



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

Extraction des lectines à partir de la plante médicinale (*Arachis hypogaea*) avec des tests biologiques.

Présenté et soutenu par:

❖ KISSOUM Djohra

❖ LAIOUR Manel

Le : 05 /09 / 2021

Jury d'évaluation :

Président du jury : BAH I A.

(M.A- UFM Constantine).

Rapporteur : NECIB Y.

(Pr- UFM Constantine).

Examineur : ZOUGHLACHE S.

(M.A- UFM Constantine).

Année universitaire :

2020-2021



REMERCIEMENT

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à notre encadreur Monsieur **NECIB Youcef** Professeure au département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire à Université des Frères Mentouri Constantine. Pour avoir dirigé ce travail, pour toute la compréhension qu'il a montré la disponibilité et la patience dont il a fait preuve à notre égard pendant notre parcours, pour sa générosité scientifique, ses conseils précieux et ses encouragements qu'il nous a prodigués tout au long de ce mémoire.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de notre jury de mémoire, Dr **BAHI Ahlem** Maitre de conférences au département De Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des frères Mentouri Constantine, c'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider notre jury de mémoire. A l'examinatrice Dr **ZOUGHACHE Soumia** Maitre assistante à l'université des frère Mentouri nous somme fière que vous avez accepté d'examiner et de juger notre travail.*

*Nous exprime notre sincère gratitude à Mademoiselle **TORCHE imen** et Madame **BOUFKER sana**, doctorantes à Université des Frères Mentouri Constantine, pour leurs aides techniques et leurs orientations, Pour tous les conseils et l'attention qu'elles nous ont prodiguées tout au long de la réalisation de ce travaille. Pour leurs gentillesse, simplicité, sympathie nous sommes très honorés que nous avons la chance de travaille avec elles, sans oublier de remercier vivement Monsieur **BOUDERSSA nabil** et l'équipe laborantine.*

MERCI !



Dédicace

(Kissoum Djohra)

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :
Premièrement à la mémoire de ma chère mère **Fatiha** qui a toujours souhaité de nous voir
réussir, repose en paix maman en ma vie tu restes toujours dans mon cœur.*

*A mon père **Ahmed Kissoum**, ma précieuse offre du dieu, aucun langage ne saurait exprimer
mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements*

*A mes sœurs **Amina et Kenza Kissoum** et mon cher frère **Rabah Kissoum** qui n'ont pas
cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mon mémoire, que dieu les
protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A nos adorables enfants **Maya, Abd el mouheimen, Mayssem, Djawed, Racim, Layen, et
notre nouveau bébé Sadjed.***

*A mon cher binome **Laoiur Manel** pour sa compréhension tout au long de ce projet sans oublier ta
famille*

MERCI !

Résumé

Les lectines constituent un groupe de protéines ou glycoprotéines ubiquitaires et polyvalentes d'origines non immunitaires, qui se lient de manière non covalente spécifique et réversible aux fractions glucidiques des hydrates de carbone complexe sans réagir catalytiquement avec eux. Lorsque ces glucides sont des composants des parois cellulaires, les lectines provoquent l'agglutination des cellules qui les contiennent.

Le but de ce travail est de chercher la présence des lectines contenues dans l'extrait brut de la plante médicinale « *Arachis hypogaea* » par le test d'hémagglutination, et étudier les différentes spécificités de ces lectines pour rendre compte de leur PHi, leurs thermo-stabilité et leurs interactions et affinités avec les sucres.

L'isolement des lectines commence généralement par une extraction qui a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par une chromatographie sur colonne.

L'activité hémagglutinante d'*Arachis hypogaea* a été représentée 1:8(256). Pour le test d'ABO, les lectines de notre extrait agglutinent tous les types des groupes sanguins (été donné une forte sélectivité avec tous les hématies A, B, AB, O). Un test d'inhibition a été réalisé par la suite avec différents monosaccharides et qui a démontré que nos lectines présentent et prouvent une grande affinité seulement pour le glucose, cellobiose et galactose par rapport aux autres composés avec une concentration minimale d'inhibition de l'ordre respectivement 6.25, 25 et 50 g/ml. Ainsi que l'activité hémagglutinante de lectines d'extrait d'*Arachis hypogaea* été remarquablement stable dans la gamme du pH de 3-10. Pour Le traitement thermique l'extrait a réduit significativement leur activité hémagglutinante, jusqu' à 120 °C, mais elle n'a été pas suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante (**thermorésistant**). L'application de la chromatographie sur colonne de Séphadex G 50 sur notre extrait été donné quatre pics mais un pic seulement correspond aux lectines.

Mots clés: Lectines, Extraction, Activité hémagglutinante, Plante médicinale, Saccharide, Système ABO, Inhibition, Affinité, Hématies.

Abstract

Lectins are a group of ubiquitous and versatile proteins or glycoproteins of non-immune origin, which bind non-covalently, specifically and reversibly to the carbohydrate fractions of complex carbohydrates without reacting catalytically with them. When these carbohydrates are components of cell walls, lectins cause agglutination of the cells containing them.

The aim of this work is to search for the presence of lectins contained in the crude extract of a medicinal plant "*Arachis hypogaea*" by the hemagglutination test, and to study the different specificities of these lectins to account for their PHi, their thermo-stability and their interactions and affinities with sugars.

Isolation of lectins usually starts with an extraction which was done by grinding and maceration in a buffer solution followed by column chromatography.

The hemagglutinating activity of *Arachis hypogaea* was represented 1:8(256). For the ABO test, the lectins of our extract agglutinated all types of blood groups (was given a high selectivity with all red blood cells A, B, AB, O). An inhibition test was then carried out with different monosaccharides and showed that our lectins present and prove a high affinity only for glucose, cellobiose and galactose compared to the other compounds with a minimum inhibition concentration of 6.25, 25 and 50 g/ml respectively. As well as the hemagglutinating activity of lectins of *Arachis hypogaea* extract was remarkably stable in the PH range of 3-10. Heat treatment of the extract significantly reduced their hemagglutinating activity, up to 120°C, but it was not sufficient to totally inactivate the hemagglutinating activity (heat_resistant). The application of chromatography on column of Sephadex G 50 on our extract was given four peaks but only one peak corresponds to lectins.

Keywords: Lectins, Extraction, Hemagglutinating activity, Medicinal plant, Saccharide, ABO system, Inhibition, Affinity, Red blood cells.

ملخص

تمثل اللكتينات مجموعة من البروتينات أو الجلايكوبروتينات متعددة الوجود و متعددة التكافؤ ذات طبيعة غير مناعية, و التي ترتبط بطريقة محددة, غير تساهمية و قابلة للانعكاس بأجزاء الكربوهيدرات من الكربوهيدرات المعقدة دون التفاعل التحفيزي معها, عندما تكون هذه الكربوهيدرات من مكونات جدران الخلايا, يتسبب اللكتين في تراص الخلايا التي تحتوي معا. الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن وجود اللكتينات الموجودة في المستخلص الخام للنبات الطبي "Arachis hypogaea" بواسطة اختبار التراص الدموي, ودراسة الخصائص المختلفة لهاته اللكتينات من أجل الإبلاغ عن درجة الحموضة الملائمة, استقرارها الحراري, تفاعلاتها وصلتها مع السكريات.

عادة ما يبدأ عزل اللكتينات باستخراجها عن طريق الطحن والنقع في محلول ملحي ثم تمريرها عبر الكروماتوغرافي العمودي.

أبدى مستخلص "Arachis hypogaea" حدة تراص تقدر ب 8/1 (256). اللكتينات المتواجدة في مستخلصنا تظهر نشاط التراص الدموي مع جميع أنواع فصائل الدم (تم منحها انتقائية عالية مع جميع خلايا الدم الحمراء (A, B, AB, O). تم لاحقا اجراء اختبار التثبيط باستخدام السكريات الأحادية المختلفة والذي أظهر ان اللكتين لدينا موجود و يثبت توافقا كبيرا فقط مع الجلوكوز, السيلوبايوز و الجالاكتوز مقارنة بالمركبات الأخرى و ذلك بتركيز مثبت يقدر بالترتيب 6.25,25,50 جم/مل على التوالي. بالإضافة الى أن نشاط التراص الدموي للكتينات المستخلصة من "Arachis hypogaea" أبدى بشكل ملحوظ استقرارا واضحا في نطاق درجة الحموضة من 3-10 PH. بالنسبة للمعالجة الحرارية, قلل المستخلص بشكل كبير من نشاط التراص الدموي, حتى 120 درجة مئوية, ولكنه لم يكن كافيا لتعطيل نشاط التراص الدموي (مقاوم للحرارة). كما أعطى تطبيق الكروماتوغرافي العمودي باستعمال Séphadex G50 4 ذرات لكن هناكذروة واحدة تعود الى اللكتينات.

الكلمات المفتاحية:

اللكتينات, الاستخلاص, نشاط التراص الدموي, نبتة طبية, سكريات, نظام ABO, تثبيط, التقارب, خلايا الدم الحمراء.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

<i>Introduction</i>	01
---------------------------	----

Section I : Etude Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les lectines

1- Généralité	03
2- Historique	04
3- La structure des lectines	06
3-1- Les lectines simple	06
3-2- Les lectines en mosaïques	06
3-3- Les assemblages macromoléculaires	07
4- Les sites de reconnaissance	08
5- La spécificité et l'affinité des lectines	08
6- L'inhibition des lectines par des glucides	10
7- La classification des lectines	10
7-1- Chez les animaux	11
7-1-1- Les lectines extracellulaires	11
7-1-2- Les lectines intracellulaires	11
7-2- Chez les végétaux	11
7-2-1- Les Mérolectines	11
7-2-2- Les Hololectines	11
7-2-3- Les Chimérolectines	11
7-2-4- Les Superlectines	12
8- Distribution des lectines dans le monde vivant	12
8-1- Les lectines de vertébrés	13
8-1-1- Les S-lectines (glectines)	13
8-1-2- Les C-lectines (selectines)	13
8-2- Les lectines d'invertébrés	14
8-3- Les lectines des microorganismes	14
8-4- Les lectines des plantes	15
9- Fonction biologique des lectines	16
9-1- Chez les plantes	16
9-2- Chez l'homme	17
10- Propriétés des lectines	17
10-1- L'interaction lectines-glucides	17
10-2- L'agglutination des cellules	17
10-3- L'activité mitogène	19
10-4- Effet mimétiques des hormones	19
10-5- Inhibition de la croissance des cellules cancéreuse	19
10-6- La propriété antivirale	19
10-7- La propriété antibactérienne	20

SOMMAIRE

10-8- Propriété immuno-modulatrice	20
10-9- Transduction du signal.....	20
10-10- Autres propriétés.....	21
11- Le rôle des lectines dans l'immunité.....	22
Chapitre II : Le système sanguin	
1- Historique.....	24
2- Le système des groupes sanguins.....	24
2-1- Le système ABO.....	24
2-2- Facteur Rh.....	25
2-3- Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	26
2-4- Détermination du groupe sanguin.....	26
2-5- Lectines spécifiques des groupes sanguins.....	27
Chapitre III : Généralités sur la plante utilisée	
1- Généralités sur les plantes médicinales.....	28
2- Arachis hypogaea.....	28
2-1- Généralité	28
2-2- Carte d'identité d'Arachis hypogaea	29
2-3- Position systématique	29
2-4- Description botanique de la plante	29
2-5- L'utilisation médicinales.....	30
2-6- Les inconvénients d'Arachis hypogaea pour santé.....	30
Section II : Matériels et méthodes	
I. Matériel.....	31
I.1. Le matériel vivant.....	31
I.2. Le matériel végétal.....	31
II. Méthodes.....	31
II.1. La préparation de la plante.....	31
II.2. L'étude biologique.....	33
II.2.1. L'extraction des lectines par la solution tampon	33
II.2.2. Le test d'hémagglutination.....	34
II.2.3. Le test de limite d'hémagglutination.....	35
II.2.4. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	35
II.2.5. Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides.....	36
II.2.6. L'effet de PH sur l'hémagglutination.....	36
II.2.7. L'effet de température sur l'hémagglutination	37
II.3 L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de Séphadex G 50.....	37
II.3.1. La préparation de la colonne.....	37
II.3.2. La séparation des lectines.....	37
II.3.3. La spectrophotométrie à UV.....	37
Section III : Résultats	
I. Les résultats d'étude biologique.....	38
II. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G 50.....	45
Section IV : Discussion	
Discussion.....	48
Conclusion et perspectives.....	52
Références bibliographiques.....	53

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

ACA: Amaranthus caudatus lectine
CBAs : carbohydrate – binding agent
Con A: Concavaline A lectine
Con M: Canavalia maritima
CRD: domaines de reconnaissance des glucides (Carbohydrate Recognition Domain)
ELLA: Enzyme Linked Lectin Assay
EUL: Euonymus lectin-like
G : Grossissement
Gal: galactose
GalNAc: N-acetylgalactosamine
GNA : Galanthus nivalis agglutinine
Glc: glucose
GlcNAc: N-acetylglucosamine
IBS: le syndrome du côlon irritable
LecRKs: Lectin receptor kinases
LTLs: L-Type Lectins
Man: Mannose
MASPS: Mannose-Binding Lectine -Associated Serine Protéase
MBL: Mannose-Binding Lectine
MIC: Concentration minimal d'inhibition
NK: Natural killer
NKR-P1: Natural killer cell receptor protein 1
OAA: Oscillatoria agardhii agglutinin
PAMPs: Pathogen-associated molecular patterns
PBS: Phosphate Buffer Saline
Rip: Ribosom Inactivating Proteine
PHA 1: lectine phaseolous vulgaris
VIH 1: Virus de l'Immunodéficience Humaine 1
3 D: Tridimensionnelle

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau 01: La Spécificité osidique de certaines plantes à lectines.....	09
Tableau 02: Les 4 phénotypes courants du système ABO.....	25
Tableau 03: Exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins.....	27
Tableau 04 : Classification d' <i>Arachis hypogaea</i>	29
Tableau 05: L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut d' <i>Arachis hypogaea</i> ...	38
Tableau 06: L'activité hémagglutinante d' <i>Arachis hypogaea</i>	39
Tableau 07: L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut d' <i>Arachis hypogaea</i>	39
Tableau 08: Test d'inhibition d'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i> par des sucres simples.....	40
Tableau 09 : Les concentrations minimales en glucose, galactose et cellobiose, provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i>	41
Tableau 10 : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i>	42
Tableau 11: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i>	44
Tableau 12: Résultats de l'absorbance de 90 fractions obtenues après la purification partielle des Protéines par chromatographie sur gel d'exclusion Séphadex G50.	45
Tableau 13: Résultats du test d'hémagglutination réalisé avec les fractions des pics Obtenues après chromatographie	47

