) : 47033.

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

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

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

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

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

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

Hammiche et Azzouz. (2013) – collection phytothérapie pratique : 447 p.

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

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

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

Jaffe W.G. (1980). hemagglutinins (Lectins) . In toxic constituents of plant foodstuffs. New – York. Academic Press. Pp 502.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Le Moine E. (2001) - Les Plantes Aromatiques et Médicinales. Ed. Moliere, Paris, 262 p.

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

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

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

Mioulane P. (2004) - Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins, Larousse. Ed. Protea : 7-50.

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

Necib. Y., Bahi A., Derri. N, Fateh Merouan. F, Bouadi. H., Boulahrouf. K. Immunomodulatory Activity Of Lectin Extracted From Bark Of The Black Mulberry (*Morus Nigra*). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2014. 4(1) :1707-1719

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

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

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

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

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

Pline. (1999) – Lavertue des plantes (Histoire Naturelle, livre XX), Paris.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Rydz N, Swytun L L, Notley C, Paterson A D, Riches J J, Sponagle K, Booyawat B, Montgomery. R.R, James P D, Lillicrap D. (2013). The c-type lectin receptor clec4m binds, internalizes, and clears von willebrand factor and contributes to the variation in plasma von willebrand factor levels. *Blood.* 121, 5228–5237.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Sutapa B M, Gopa R P. (2013). exploring plant lectines in diagnostic. Pophylaxis and therapie. *Journal of medicinal plants research.* 7(47),3444-3451.

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

Singh PN, Singh SB. A (1980). New saponin from mature tubers of *Cyperus rotundus*. *Phytochemistry.* 19 :2056.

Siriwardana G. & Nishimoto R.K. (1987), Propagules of purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) in soil, *weed technology*, 1, 3, 217-220.

Tanne A, Neyrolles O. (2010). C-type lectins in immune defense against pathogens : Themurine dc-sign homologue signr3 confers early protection against mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence.* 1, 285–290.

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

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

Thebtaranonth C, Thebtaranonth Y, Wanauppathamkul S, Yuthavong Y. (1995). Anti malarial sesquiterpenes from tubers of *Cyperus rotundus* : structure of 10,12-peroxycalamenene, a sesquiterpene endoperoxide. *Phytochemistry* 1995 ; 40 :125–8. 11.

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

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

Wangh. N.G .T.G. (1998).Ribosome inactivating protein and lectin from bittermelon(*Momordica charantica*) seeds: sequence comparaison with related protein. *Biochemical and biophysical research communication*.253, 143- 146.

WEIS. W. I., BRUNGER. A. T., SKEHEL. J. J., WILEY. D. C. (1990) Refinement of the influenza virus hemagglutinin by simulated annealing. *J Mol Biol*. 212 : 737-761.

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

Wiert C. (2006) - Medicinal Plants of the Asia Pacific : Drugs for the future. Ed. World Scientific : 401- 416.

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

L. (2014). Type lectin from the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* promotes hemocyte phagocytosis. *Dev. Comp. Immunol*. 2014. 44, 397–405.

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

Zhang .H, Peatman. E, Liu .H, Feng. T, Chen.L, Liu.Z.(2012). Molecular characterization of three L-type lectin genes from channel catfish, *Ictalurus punctatus* and their responses to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Fish Shellfish Immunol*. 2012. 32, 598-608.

ANNEXES

Annexe 01 : Préparation du Tampon

➤ Préparation de la solution tampon phosphate di-sodique PBS (0,1M ; pH7, 4)

- Pour 5 litres

Produit chimique	Quantité
Disodium phosphate (Na_2HPO_4)	0,435 g
Monosodium phosphate (NaH_2PO_4)	5 g
Chlorure de sodium (Na Cl)	45 g
Eau distillée	5 L

Annexe 02 : Préparation des Monosaccharides et glycoprotéines.

➤ Préparation des monosaccharides et des glycoprotéines.

Sucre/glycoprotéines	Na Cl
0,1 g	1 ml

➤ Préparation du Na Cl 0,9 M

Na Cl	Eau distillée
0,9	0,1L

Etude comparative des lectines extraites à partir de deux plantes médicinales (*Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens*)

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

Résumé

Les lectines constituent un groupe de protéines ou de glycoprotéines d'origine non-immunitaire, qui se lient de façon réversible aux hydrates de carbone et le plus souvent agglutinent les cellules ou précipitent les polysaccharides et des glycoconjugués. Notre étude est focalisée sur la recherche de la présence des lectines dans les extraits racinaires de deux plantes médicinales : *Ruta graveolens* et *Cyperus rotundus* par le test de l'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par la chromatographie sur colonne.

L'activité hémagglutinante est très forte chez les deux plantes *Ruta graveolens* et *Cyperus rotundus*, le traitement thermique des extraits bruts des racines de *Cyperus rotundus* et *Ruta graveolens* à différentes températures de 40°C jusqu'à 100°C pendant 1h, n'a pas été suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante. L'activité d'hémagglutination des lectines *Cyperus rotundus* reste stable dans la gamme du pH testée de 2 à 12. Par contre les lectines de *Ruta graveolens* perdent leurs activités à pH de 1 à 3. Les études d'inhibition de l'hémagglutination réalisées avec des protéines purifiées des racines de plantes : *Cyperus rotundus*, et *Ruta graveolens*, ont révélé que la lectine est inhibée par les sucres simples et les glycoprotéines à la fois, mais beaucoup plus par les glycoprotéines.

Pour le test ABO, les lectines extraites de nos plantes ont présentées une sélectivité pour tous les groupes sanguins humains.

La purification sur colonne de Sephadex G75 a montré deux pics pour *Ruta graveolens*, cependant *Cyperus rotundus* a présenté un seul pic.

Mots clés : Lectines, Extraction, Plantes médicinales, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, Sucres, Monosaccharides, Glycoprotéines.

Laboratoire de recherche: Laboratoire d'Immunologie

Jury d'évaluation :

Président du jury : LOUAAR I

Rapporteur : BAH I A

Examineur : DJEMAI ZOUGHLACHE S

Date de soutenance : 02-07-2019