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Figure 01: Représentation schématique d'exemple d'interaction lectines-glucides.....	04
Figure 02: Présentation schématique de l'historique de la découverte des lectines.....	05
Figure 03: Représentation graphique d'un monomère de concanavaleine A en complexe avec le trisaccharide	06
Figure 04: Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine du virus Influenza en complexe avec l'acide sialique.....	07
Figure 05 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie Escherichia Coli.....	07
Figure 06 : A; classification des sucres selon Makela basée sur la position des groupements hydroxyyles en C-3et C-4 du cycle pyranose. B; structures des sucres reconnus par les lectines des cinq principales classes.....	10
Figure 07: Classification des lectines végétales en fonction de leur diversité structurelle.....	12
Figure 08 : Représentation graphique de la structure de C- LECTINE en complexe avec le sialyl lewis X.....	14
Figure 09 : Tétramère de la protéine ConM de <i>Canavalia maritima</i> complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6)	15
Figure 10 : Représentation schématique de la formation d'un complexe agglutinat à partir d'interaction des lectines avec les antigènes spécifiques des cellules (hemagglutination des érythrocytes).....	18
Figure 11: Inhibition des lectines par les sucres.....	19
Figure12 : Représentation schématique de quelques étapes dans la découverte de l'activité biologique des lectines.....	22
Figure 13: Représentation schématique de la distribution de group ABO et Rhésus sur la membrane d'une hématie.....	25
Figure14: Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	26
Figure 15: <i>Arachis hypogaea</i>	29
Figure 16: Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres d' <i>Arachis hypogaea</i>	34
Figure 17: La courbe d'Absorbance de l'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i> après leur passage à travers la colonne de séphadex G50.....	46

LISTE DES PHOTOS

Liste des photos

Photo 01: les graines <i>d'Arachis hypogaea</i>	31
Photo 02 : Les mesures des graines d' <i>Arachis hypogaea</i> avant et après séchage.....	32
Photo 03 : Les graines sèches d' <i>Arachis hypogaea</i>	32
Photo 04 : La poudre <i>d'Arachishypogaea</i> ; A : les téguments secs rouges d' <i>Arachis hypogaea</i> , B : les graines ovoïdes enveloppées dans un tégument sec rouge, C: les graines sans ses téguments.....	34
Photo 05 : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i>	39
Photo 06 : La limite d' hémagglutination d' <i>Arachis hypogaea</i>	40
Photo 07: L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut d' <i>Arachis Hypogaea</i> .	
Photo 08 : L'inhibition d'agglutination par différents saccharides.....	41
Photo 09: Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination de l'extrait de l' <i>Arachis hypogaea</i> avec trois monosaccharides : Glucose, Cellobiose, Galactose.....	42
Photo 10: Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination de l'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i>	43
Photo 11: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d' <i>Arachis hypogaea</i>	44

INTRODUCTION

Introduction

Introduction

Les lectines sont une classe de protéines, leur seule caractéristique commune étant la capacité de se lier spécifiquement avec les hydrates de carbone de manière réversible, et d'agglutiner les cellules (**Sharon, 1993**). Elles possèdent plusieurs propriétés biologiques notamment: l'agglutination des cellules, l'activité mitogène, l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses, les actions antivirales et les effets immunitaires. Ces diverses propriétés sont à la base de l'utilisation des lectines dans le domaine biomédical (hématologie, immunologie, oncologie, biologie cellulaire et agronomie «défense des plantes contre les agents pathogènes»). (**Meite et al., 2006**). Elles sont utilisées comme outil de détection et d'isolement et de caractérisation des glycoconjugués présents dans les cellules vivants.

Les lectines comportent généralement plusieurs sites de liaisons, par conséquent, leur interaction avec les glucides à la surface des érythrocytes cause l'agrégation d'un grand nombre de ces cellules. Ce phénomène, qui est appelé hémagglutination. Il est possible d'inhiber les réactions d'agglutination et de précipitation des lectines par les glucides spécifiques pour ces protéines. Les lectines sont présentes dans tous les organismes vivants.

Les lectines sont présentes en quantité plus importante chez les végétaux que les animaux, pour cette raison l'objectif principal de notre travail est de chercher la présence des lectines dans une plante médicinale et l'extraction de ces dernières à partir de cette plante avec des études biologiques.

L'objectif spécifique de notre travail est l'évaluation de l'activité agglutinante des lectines extraites à partir d'une plante médicinale sur les hématies de lapin, étude de l'effet du traitement thermique et du pH sur la stabilité de ces lectines, investiguer la spécificité de ces lectines par le test d'inhibition avec les glucides et ensuite procéder la chromatographie sur colonne sur le gel de Séphadex G50 afin d'améliorer l'activité d'hémagglutination de l'extrait brute.

Notre travail sera réparti en quatre sections: la première section est une étude bibliographique comprend trois chapitres, Le premier chapitre est consacré à une revue sur les lectines, en particulier une généralité, historique, spécificité, classification, distribution et leur rôle dans l'immunité. Nous avons ensuite abordé au second chapitre sur le système sanguin humain ABO et la structure de leurs antigènes. Enfin dans un dernier chapitre, nous avons présentés notre plante médicinale sur laquelle nous avons basé sur leurs propriétés médicinales.

La seconde section est sur le matériel et les méthodes, elle contient trois parties, dont la première partie nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisés lors de notre travail expérimental, la deuxième comprend des tests biologiques, dans cette partie nous avons récupéré des substances à partir d'une poudre des graines de notre plante à l'aide d'une solution tampon, l'extrait brut que nous avons obtenu est d'abord testé sur les hématies pour la mise en évidence de leur activités hémagglutinante, puis nous avons effectués des tests

Introduction

biologiques sur elles. Pour une troisième partie nous avons procédé la chromatographie sur colonne en utilisant le gel Séphadex G50.

Concernant les deux dernières sections, elles abordent les résultats et la discussion respectivement. Et enfin une conclusion permet de faire une synthèse des résultats obtenus.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I:
Les lectines

Chapitre I: les lectines**1. Généralité**

Le mot lectine 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), c'est un nom bien approprié pour cette très importante classe de protéines, appelées aussi hémagglutinines, ou phytoagglutinines, car elles ont été trouvées à l'origine dans des extraits de plantes (Sharon et Lis, 2004), ont définies les lectines comme des glycoprotéines d'origine non immunes, ayant la capacité de se lier spécifiquement avec les hydrates de carbone de manière réversible, et agglutine des cellules et/ou précipite des glycoconjugués. Les fonctions biologiques des lectines dépendent de leur capacité de liaison spécifique avec leurs ligands, Au modèle classique de complémentarité clé-serrure de FISCHER par un réseau de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes (Goldstein Poretz, 1986). Mais Ces protéines ne montrent aucune activité enzymatique vis-à-vis de leur ligand (Lis et Sharon, 1998). Cette liaison entre une lectine et son polysaccharide spécifique est comparable à une réaction anticorps-antigène.

Les lectines sont des molécules ubiquitaires et polyvalents car sont présentes dans toutes les branches du règne vivant. Chez les microorganismes (virus, bactéries), chez les plantes, chez les insectes et les animaux, 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). Les lectines sont parfois des protéines membranaires complètement incluses dans la membrane, l'utilisation de détergent puissants est donc nécessaire pour leur dissolution. D'autres lectines sont d'emblée des protéines solubles (Kamoun, 2003).

Les interactions protéine/glucide sont impliquées dans de nombreux phénomènes de reconnaissance et d'adhésion cellulaires (par exemple, réponses immunitaires, infections..), (Figure 01) donne une vue concernant l'interaction récepteur ligand. C'est grâce à ces propriétés que les lectines sont utilisées en biotechnologie et en diagnostic biomédical. Voici quelques exemples d'applications utilisant des lectines (<https://www.clinisciences.com>).

- **Hématologie** : détermination des groupes sanguins par agglutination des érythrocytes par les lectines.
- **Neurologie** : traçage antérograde des axones efférents par la lectine PHA-I.
- **Virologie** : Inhibition *in vitro* du VIH-1 par la lectine de banane.
- **Biochimie et protéomique** : étude des glycoprotéines (anticorps, cytokines, hormones, etc.) Les lectines sont utilisées pour purifier et/ou détecter les glycoprotéines avec lesquelles elles se lient (<https://www.clinisciences.com>).

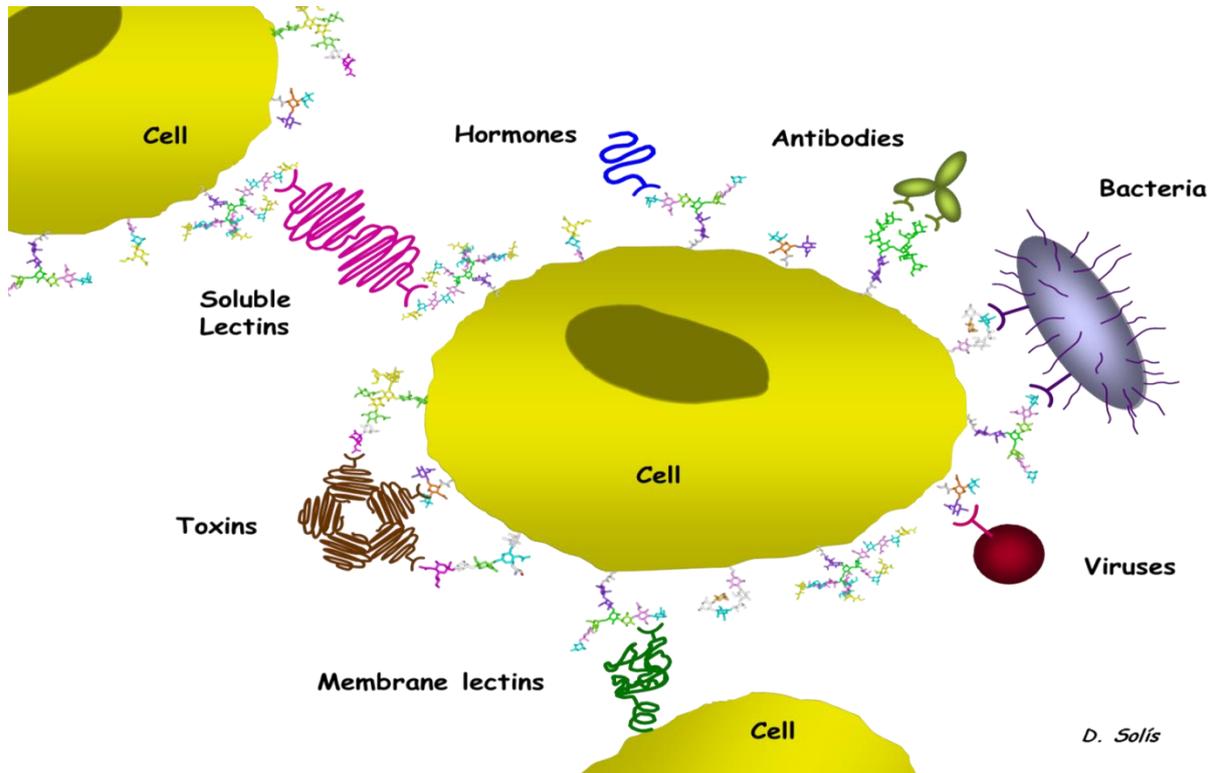


Figure 01: Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (Sharon et Lis, 1993).

2. Historique

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

En 1919, James B. Sumner, de l'université Cornell (Ithaca, New York), isole à partir du pois (*Canavalia ensiformis*) la première hémagglutinine pure, la concanavaleine A (Sumner, 1919). Il fallut patienter presque vingt ans et les travaux de Sumner et Howell en 1936 pour que la spécificité de ces protéines pour les sucres soit mise en évidence avec l'inhibition de l'hémagglutination de la concanavaleine 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 donné (système ABO) sans affecter les cellules sanguines des autres groupes (figure 02).

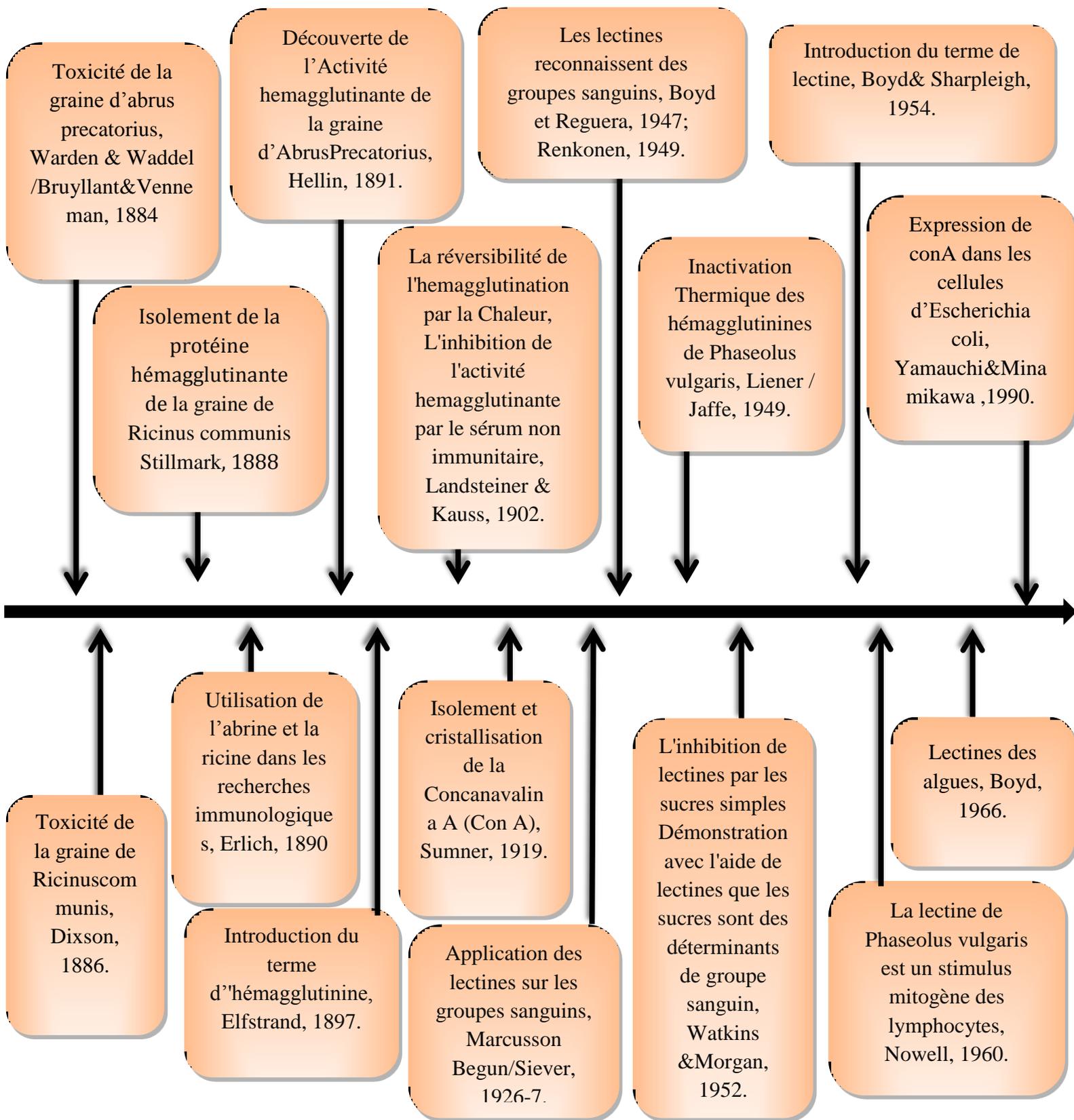


Figure 02 : Présentation schématique de l'historique de la découverte des lectines (Renato et col, 1991).

3. La structure des lectines

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire qui reconnaissent et se lient à des épitopes structuraux de glucides spécifiques sans les modifier, ces glycoprotéines 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). Selon leur topologie, les lectines sont classées en trois grandes classes:

3.1. Les lectines simples

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 et al., 2006) (Figure 03).

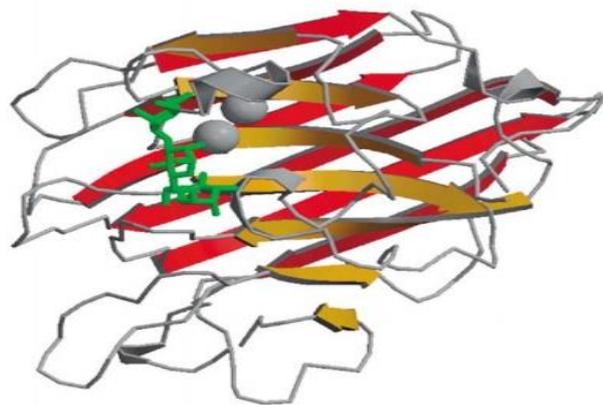


Figure 03: Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A en complexe avec le tri saccharide [Man (a1 - 3)] Man (a1 - 6) Man) (Lenka et al., 2006).

3.2. Les lectines mosaïques

Ce groupe contient diverses protéines de plusieurs sources comme (virus, animaux). Il s'agit de molécules complexes qui sont composées de plusieurs types de modules ou domaines, dont un seul possède le site de liaison (Lenka et al., 2006) (Figure 04).

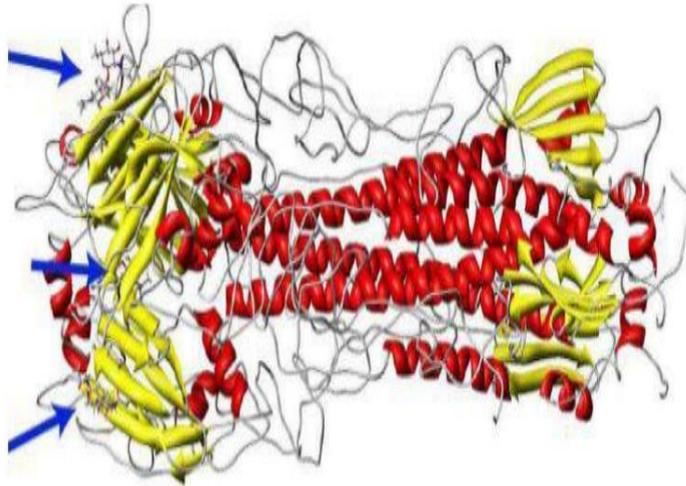


Figure 04: Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine du virus Influenza en complexe avec l'acide sialique (Lenka et al., 2006).

3.3. Les assemblages macromoléculaires

Les lectines de ce type sont fréquemment trouvées chez les bactéries, où elles forment des structures filamenteuses de 3 à 7 nm de diamètre et jusqu'à 100 nm de longueur, appelées fimbriae ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbrial est formée par la polymérisation d'une unité prédominante, qui ne joue qu'un rôle structural. Seul un type d'unités, généralement une composante minoritaire, possède le site de liaison pour les glucides. Est responsable de la capacité d'adhésion du fimbria (Lenka, 2006) (Figure 05).

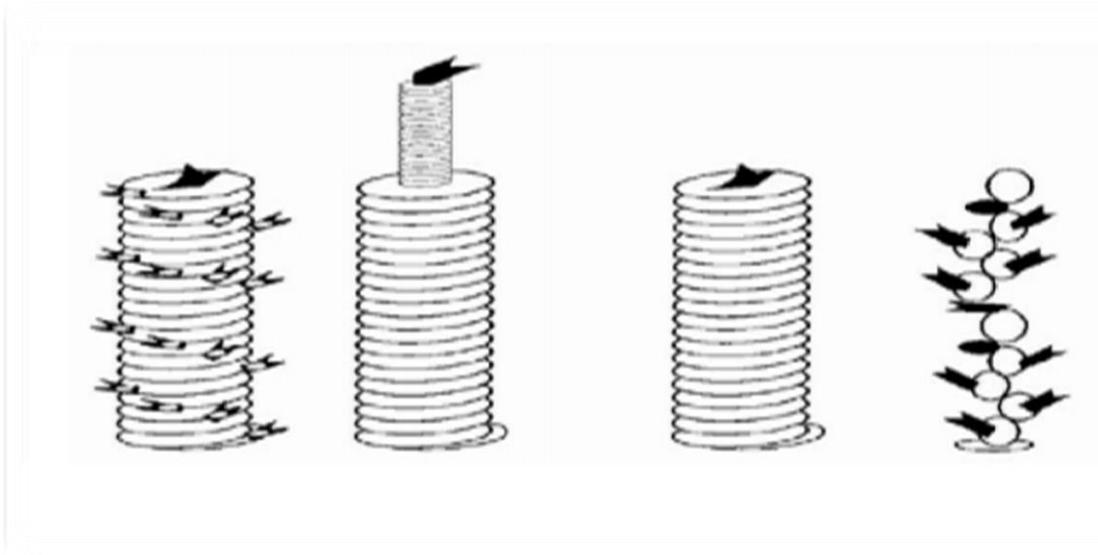


Figure 05 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *Escherichia coli*. (Lis et Sharon 1998).

4. Les sites de reconnaissances

Les lectines possèdent toutes des « domaines de reconnaissance des glucides » (CRD) qui ont évolués à partir de gènes ancestraux, souvent en conservant les caractéristiques spécifiques de la séquence primaire d'acides aminés et de la structure tridimensionnelle, malgré ces ressemblances au niveau des séquences ou des structures à l'intérieur d'une famille de lectine, les structures de glycanes reconnus peuvent être très diverses. L'affinité d'un seul site de liaison est faible (avec des valeurs de K_d de l'ordre du milli molaire), bien que certaines lectines reconnaissent certains glycanes avec une affinité beaucoup plus élevée (avec des valeurs de K_d dans la gamme de la micromolaire). Pour les lectines avec une faible affinité, les interactions multivalentes entre une protéine et plusieurs glycanes sont souvent nécessaires pour produire des interactions de haute avidité (**Imberty et Varrot, 2008**).

5. La spécificité et l'affinité des lectines

La plupart des lectines sont des protéines multivalentes ce qui se traduit par une interaction entre un ligand multivalent et un récepteur multivalent, Les bases fondamentales deviennent plus beaucoup plus complexes que celles les interactions monovalentes. La multivalence peut provenir de la répétition de type « tandem » de domaine lectines dans un polypeptide et l'association de plusieurs monomères ou de la présentation de plusieurs lectines sur une surface cellulaire, ceci implique dans le phénomène de reconnaissance (**Lee et Lee, 1995**), donc la multivalence est employée non seulement pour atteindre l'affinité mais aussi pour assurer la haute spécificité pour les interactions avec certains types de surfaces cellulaires.

On peut identifier deux classes des glycoconjugués par rapport à la spécificité de ces lectines multivalentes qui seront présentées à la surface cellulaires : les monosaccharides et les oligosaccharides (**Kumar et al., 2012**). L'affinité des lectines pour les monosaccharides est généralement assez faible (K_d de l'ordre de 1mM) en comparaison avec leur affinité pour les oligosaccharides (de l'ordre du μM) (**Dam et Brewer, 2002; Bianchet et al., 2009**). Parmi les monosaccharides le plus souvent reconnus par les lectines on retrouve le Mannose, le fucose, le galactose/N-acetylgalactosamine (GalNAc) et la N-acetylglucosamine, Les similarités structurales entre monosaccharides sont déterminantes pour la spécificité des lectines. Par exemple, la plupart des lectines qui reconnaissent le Gal se lient aussi au GalNAc. La combinaison de plusieurs techniques expérimentales permet d'élucider la Spécificité des lectines.

Pour déterminer cette spécificité des lectines en utilisant les techniques de test ELLA (Enzyme Linked Lectin Assay) et de test « Glycans array ».

Tableau01: La Spécificité osidique de certaines plantes à lectines (**Renato et coll, 1991**).

Espèces	Spécificité
Abrus precatorius	Gal
Adeniadigitata	Gal
Aleuriaaurantiaca	L-Fuc
Canavalia brasiliensis	Man >Glc
Canavalia ensiformis	Man >Glc
Dolichosbiflorus	GalNAc
Phaseolus vulgaris	GalNAc
Vicia sativa	Man
Ulex europaeus	L Fuc
Momordicacharantia	GalNAc
Cytissussessilifolia	GlcNac>Fuc>Gal
Datura stramonium	GlcNac

6. L'inhibition des lectines par des glucides

La spécificité osidique des lectines est définie en terme de concentration minimale de monosaccharide nécessaire pour inhiber l'agglutination ou la réaction de précipitation induit par ces molécules (**Goldstein et Hayes, 1978 ; Goldstein et Poretz, 1986**). Makela (1957) suggère que les monosaccharides réagissant avec les lectines peuvent être divisés en quatre classes, cette classification est basée sur la structure stéréo-isomère des groupes hydroxyles en C3 et C4 du cycle pyranose (**figure 06**). Les lectines qui se lient au L-fucose comme celle de *Ulex europaeus*, Les lectines qui se lient au galactose et/ou N-acétylgalactosamine, telle celle du soja, Les lectines telles la ConA ou la GNA, se lient au mannose et/ou glucose, Les lectines qui se lient à la L-xylose, iodose, gulose et L-glucose.

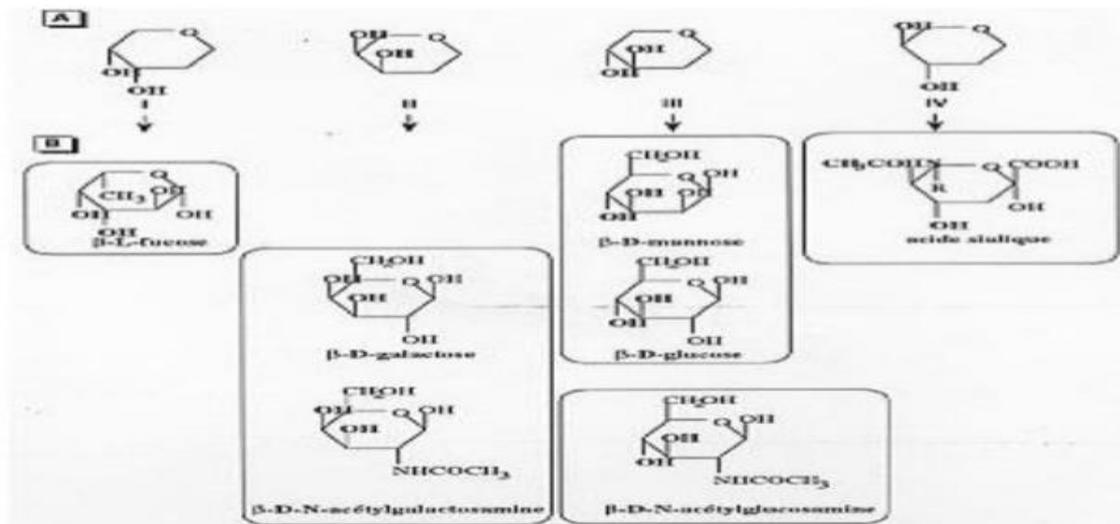


Figure 06 : A ; classification des sucres selon Makela basée sur la position des groupements hydroxyles en C-3et C-4 du cycle pyranose. B ; structures des sucres reconnus par les lectines des cinq principales classes.

7. Classification des lectines

Les lectines sont un groupe de protéines ayant une activité de reconnaissance des glucides, les lectines sont classées dans de nombreuses familles en fonction de leurs différentes localisations cellulaires ainsi que de leurs spécificités pour une variété de structures glucidiques en raison des caractéristiques de leur module de domaine de reconnaissance (CRD) (**Liu Y, 2015**).

7.1. Chez les animaux

Les lectines de mammifères ont été classées en plusieurs classes en fonction des caractéristiques de leurs CRD, ainsi que de leur spécificité de reconnaissance des sucres et leurs rôles (Liu Y, 2015):

7.1.1. Extracellulaire

Les lectines et galectines de type C, de type R, de type I / siglecs, sont sécrétées dans le milieu extracellulaire ou sont localisées sur la membrane plasmique et sont généralement impliquées dans les activités d'adhésion cellulaire, de signalisation immunitaire et de reconnaissance de formes pour l'hôte et les interactions pathogènes (Chabrol et al., 2012).

7.1.2. Intracellulaire

Présentent à l'intérieur des cellules et localisées sur des organites cytoplasmiques telles que la famille des calnexines, les lectines de type M, de type L et de type P, sont localisées dans les compartiments lumineux de la voie de sécrétion et fonctionnent dans le trafic, le tri et la maturation des glycoprotéines (Chabrol et al., 2012).

7.2. Chez les végétaux

Les lectines végétales représentent un groupe important et hétérogène de protéines avec des structures moléculaires très diverses et des plis tridimensionnels de la séquence des motifs de lectine (Damme, 2020).

7.2.1. Les Mérolectines

Les mérolectines sont de petits peptides, formées d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides exemple: (héveine, protéines d'Orchidées). Les mérolectines sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules (Peumans et Van Damme, 1995).

7.2.2. Hololectines

Les hololectines contiennent au moins deux domaines (ou plus) de liaisons aux glucides quasi- identiques, ou du moins très homologues. Les hololectines peuvent précipiter les glycoconjugués ou agglutiner les cellules. La majorité des lectines de plantes connues sont des hololectines (Van Damme et al., 1998).

7.2.3. Les Chimérolectines

Les chimérolectines possèdent un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides ainsi qu'un domaine ayant une activité catalytique bien définie et agissant indépendamment du site de liaison (Van Damme et al., 1998).

Selon le nombre de liaison aux glucides, les chimérolectines se conduisent comme des mérolectines (exemple : chitinase classe I) ou comme des hololectines (exemple : type 2-Rip Ribosom Inactivating Proteine : Protéine Inactivant les Ribosomes comme la ricine) (Peumans et Van Damme, 1995).

7.2.4. 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).

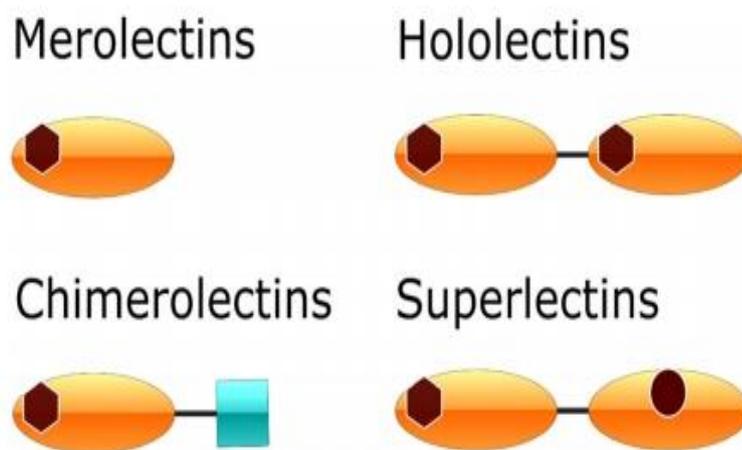


Figure 07: Classification des lectines végétales en fonction de leur diversité structurale (Van Damme et al., 1998).

- Le domaine de la lectine est représenté par une ellipse orange. Le carré bleu représente un autre domaine protéique. Les différents sites de liaison aux glucides dans le domaine de la lectine sont représentés par un hexagone ou un cercle (Damme, 2020).

8. Distribution des lectines dans le monde 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).

8.1. Les lectines de vertébrés

Les mammifères produisent une grande variété de lectines classées en plusieurs familles, en fonction d'acides aminés et de leurs propriétés biochimiques sont : les lectines toxines, les tachylectines, les pentraxines, les I-lectines, les P-lectines, les S-lectines et les C-lectines. Les S-lectines et les C-lectines sont les plus largement distribuées et bien qu'elles coexistent chez les organismes supérieurs (**Zelensky et Gready, 2005**):

8.1.1. Les S-lectines (Galectines)

Encore appelées S-Lac lectines, sont des lectines cytosoliques sécrétées elles atteignent la surface cellulaire via un mécanisme particulier c'est (exocytose). Sont constituées un groupe homogène de lectines dont les deux caractéristiques principales sont leur spécificité de reconnaissance vis à vis du lactose, des galactosides, le N-Acetylgalactosamine et l'existence d'un domaine de reconnaissance des glycanes (CRD pour carbohydrate-recognition domaine) fortement conservé (**Leffler et al., 2004**).

Leur structure est relativement simple. La première structure tridimensionnelle d'une galectine humain a été obtenue dans sa forme native et complexée avec ces glycanes (**Leonidas et al., 1998**).

8.1.2. Les C-lectines (Selectines)

A l'inverse des S-lectines (protéines solubles), les C-lectines sont des protéines transmembranaires. Leurs sites de reconnaissance des glycanes en générale de type mannose et galactose nécessite la présence d'ion du calcium (**Drickamer, 1993**), sont constituées d'un peptide C-terminal extracellulaire contenant le domaine de reconnaissance des glycanes (CRD) bien conservé. Elles ont un rôle dans un certain nombre de processus importants, y compris, le repérage des lymphocytes, l'immunité innée, la clairance des glycoprotéines sériques et l'organisation de la matrice extracellulaire (**John R. Walker §. B., 2004**).

Un exemple de la structure 3D d'une lectine du type C en complexe avec le sialyl lewis X (**Somers et al., 2000**)(figure 08).

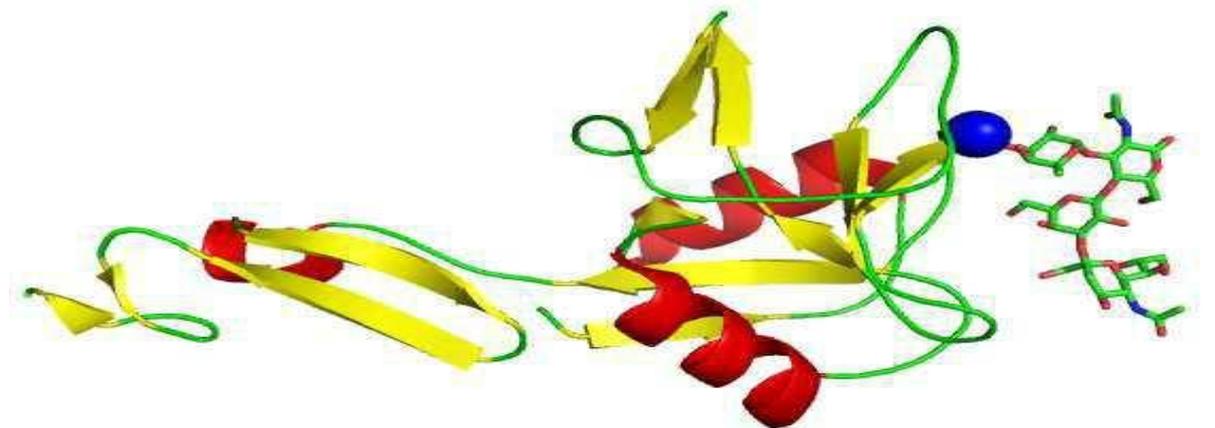


Figure 08 : Représentation graphique de la structure de C- LECTINE en complexe avec le sialyl lewis X (Somers et al .,2000), le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

8.2. Les lectines d'invertébrés

La présence de lectines a été démontrée chez les invertébrés terrestres ou marins, ces protéines font souvent partie d'un système d'immunité innée et présentent donc des spécificités pour les glucides présents à la surface d'organismes pathogène (Vasta, 1992) Chez les invertébrés, les lectines sont distribuées dans toutes les classes et sous classes étudiées. nous pouvons donner en exemple : les gastéropodes avec la lectine d'escargot de *Cepaea hortensis* (Gerlach et al ., 2002), et la structure de lectine extraite de l'escargot *Helix pomatia* a permis de définir une nouvelle famille de lectine de type H (Sanchez et al ., 2006).

8.3. 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 lectines de virus est l'hémagglutinine du virus de la grippe (Influenza virus). Cette hémagglutinine interagit avec un récepteur de la surface des cellules hôtes, l'acide 5-N-acétylneuraminique (l'acide sialique). Sa structure 3-D a été résolue en complexe avec son récepteur naturel et avec 12 analogues de ligands (Weis et al., 1990)

Les bactéries qui s'attachent aux surfaces s'agglutinent dans une matrice polymère hydrate qu'elles produisent, et donc forment un biofilm (Imberty, 2011) Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriales (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (Imberty et al., 2005) Entamoeba histolytica est un parasite entérique qui peut tuer les cellules hôtes Viau mécanisme dépendant du contact. Cette adhésion implique la protéine de surface amibienne dénommée le Gal / Gal N-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).

8.4. Les lectines des plantes

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

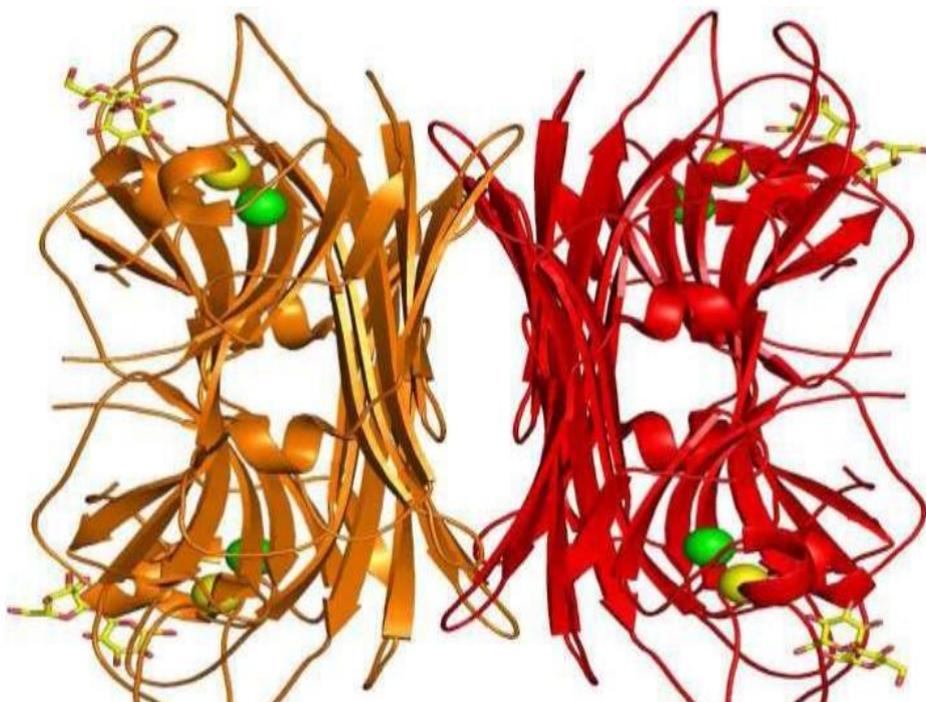


Figure 09 : Tétramère de la protéine ConM de Canavalia maritima complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6) (Delatorre et al., 2006) Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets.

- La famille des Monocotylédones présente des lectines spécifiques pour le mannose, la première structure 3-D a été la Galanthusnivalisagglutinine (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 (**Sankaranarayanan et al., 1996**). La famille Amaranthaceae contient la lectine ACA de Amaranthauscaudatusqui a été cristallisée avec le Gal1-3GalNAc (**Transueet al., 1997**).
- Les lectines de plantes semblent être impliquées dans la défense contre les pytto pathogènes et les prédateurs, certaines ayant des activités insecticides (**Chrispeels et Raikhel, 1991 ; Rudiger et Gabius, 2001**).

9. Fonction biologique des lectines

9.1 Chez les plantes

Depuis de nombreuses années, des études sont consacrées à la mise en évidence des fonctions physiologiques des lectines végétales :

- ✚ La spécificité des lectines et les propriétés conférées par leurs sites multiples de valence amènent certains auteurs à les comparer à des anticorps, et à proposer alors pour ces molécules un rôle d'"anticorps" chez les plantes (**Pistole, 1981 ; Etzler, 1986**).
- ✚ les lectines peuvent jouer le rôle de molécules constitutives de défense contre des parasites, des bactéries et des champignons pathogènes. De nombreuses études révèlent ainsi l'existence d'interactions entre des lectines et des microorganismes (**Pistole, 1981 ; Etzler, 1986**).
- ✚ protection contre les insectes prédateurs des semences ; l'addition de PHA limiterait la pullulation des bruches en tuant leurs larves ; mais les opinions émises à ce sujet sont contradictoires (**Pistole, 1981 ; Etzler, 1986**).
- ✚ la symbiose entre les bactéries du genre Rhizobium et les Légumineuses est un processus complexe qui s'établit en plusieurs étapes : adhésion de la bactérie aux racines, internalisation et nodulation, elle confère aux Légumineuses la propriété de fixer l'azote atmosphérique (**Kaminski et Coll., 1987; Diaz et coll, 1989**).
- ✚ identification des pollens par les stigmates récepteurs ; des indices divers laissent présumer que les interactions lectine-récepteur saccharidique interviennent dans le langage de reconnaissance pollen-stigmate, notamment dans le rejet des auto-pollens ; cependant, aucun mécanisme précis de l'intervention des lectines n'a encore été établi (**Etzler, 1986**).
- ✚ fonction dans l'élongation des parois cellulaires (**Etzler, 1986 ; Kaminski et coll, 1987**).
- ✚ fonction de cofacteurs enzymatiques agissant avec des enzymes glycoprotéiques (**Etzler, 1986 ; Kaminski et coll., 1987**).
- ✚ intervention dans le transport des glucides et dans leur mise en réserve dans les graines (**Etzler, 1986 ; Kaminski et coll, 1987**).

- ✚ contrôle de la division cellulaire (mitogénicité) et de la germination (**Etzler, 1986 ; Kaminski et coll, 1987**).
- ✚ intervention dans les processus de reconnaissance de cellule à cellule (**Etzler, 1986 ; Kaminski et al., 1987**).

9.2 Chez l'homme

- ✚ les lectines immobilisés sur colonne peuvent être utilisé pour l'identification et la purification de glycoconjugués par spécificité, amènent aussi à leur caractérisation (**Hirabayashi, 2004**).
- ✚ Certains lectines reconnaissent spécifiquement les antigènes des groupes sanguins humains. (**Boyd et Shapleigh, 1954**).
- ✚ Des lectines purifiées à partir des graines de légumineuses tropicales ont des propriétés anti-inflammatoires. (**Alencar et al., 2005**).
- ✚ Lectine extraire à partir de *S.littoralis* a des activités anti microbiennes. (**Seufiam et al., 2012**).
- ✚ Certaines lectines purifiées à partir d'invertébrées terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histochimique dans des cas des maladies tel que le cancer que sont associées à une modification des glycanes présents sur les cellules (**Guillot et al., 2004**) ; c'est la cas de HPA est une protéine actuellement largement utilisée en histopathologie comme marqueur spécifique de certains cancers (**Dennis et al., 1999**).
- ✚ Les CBAs (carbohydate – binding agent) interagissent avec les glycanes portés sur l'enveloppe virale de HIV et bloquer l'entré viral aux cellules targettes. Lectines d'algues peuvent être considérer comme CBAs avec la majorité des anti –HIV (**Dana Het Dominique S, 2012**) ; comme un exemple l'OAA (*Oscillatoria agardhii* agglutinin) par il a poids moléculaire de 13,9 KDa (**Sato et al ., 2000; 2007**).

10. Propriété des lectines

10.1. 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 glycanes interagissent par des liaisons non-covalentes avec les acides aminés formant la cavité de reconnaissance saccharidique de la lectine (**Jeyaprakashetal, 2003**). La partie non glycanique des glycoconjugués peut également interagir avec les acides aminés voisins de la cavité de reconnaissance (**Jeyaprakashetal, 2003**).

10.2. L'agglutination des cellules

C'est la manifestation la plus visible de l'interaction des lectines avec les cellules, Elle ne peut avoir lieu que si la lectine se lie par de multiples pontages aux cellules.

C'est une réaction qui consiste principalement en un rassemblement, regroupement ou agrégation de cellules en amas (www.em-consulte.com). 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 bactériennes, d'hématies (hémagglutination), animales ou de virus. Les lectines monovalentes à un seul site de reconnaissance ne provoquent pas d'agglutination (Peuman et coll, 1995 ; Wang et coll, 1998).

En outre, on s'est aperçu que les lectines agglutinent plus facilement les cellules malignes par rapport à leurs homologues normales. Des attitudes préférentielles ont été observées également entre cellules embryonnaires et cellules adultes, entre cellules en mitose et cellules en interphase (Wang et coll, 1998).

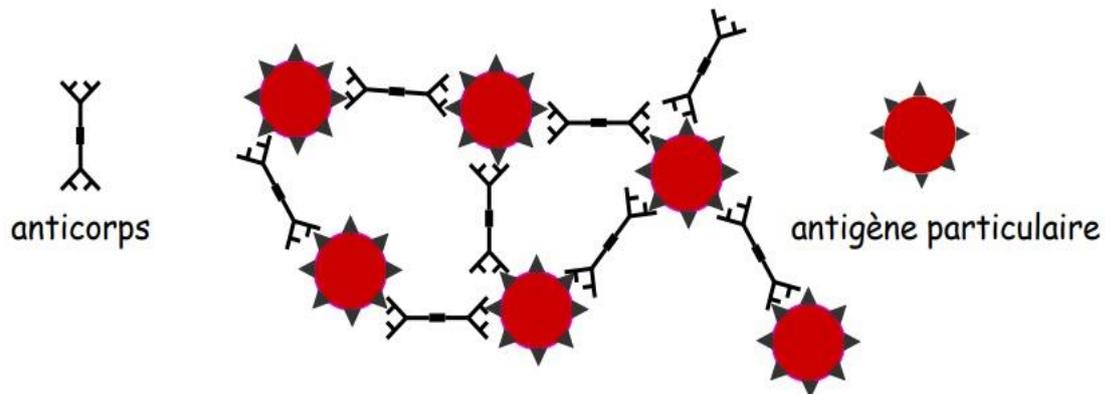


Figure 10 : Représentation schématique de la formation d'un complexe agglutinat à partir d'interaction des lectines avec les antigènes spécifiques des cellules (hémagglutination des érythrocytes) (Santos et al., 2014).

- Cette caractéristique est typique des lectines elle est aussi classiquement utilisée pour leur détection et leur caractérisation, lorsque certains sucres sont ajoutés par ces protéines lors de l'interaction, leur activité hémagglutinante est inhibée par un phénomène de compétition ce qui permet de déterminer leur spectre de spécificité (karoline, 2008).

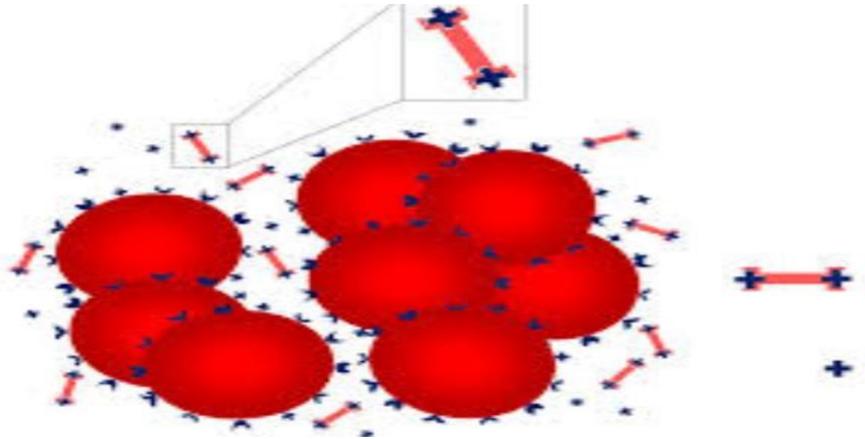


Figure 11: Inhibition des lectines par les sucres (Santos et al., 2014).

10.3. 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 (Babosa, 2001 ; Falasca, 1989 ; Nachbar et Oppenheim, 1980). Depuis les études concernant les lectines végétales, elles ont montré la capacité de certaines d'elles à activer spécifiquement diverses sous-populations lymphocytaires indépendamment de leur spécificité saccharidique (Wimer, 1996).

10.4. Effet mimétiques des hormones

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

10.5. Inhibition de la croissance des cellules cancéreuse

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

10.6. La propriété antivirale

Dans les infections virales les lectines sont impliquées dans la fixation et inhibition de la réplication des virus (Xu et al., 2014). Elles sont aussi responsables à la détection des molécules pathogènes (PAMPs) associées aux virus (Kawamura et al., 2014).

Les lectines ont la capacité de bloqué l'infection du VIH-1 par l'inhibition de l'enzyme rétro transcriptase du virus (**Tanaka et al., 2009 ; Hamid et al., 2013**).

10.7. La propriété antibactérienne

Les lectines sont des outils de régulation de la migration et l'adhésion des cellules bactériennes (**Tanne et Neyrolles., 2010**). Pour cette raison, plusieurs lectines ont une activité antibactérienne, telle que l'EUL et le calnexin A qui a une action antibactérienne contre *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* et *P. syringae* respectivement (**Qiu et al., 2012 ; Atalah et al., 2014**).

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* (**Mukherjee et al., 2014**). Concernent les lectines humain de type L (LTLs), elles ont la capacité d'agglutinées les bactéries par une manier calcium dépendent ou par leurs opsonisation en fixent sur les glycoconjugués de ces micro-organismes (**Zhang et al., 2012 ; Huang et al., 2014 ; Xu et al., 2014**).

10.8. Propriété immuno-modulatrice

Parmi la diversité des lectines, certaines ont un rôle central dans le système immunitaire. En effet, les lectines du système immunitaire sont des molécules de reconnaissance qui se lient aux micro-organismes pour promouvoir la phagocytose ou l'activation du système du complément. On peut classer ces lectines en plusieurs familles: les sélectines, les collectines solubles..., permis eux il y'a ce qui joue un rôle important dans la migration des cellule lymphocytaires vers le foyer tissulaire ou il y'a l'inflammation pour effectuer une réponse immunitaire se sont les lectines de type C: les selectines P et E (**Newton et Dixit, 2012**), ainsi les collectines sont nécessaire pour la reconnaissance des structures glycosidiques caratéristique de la surface des cellules du « non soi » (**Fujita et al., 2004**), une autre classe c'est La MBL va permettre l'activation du système du complément et faciliter la phagocytose (**Kawasaki, 1999**).

10.9. Transduction du signal

De nombreuses lectines membranaires, activées par la liaison de leurs ligands activent des tyrosine-kinases cellulaires ou des protéines G hétérotrimériques. Les lectines forment ainsi une nouvelle classe de protéines traductrices du signal. Une des caractéristiques des lectines membranaires est la diversité des réponses obtenues selon le type cellulaire et le tissu où par exemple cette diversité illustrée par le lectine NKR-P1 qui est une lectine de type C exprimée entre autre sur les NK (Natural killer) et les monocytes du sang périphérique humain.

Dans les cellules NK humaines, l'activation du récepteur NKR-P1, provoque l'activation de protéines-tyrosines kinases et la phosphorylation transitoire de certaines tyrosines (**Emoto et Emoto, 2009**).

10.10. Autres propriétés

Les lectines expriment diverses activités biologiques telles que la précipitation des glycoprotéines, l'activation de la voie alterne du complément et l'agrégation des immunoglobulines (**Nachbar et coll, 1980**), l'induction de la libération de l'histamine à partir des cellules basophiles et des mastocytes (**Gomes, 1994**), chaperonnage de protéines pour compléter leurs modifications de maturation au niveau de l'appareil de golgi (**Trombetta et Helenius, 1998**) et le trafic cellulaire. Les lectines sont des protéines résistantes qui ne se décomposent pas facilement. Ils sont résistants à l'acide gastrique et aux enzymes digestives, Les lectines peuvent se lier à la paroi intestinale et endommager la muqueuse intestinale et altérer la perméabilité intestinale et passer à travers l'intestin dans la circulation générale. Les lectines peuvent provoquer des altérations de la fonction intestinale qui peuvent être liées à la colite, la maladie de Crohn, la sprue cœliaque, le syndrome du côlon irritable (IBS) et la perméabilité intestinale.

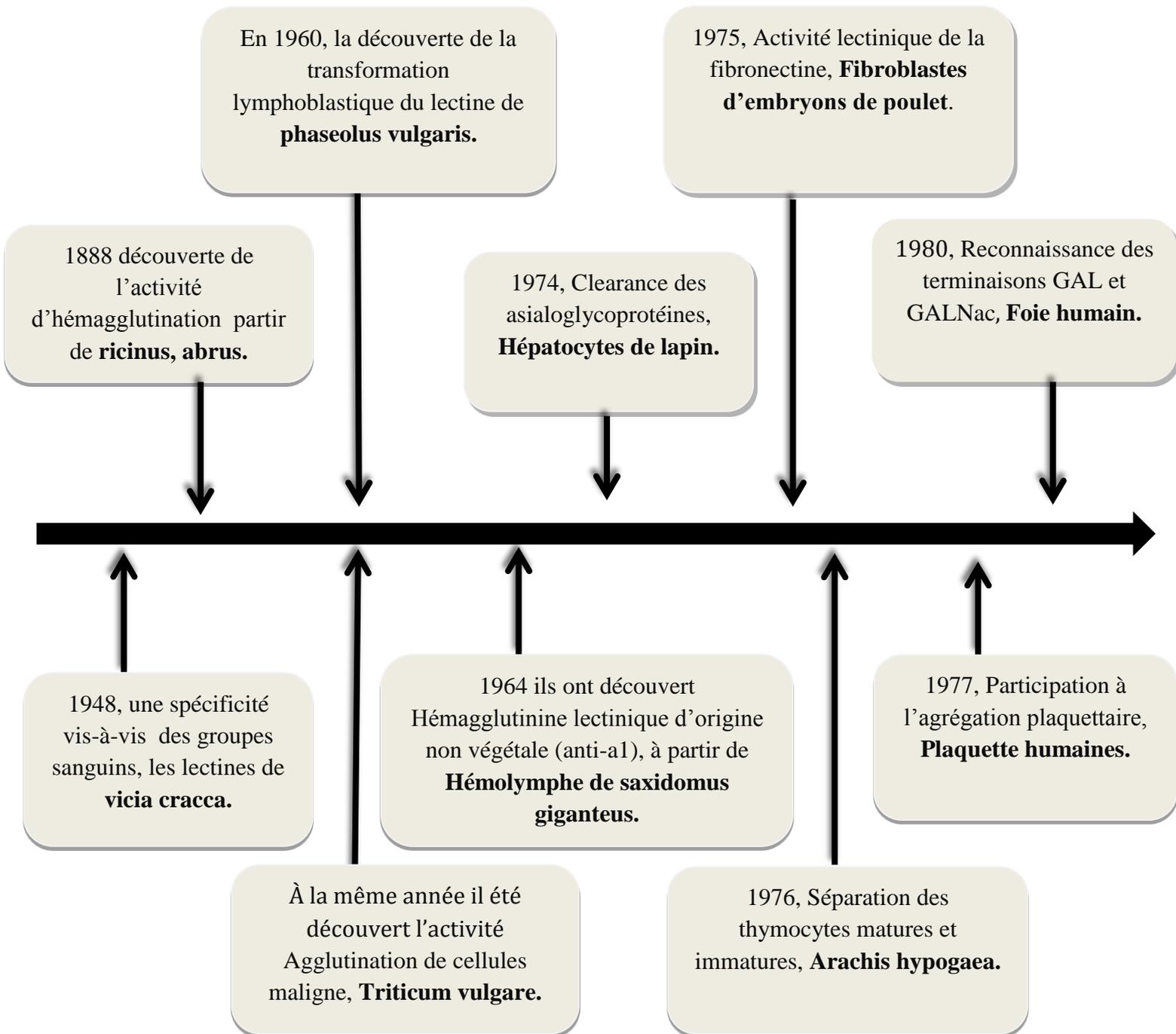


Figure12 : Représentation schématique de quelques étapes dans la découverte de l'activité biologique des lectines (Renato et col, 1991).

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 stimulé 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 des lectines est initiée par la fixation de diverses lectines, telles la MBL, sur des résidus glucidiques de membranes microbiennes, cette interaction permet l'activation des protéases MASPS (MBL-Associated Serine Protéase) (**Ayméric et Lefranc, 2009**).

La lectine liant le mannose (mannose binding lectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la voie des lectines 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 phagocytoses. La première étape consiste en l'adhésion des microorganismes à la membrane des phagocytoses 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

Chapitre II: Le système sanguin

1. Historique

Le sang a toujours fasciné les humains. La perte de sang accompagnant souvent la perte de vie, on a, de tous temps, tenté de restituer sinon la vie du moins la vigueur avec du sang. La notion de groupe sanguin est née de la découverte de l'agglutination d'hématies par les sérums. Il peut s'agir d'une allo-agglutination (**Landsteiner, 1900**) ou d'une hétéro agglutination (**Landsteiner et Alexander, 1940**). Ce phénomène d'agglutination est en réalité le résultat d'une réaction antigène-anticorps. En 1900, le médecin Autrichien Karl Landsteiner (1868-1943) observe que le plasma de différents sujets agglutine les hématies de nombreux autres sujets et, poursuivant ses études, il en déduit l'existence des groupes A, B et O. Un an plus tard, De Castillo décrit un quatrième groupe: AB (**Boucher, 2008; Danic et Lefrère, 2011**). En 1940 Landsteiner et son élève Wiener, sont à l'origine de la découverte du système rhésus. En injectant au lapin des hématies du singe *Macacus rhésus*, ils obtiennent des anticorps qu'ils dénomment anti-rhésus. Ces anticorps agglutinent les hématies de 85 % des humains dits rhésus positifs ou Rh+, les autres étant Rh- (**Brooker, 2001**).

2. Le système des groupes sanguins

Un système de groupes sanguins est un ensemble d'allo-antigènes portés par la membrane du globule regroupés en systèmes génétiquement déterminés et indépendants les uns des autres. Parmi les systèmes de groupes sanguins connus chez l'homme, les systèmes de groupes sanguins érythrocytaires sont actuellement les mieux connus, les principaux sont : les systèmes ABO et RH.

2.1. 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**) (**Tableau:02**).

Tableau 02: Les 4 phénotypes courants du système ABO (Béziat et al., 1996).

Groupe ABO	Antigène sur globules rouges	Anticorps dans le plasma
Groupe A (42%)	Ag A	Ac anti B
Groupe B (11%)	Ag B	Ac anti A
Groupe AB (4%)	Ag A et Ag B	Aucun
Groupe O (43%)	Pas d'antigène	Ac anti A et Ac anti B

2.2. Facteur Rh

Les antigènes de système Rh sont aussi importants que ceux de système ABO. Le facteur Rh (rhésus). Ainsi nommé parce qu'il a d'abord été étudié dans le sang du singe Rhésus. Est un système composé principalement des antigènes C, D et E (Ganong, 2005). Les personnes dans le sang desquelles cet antigène est sont dites Rh+, tandis que les autres sont Rh- (Boucher, 2008). (Figure:13).

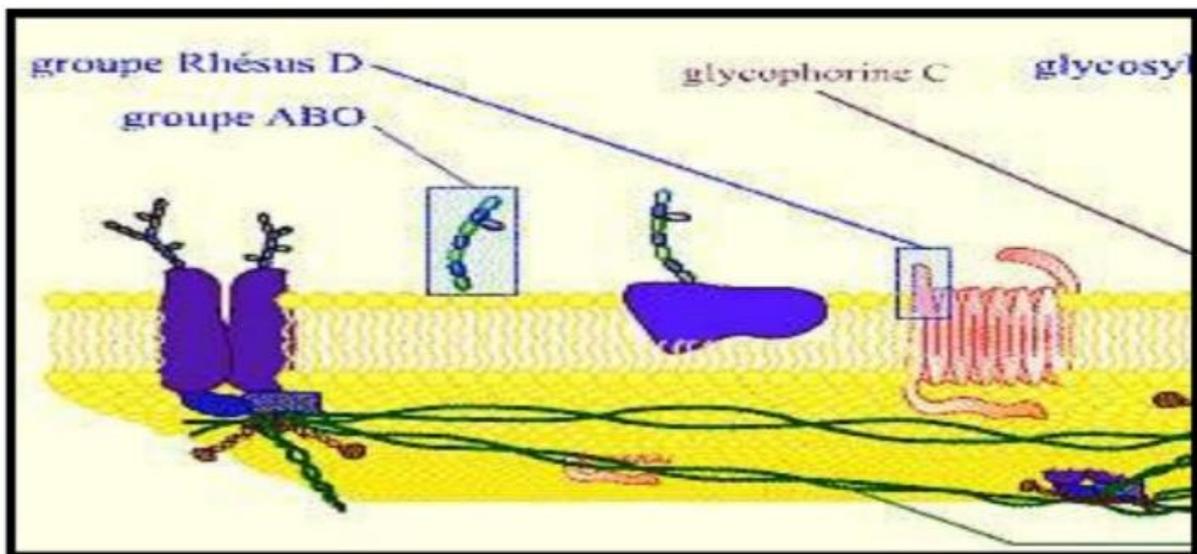


Figure 13: Représentation schématique de la distribution de group ABO et Rhésus sur la membrane d'une hématie (David Germanaud et al.,2003).

2.3. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Les antigènes du système ABO proviennent d'une famille de 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 une enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaîne oligo sacchridique 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:14).

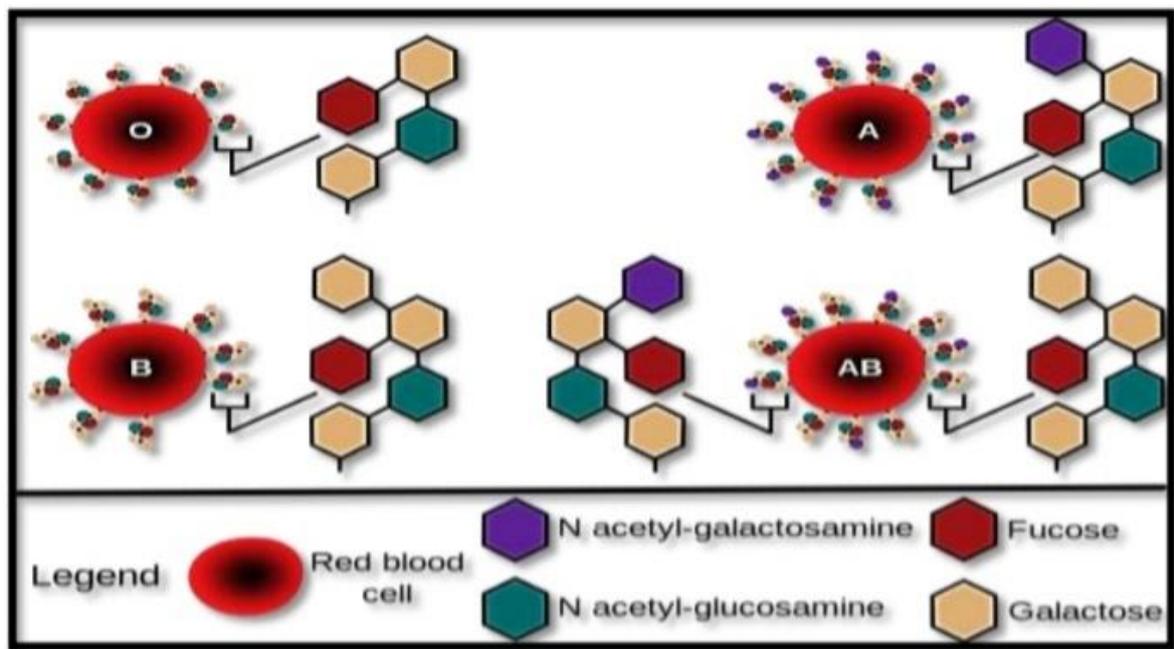


Figure14: Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Yazer Met al., 2006).

2.4. 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).
- ✓ 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).

2.5. Lectines spécifiques des groupes sanguins

Plusieurs lectines agglutinent les hématies des foies avec une spécificité de groupe sanguin (**tableau:03**).

Tableau 03: exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins (**Bird, 1974**).

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

Chapitre III :
Généralités sur la plante
« Arachis hypogaea »

Chapitre III: Généralités sur la plante utilisée**1. Généralités sur les plantes médicinales**

Toutes plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Sofowora, 2010**). Donc, une plante dite « médicinale » est une plante qui a des propriétés thérapeutiques (**Catier et Roux, 2007**).

L'utilisation des plantes ou « simple » est très ancienne, et pendant très longtemps elle a représenté pratiquement le seul moyen de soigner, basé sur l'empirisme. Actuellement grâce aux progrès scientifiques considérables enregistrés depuis la fin du XIXe siècle (essor de la chimie, technique d'analyse et l'extraction etc.). La thérapeutique est a beaucoup évolué pour arriver à sa forme actuelle qui utilise certains plantes comme matières premières (**Catier et Roux, 2007**).

2. Arachis hypogaea**2.1. Généralité**

Le genre *Arachis* est endémique d'Amérique du Sud. L'arachide cultivée (*Arachis hypogaea*) est issue d'une hybridation entre deux espèces sauvages, probablement *A. duranensis* et *A. ipaensis* (**Gillier et Silvestre, 1969**). Les arachides également appelés cacahuètes ou cacahouète, pois de terre et pinotte. C'est une plante de la famille des légumineuses (Fabaceae) au même titre que les haricots, les lentilles, originaire du nord-ouest de l'Argentine et du sud-est de la Bolivie. Sont des fruits à coque cultivé dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées ; ses graines oléagineuses sont extrêmement riche en graisses, contiennent aussi de grande quantité de protéines végétales, bien que ces dernières soient moins complètes que les protéines animales, riche en oligo-éléments et des minéraux (fer, magnésium, sélénium, phosphore, cuivre...etc.); riche également en acides gras insaturés, en fibres et en vitamines (B1, B3, B6 et E) et antioxydants, ce qui les rend intéressante pour la santé. L'arachide est très populaire à travers le monde, qu'elle soit nature, rôtie ou en tartina. La cacahuète, est consommée sous forme grillée et salée. Elle est aussi utilisée pour fabriquer du beurre et de l'huile, qui entrent dans la composition de nombreux produits industriels (**Gillier et Silvestre, 1969 ; Clavel et Gautreau, 1997 ; Schilling, 2003**).

Les arachides sont caractérisées par une teneur élevée en calories (100 grammes de cacahuètes (nature) représentent 623 calories et 631 calories pour la cacahuète grillée et salée.) En moyenne, les fruits à coque et graines oléagineuses apportent 517 calories aux 100 grammes. (<https://sante.journaldesfemmes.fr>).

2.2. Carte d'identité de l'arachide

Famille : légumineuses
 Origine : Amérique du Sud
 Saison : septembre/octobre
 Couleur : brune
 Saveur : douce et grasse (<https://www.passeportsante.net/fr>).

2.3. Position systématique

Tableau 04 : classification d'*Arachis hypogaea* (Carl linnaeus et carl von linné, 1753).

Régne	Plantae
Sous-régne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Faboideae
Genre	Arachis
Espèce	Arachis hypogaea



Figure 15: *Arachis hypogaea*

2.4. Description botanique de la plante

L'arachide est une plante annuelle à fleurs jaunes de 20 à 90 cm de hauteur. Les feuilles sont composées à deux ou trois paires de folioles membraneuses, ovales. Elles sont munies à leur base de stipules engainantes et les fleurs sont presque sessiles et apparaissent à l'aisselle des feuilles (Gillier et Sylvestre, 1969 ; Schilling, 2003). La corolle papilionacée est jaune orangée. Les étamines au nombre de neuf sont soudées en tube par leur filet. L'ovaire est inséré sur un support particulier, le gynophore (Gillier et Silvestre, 1969).

Après fécondation, l'ovaire est porté en terre par le développement du gynophore qui s'allonge en se courbant vers la terre par géotropisme positif. Ses fruits ont la caractéristique singulière d'être enterrés par la plante et de mûrir à une profondeur de 5 cm de la surface du sol. Ils se présentent sous la forme de gousses de 3 à 4 cm de long appelée coque sur le plan commercial, qui renferment chacune deux graines d'arachides. Les graines ovoïdes sont enveloppées dans un tégument secrouge (Wissuwa et Ae, 1999 ; Gillier et Sylvestre, 1969).

2.5. L'utilisation médicinale

Les cacahuètes ont pleins de bienfaits pour la santé mais elles sont à consommer modérément car elles sont extrêmement riches en graisses. Ses graines oléagineuses possède de grandes vertus énergétiques et nutritives ce qui les rend intéressante pour les sportifs et les enfants en période de croissance, elles sont également utiles en cas de fatigue physique ou du stress ; les cacahuètes permettrait ainsi de lutter contre les cancers et protéger le système cardiovasculaire puisqu'elle contient à la fois des bonnes graisses (mono et polyinsaturées, cardioprotectrices) et prévenir certaines pathologies chroniques, à condition de ne pas en manger plus de 30 grammes par semaine. Enfin permet également la réduction du risque de diabète de type 2 et la prévention des calculs biliaires. (<https://www.passeportsante.net/fr>)

2.6. Les inconvénients de l'arachide pour santé

Comme tous les fruits oléagineux (dont on fait de l'huile), les cacahuètes ont une teneur en graisses et donc en calories très élevée. Dès lors qu'elles sont grillées ou torréfiées, elles perdent une partie de leurs nombreuses qualités nutritionnelles (vitamines, antioxydants...). L'ajout de sel les rend moins intéressantes pour le système cardio-vasculaire et l'ajout de sucre augmente largement leur valeur calorique. (<https://sante.journaldesfemmes.fr>)

Si les cacahuètes ont des bienfaits sur la santé, elles sont déconseillé aux enfants raison du risque d'étouffement qu'elles peuvent occasionner mais aussi du risque d'allergie, l'arachide fait partie des 5 aliments responsables de 75% des allergies chez l'enfant avec les œufs, le lait de vache, le poisson, les noix car la cacahuète contient en effet des protéines au fort pouvoir allergisant, l'arachide est en effet la deuxième cause d'allergie alimentaire avant 3 ans et la première au-delà (L'allergie se déclare le plus souvent vers l'âge de 2-3 ans, qui correspond à la première exposition à l'allergène).

Les symptômes peuvent se conserver après l'ingestion d'une cacahuète, d'un produit alimentaire en contenant comme les gâteaux apéritifs ou les cacahuètes soufflées par exemple ou après un contact cutané, ils peuvent se traduire par un eczéma ou une poussée d'urticaire mais aussi par un œdème, un choc anaphylactique, une crise d'asthme et du trouble digestifs. (<https://sante.lefigaro.fr>)

MATERIELS ET METHODES

Matériels et méthodes

Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1 Le matériel vivant

Les hématies utilisées sont issues de :

- Le sang du lapin est collecté à partir des lapins provenant au niveau de l'animalerie de L'Université de Constantine1.
- Le sang humain collecté à partir de laboratoire d'analyse médicale de polyclinique Dr.benkadri Hocine située à Ali Mendjeli, Constantine.

I.2 Le matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les graines d'une plante médicinale. Il s'agit de : *Arachis hypogaea*. Les graines d'*Arachis hypogaea* ont été récoltées de la région d'Oued Souf au mois d'octobre 2020(Photo 01).



Photo 01: les graines d'*Arachis hypogaea*

II. Méthodes

II.1 La préparation de la plante

- ❖ On mesure le poids moléculaire des graines d'*Arachis hypogaea* avant et après le séchage (Photo02).

Matériels et méthode



Photo 02 : Les mesures des graines d'*Arachis hypogaea* avant et après séchage.

- ❖ **Séchage :** Les graines d'*Arachis hypogaea* ont été séchées dans l'étuve à température ambiante 40°C pendant 24h (**Photo 03**).



Photo 03 : Les graines sèches d'*Arachis hypogaea*.

- ❖ **Broyage :** Les graines ont été broyées dans un broyeur (mixeur) jusqu'à l'obtention d'une poudre, cette dernière a été conservé dans un emballage en verre fermé (**Photo 04**).

Matériels et méthodes

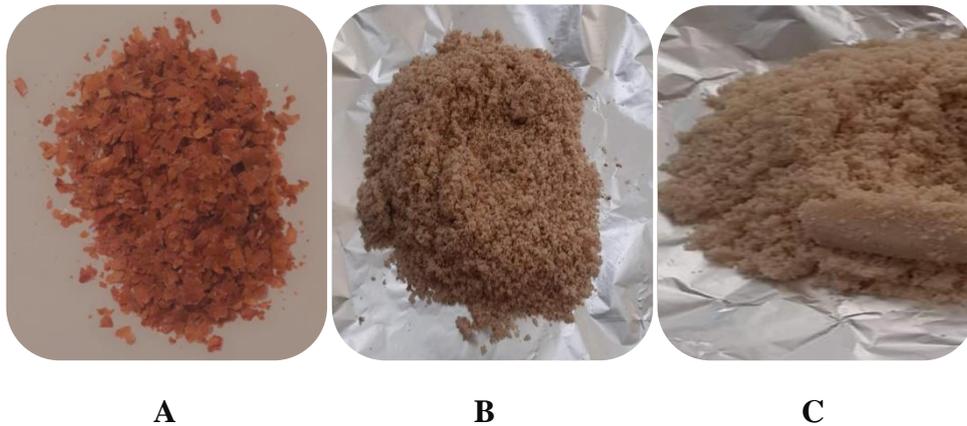


Photo 04 : La poudre d'*Arachis hypogaea* ; A : les téguments secs rouges d'*Arachis hypogaea*, B : les graines ovoïdes enveloppées dans un tégument sec rouge, C:les graines sans ses téguments.

II.2L'étude biologique

II.2.1L'extraction des lectines par la solution tampon

Principe

Cette opération réalisée afin de récupérer des substances hydrosolubles à partir d'une poudre de la plante (*Arachis hypogaea*) à l'aide d'une solution tampon phosphate di-sodique (PBS).

La Technique d'extraction

36 ml du tampon PBS (0,1 M pH 7,4) (**Annexe 01**) a été ajouté à 2 g de poudre obtenues à partir des téguments secs rouges d'*Arachis hypogaea* et 10 g de poudre des graines d'*Arachis hypogaea* (sans et avec ses téguments secs rouges) ont été mises dans des flacons contenant chaque un une 30 ml solution tampon PBS (0,1 M pH 7,4), l'ensemble est agité, et laissé pendant 24 h à 4°C, après la centrifugation de la suspension à 5000 tour /minute pendant 15 minutes, le surnageant a été récupéré et conservé au frais. Ce surnageant formé, représente l'extrait brut, qui est d'abord été testé sur les hématies, puis passé dans la colonne de chromatographie (**Figure 16**).

Matériels et méthodes

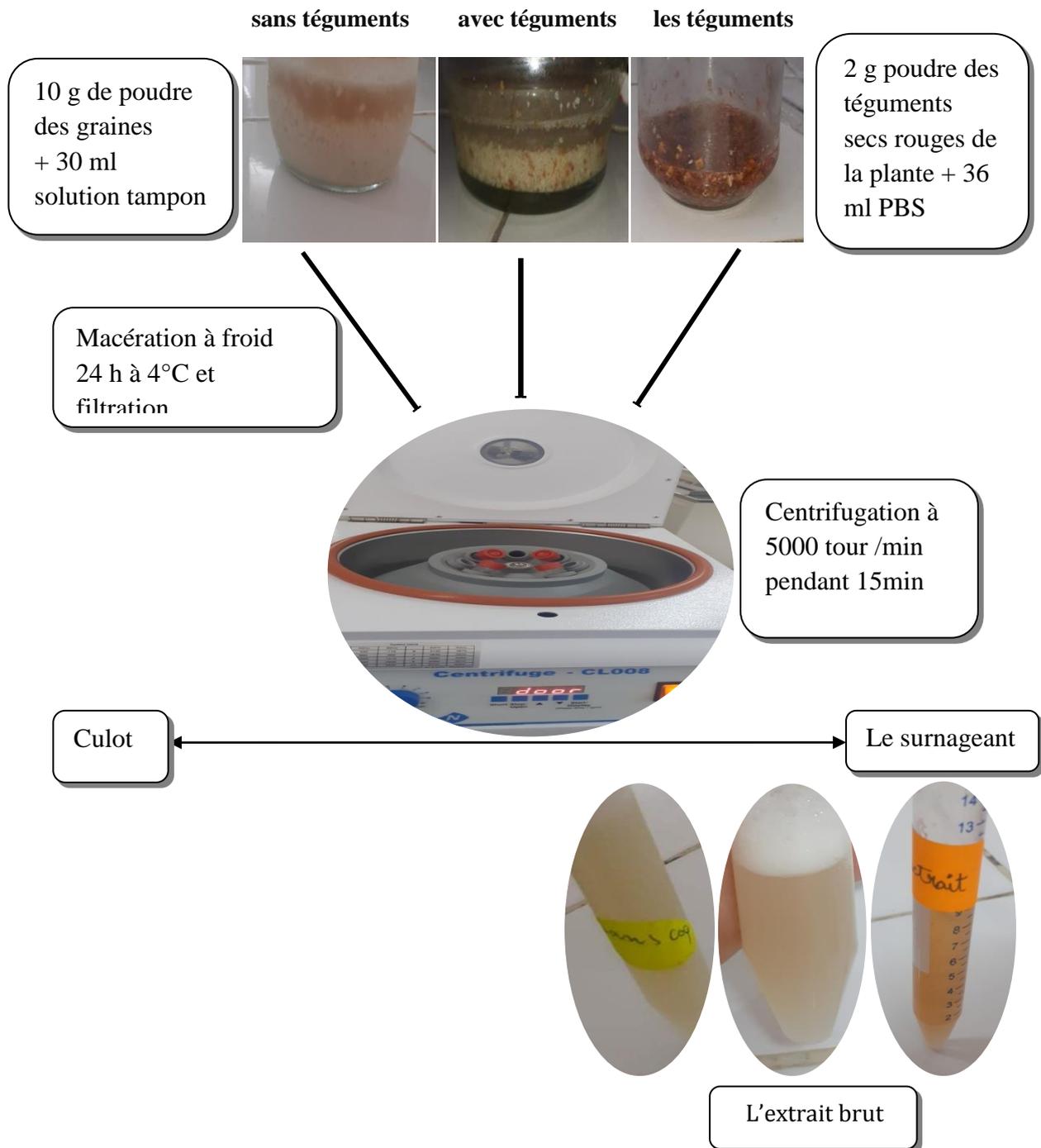


Figure 16: Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres d'*Arachis hypogaea*

II.2.2 Le test d'hémagglutination

Le test d'hémagglutination a été effectuée pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extraits. Ce test est basé sur l'observation de l'agglutination, et donc de la précipitation des érythrocytes en présence de lectine. Il a été porté sur les hématies du lapin.

Matériels et méthodes

➤ Préparation des hématies à 3%

Les hématies du lapin sont collectées pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extraits, et les hématies de groupe sanguins humains ABO pour tester la spécificité des lectines des extraits au groupe sanguin ABO. Les hématies collectées ont été au préalable soumises à un lavage, puis à une dilution.

a) Lavage des hématies

Une quantité de sang (environ 3 ml) a été posé dans un tube. Après avoir bien bouché il a été centrifugé à 3000 tours/minute pendant 5 minutes, Le surnageant a été éliminé (le plasma, l'anticoagulant et la plupart des globules blancs) et remplacé par une solution physiologique ; le chlorure de Sodium 0,9% (NaCl) (**Annexe 02**) qui a été ajouté au culot (hématies tassées au fond du tube) jusqu'au trait limite de tube et à nouveau centrifugé. Cette opération de lavage a été répété trois ou quatre fois jusque l'obtention d'un surnageant claire et bien sûr dans les mêmes conditions.

b) Dilution des hématies

Après avoir terminé le lavage des globules rouges, elles sont diluées à l'aide d'une solution saline d'élution ; le chlorure de Sodium 0,9% (NaCl), sachant que 1,5 ml des hématies dans un 48,5 ml d'eau physiologique (NaCl), et cela afin d'obtenir d'hématies à 3%.

➤ La technique d'hémagglutination

Dans chaque puits d'une microplaque 50µl des hématies 3% du lapin ont été ajouté à 50µl d'extrait brut de notre plante. Après 1 h l'agglutination est observée par l'œil nu et à l'aide d'un microscope optique (**G×40**).

II.2.3 Le teste de limite d'hémagglutination

Ce test permet de déterminer le pouvoir agglutinante et en déduire le titre en lectine.

La technique

Dans une première étape, 50µl de tampon ont été déposés dans chaque puits, ensuite, un volume de 50µl d'extrait a été ajouté au premier puits, puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants.

Un volume de 50µl des hématies a été ajouté aux 50µl d'extrait d'éluee dans chaque puits. La lecture d'activité hémagglutinante a été réalisée après 1h d'incubation à une température ambiante.

II.2.4 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

L'étude a été effectuée sur les antigènes des hématies humains appartenant au système sanguin au groupe ABO. La spécificité de groupe sanguin de l'extrait a été établie à l'aide des érythrocytes des différents groupes du système ABO.

Matériels et méthodes

- ❖ S'il y a une activité d'agglutination de la lectine avec les différents groupes sanguins: **lectine non spécifique.**
- ❖ S'il y a une activité d'agglutination de la lectine avec un seul groupe sanguin: **lectine spécifique.**

La technique

Dans une microplaque, 50 µl du tampon PBS a été déposé dans chaque puits ensuite, un volume de 50µl d'extraits a été ajouté au premier puits de chaque ligne, puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants, après 50 µl des hématies 3 % de chaque groupe qui se préparés au part avant par un lavage avec le NaCl a été ajoutées dans chaque puits (chaque ligne correspond à un groupe sanguin). La lecture d'agglutination des hématies humaines a été réalisée par l'œil nu et à l'aide d'un microscope optique (**G×40**) après 1 heure d'incubation à température ambiante.

II.2.5 Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides

Ce test a été effectué sur les extraits bruts ayant présentées une spécificité pour un ou plusieurs saccharides qui inhibent leur activité d'hémagglutination. Il a été réalisé à fin de déterminé la concentration minimale à laquelle a lieu l'inhibition de l'hémagglutination.

La technique

Dans les puits d'une microplaque, 25µl du tampon a été déposé dans chaque puits, puis un volume de 25 µl de sucre (inhibiteur) a été ajouté au premier puits de chaque ligne (chaque ligne correspond à un saccharide: glucose, Galactose, Maltose, lactose, arabinose, cellobiose, glucosamine Hcl, mannose.)(**Annexe 03**), ensuite une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants, après 25 µl de l'échantillon diluée par le tampon PBS (**Annexe 04**) a été ajoutée dans chaque puits, le mélange est incubé minimalement 30 min à température ambiante, cela permettre de lectine de reconnaître le sucre. Après l'incubation du mélange, 50 µl des hématies du lapin 3% ont été rajoutées, la lecture a été effectuée après 1 heure à l'œil nu à température ambiante.

II.2.6 L'effet de pH sur l'hémagglutination

Ce test a été effectué afin de déterminer le PH favorable pour l'activité d'hémagglutination. Dans 9 tubes à essai une petite quantité de notre plante estimée de 0.02g a été mis dans un volume de 1ml de tampon à différents valeurs de PH (1,36. 2. 3.4. 8 ,11. 9. 10. 11 et 12), Après 24 heures d'incubation à 4°C, une centrifugation a été réalisé (5000 tours pendant 5 minutes) d'où le surnageant a été récupéré, Après un test d'hémagglutination a été effectué sur le surnageant.

La technique

Dans une microplaque, 50 µl du tampon des PH variables sont déposés dans chaque puits, ensuite un volume de 50 µl d'extrait (le surnageant) a été ajouté au premier puits, après une

Matériels et méthodes

série de double dilution a été effectuée dans les puits suivants de chaque ligne (chaque ligne correspond à un PH donné), enfin 50 µl des érythrocytes de lapin a été ajouté au mélange. La lecture a été réalisée à l'œil nu après 1 heure d'incubation à température ambiante.

II.2.7 L'effet de température sur l'hémagglutination

Six tubes à essai, contenant chacun une aliquote de l'extrait brut (200µl d'extrait) ont été incubés à des degrés différents de température (20, 40, 60, 80, 100, 120 °C) dans un bain marie pendant une heure de temps. Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à la température ambiante (25°C), enfin le test d'hémagglutination a été fait.

II.3 L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de Sephadex G50

Cette étape a été réalisée pour éliminer les impuretés, et améliorer la pureté de notre extrait.

II.3.1 La préparation de la colonne

4g de gel Sephadex G50 qui forme la phase fixée de la séparation, a été mis en suspension dans la solution tampon (PBS en excès pH 7,4), le mélange a été incubé pendant 48 h à température ambiante, afin d'obtenir un gel 4%. Puis il a été coulé dans une colonne placée sur un support (jusqu'à la moitié de la colonne). La colonne doit être homogène et dépourvue des bulles d'air.

II.3.2 La séparation des lectines

Après la stabilisation de la colonne et le lavage avec le tampon PBS (0.1 M, pH 7.4), le surnageant de l'échantillon des pigments d'*Arachis hypogaea* ont été récupérés, puis une quantité de 2 ml de l'extrait brut a été versé lentement dans la colonne de Sephadex G50, ensuite il a été recueilli par l'élution avec le tampon.

Dans 90 tubes secs placés respectivement dans un portoir, des fractions de séparation de 4 ml par tube ont été récupérées.

Les extraits ainsi récupérés ont été testés sur les hématies du lapin, pour assurer que l'activité hémagglutinante est améliorée après la chromatographie sur colonne.

II.3.3 La spectrophotométrie à UV

L'absorbance des extraits récupérés à partir de la chromatographie sur colonne a été mesurée dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est de 280 nm pour quantifier les lectines séparées par chromatographie sur colonne, Puis la courbe d'absorbance a été tracée en fonction des tubes.

RESULTATS

Résultats

Résultats

I. Les résultats d'étude biologique

I.1 Le test d'hémagglutination

La plupart des lectines sont capables d'interagir avec des globules rouges. Si une solution des hématies est placée dans un puits, la sédimentation naturelle conduit à un dépôt des hématies au fond du puits. L'ajout d'une lectine permet la formation d'un réseau entre les hématies et les lectines, ces interactions forment une suspension gélatineuse homogène, ceci correspond au phénomène d'hémagglutination, les résultats ont été présentés dans le (tableau05).

Tableau 05: L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut d'*Arachis hypogaea*

Plante		Tests d'agglutination
<i>Arachis hypogaea</i>	téguments secs rouges	+++
	les graines avec ses téguments	-
	seulement les graines sans ses téguments	-

+++ : très forte agglutination, - : absence d'agglutination

- ❖ Parmi les trois extraits de la plante utilisée, un seul extrait qui est fortement agglutiné les hématies (l'extrait des téguments secs rouges d'*Arachis hypogaea*), les deux autres extraits d'*Arachis hypogaea* n'ont données aucune agglutination décelable, ni à l'œil nu ni au microscope optique. (Tableau:05), et (Photo 05) montre l'observation microscopique et à l'œil nu de l'agglutination d'extrait qui nous a donné un test positif.



Observation microscopique (G×40)

A l'œil nu

Photo 05 : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait d'*Arachis hypogaea*.

Résultats

I.2 Le teste de limite d'hémagglutination

La limite d'hémagglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination. Les résultats ont été présentés dans le (tableau06)

Tableau 06 : L'activité hémagglutinante d'*Arachis hypogaea*.

Dilution	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096
Extrait							28	56	12	24	48	096
<i>Arachis hypogaea</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-

+++ : Très forte agglutination, ++ : Forte agglutination, + : Faible agglutination, - : absence d'agglutination

❖ L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Arachis hypogaea* a été 1:8(256) (Photo:06).

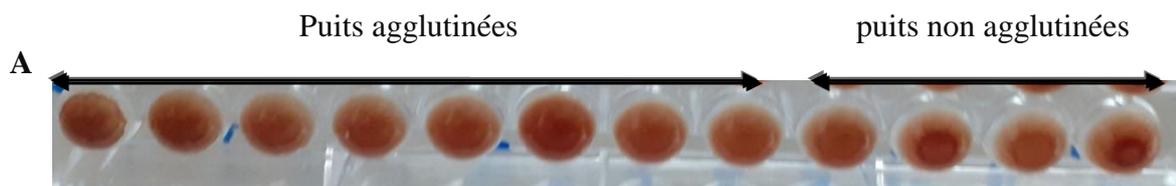


Photo 06 : La limite d' hémagglutination d'*Arachis hypogaea*.

I.3 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

Les résultats d'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut de notre plante ont été décrits dans le tableau suivant.

Tableau 07 : L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut d'*Arachis hypogaea*.

Groupe sanguin	A	B	AB	O
plante				
<i>Arachis hypogaea</i>	+	+	+	+

+ : présence d'agglutination - : absence d'agglutination

Résultats

- ❖ Les résultats de **tableau (07)** montrent que la lectines *d'Arachis hypogaea* est donnée une très forte agglutination avec tous les hématies de système ABO.

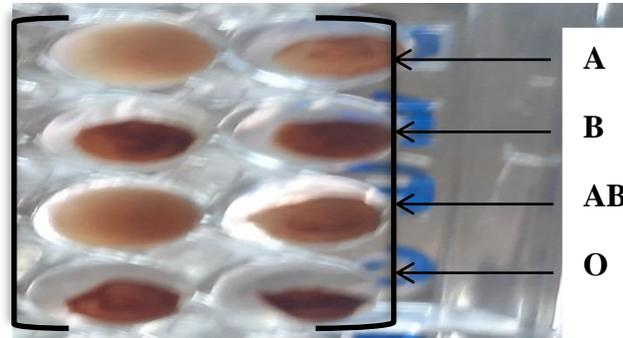


Photo 07: L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut *d'Arachis hypogaea*.

I.4 Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides

A /Le test d'inhibition a été effectué avec certains saccharides, pour déterminer la spécificité d'extrait aux glucides. L'agglutination est absente dans le cas où la lectine va fixer l'inhibiteur plutôt que les hématies, les résultats obtenus ont été décrits dans le (**tableau 08**).

Tableau 08: test d'inhibition d'extrait *d'Arachis hypogaea* par des sucres simples.

Sucre	Glucose	Cellobiose	Galactose	Lactose	Glucosamine hcl	mannose	maltose	arabinose
Extrait								
Arachis hypogaea	+++	++	+	-	-	-	-	-

+: inhibition d'activité d'hémagglutination, - : absence d'inhibition (agglutination),

+++ : Inhibiteur fort, ++ : Inhibiteur moyen, + : inhibiteur faible

- ❖ D'après les résultats de tableau: le glucose, cellobiose, et galactose ont été influencé l'agglutination des érythrocytes de lapin en présence des lectines provenant *d'Arachis hypogaea* par une inhibition d'activité hémagglutinante.
- ❖ Quant aux autres sucres comme le lactose, glucosamine hcl, mannose, maltose et arabinose, ils n'ont pas été influencé l'agglutination des érythrocytes de lapin en présence des lectines provenant de la plante *d'Arachis hypogaea*.

Résultats

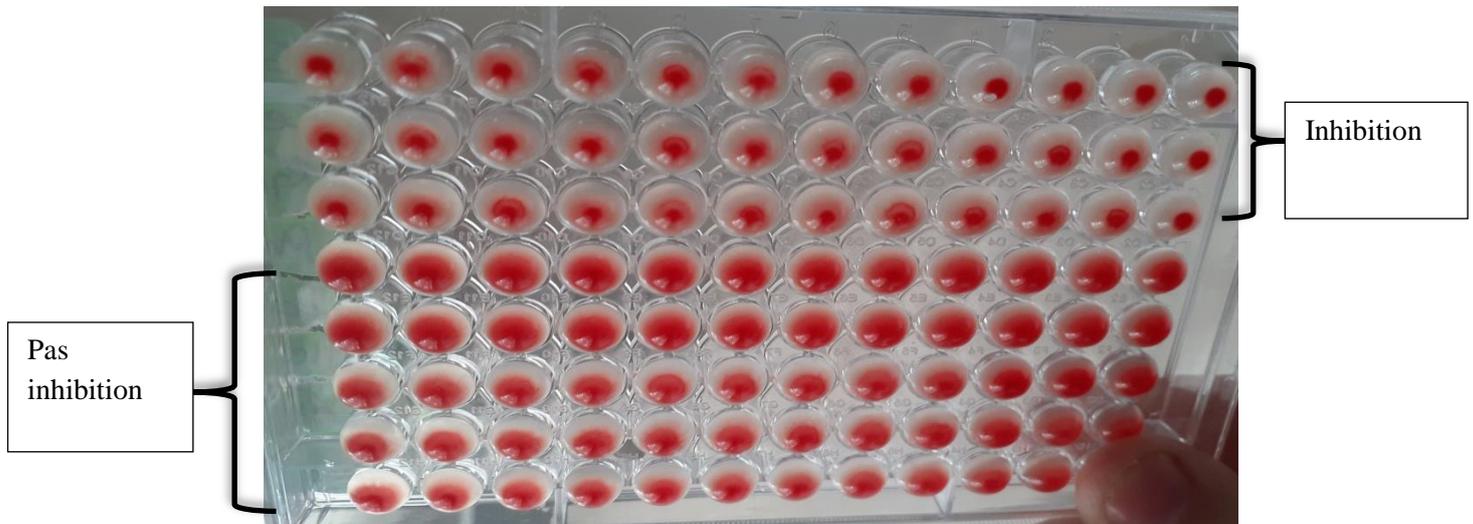


Photo 08 :L'inhibition d'agglutination par différents saccharides.

B / Afin de déterminer la concentration minimale à laquelle l'inhibition de l'agglutination n'est plus observée et de déduire par cela avec quel sucre nos lectines présentent une plus grande affinité, un test de la limite d'inhibition de l'hémagglutination par les saccharides (glucose, cellobiose et galactose) a été réalisé, les résultats obtenus ont été représentés dans le tableau suivant :

Tableau 09 : Les concentrations minimales en glucose, galactose et cellobiose, provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait d'*Arachis hypogaea*.

Dilution sucre	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512	1 : 1024	1 : 2048	1 : 4096
GLUCOSE	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CELLOBIOSE	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
GALACTOSE	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- : inhibition, + : agglutination

Résultats

La double dilution

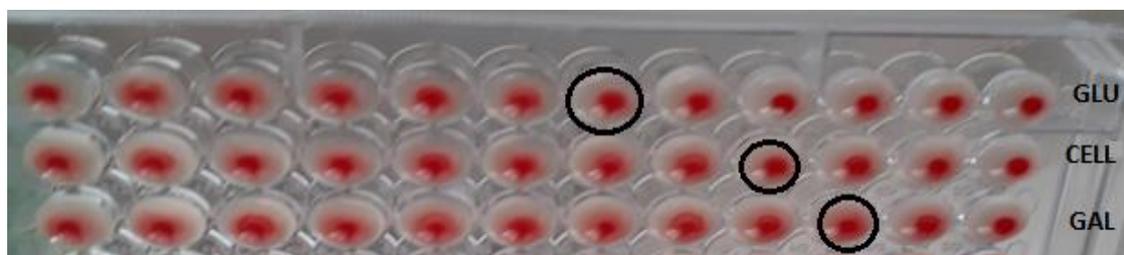


Photo 09: Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination de l'extrait d'*Arachis hypogaea* avec trois monosaccharides : Glucose, Cellobiose, Galactose. (○) Fin d'inhibition.

- ❖ La concentration minimale de galactose et cellobiose capable d'inhiber l'activité hémagglutinante de l'extrait d'*Arachis hypogaea* a été respectivement de l'ordre **50g/ml** au niveau du 3^{ème} puits et **25 g/ml** dans le 4^{ème} puits.
- ❖ Alors que le Glucose présente une concentration minimale plus forte qu'elle a été estimée de **6, 25 g/ml** au niveau du 6^{ème} puits.

I.5 L'effet du pH sur l'hémagglutination

Tableau 10 : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d'*Arachis hypogaea*.

Puits \ PH	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096
1,36	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
3	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	++	++
4	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	++	++
8,11	++	++	++	++	+	+	/	+	++	++	++	++
9	++	++	++	++	+	+	/	+	++	++	++	++
10	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	++	++
11	++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
12	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

++: Forte agglutination, +: faible agglutination, -: absence agglutination, *: hémolyse.

Résultats

Remarque :

/ : faute de manipulation in vitro

- ❖ Nos résultats ont montrées que l'extrait *d'Arachis hypogaea* a une activité d'agglutination forte dans les douze puits de l' intervalle allant de [3 à 10], dans lequel l'activité a été forte dans les quatres premiers et derniers puits qui s'affaiblit par la suite dans le cinquième puits jusqu'au huitième .
- ❖ par contre dans le ph [11] l'agglutination de notre lectine persiste comme même jusqu'au huitième puits qui disparaît au niveau de neuvième puits, ainsi que l'extrait a été remarquablement hymolysés dans le ph [1, 2, 12].

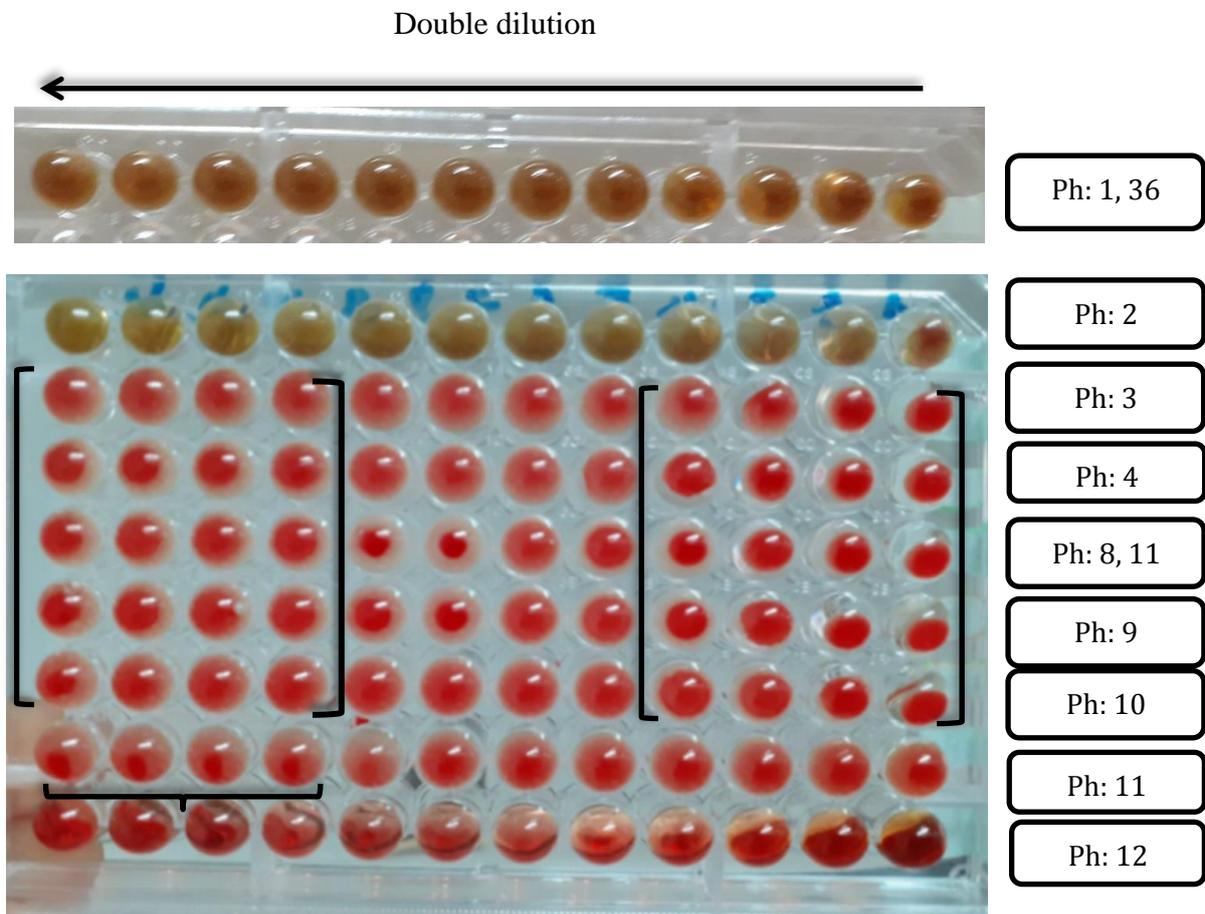


Photo 10 : Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination de l'extrait *d'Arachis hypogaea*,

([]): Présence d'agglutination, (⊔): Inhibition d'agglutination.

Résultats

I.6 L'effet de température sur l'hémagglutination

Les résultats obtenus après l'exposition de notre extrait à différentes températures ont été présentés dans le **(tableau 11)**.

Tableau 11: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d'*Arachis hypogaea*.

Température \ Extrait	20°C	40°C	60°C	80°C	100°C	120°C
<i>Arachis hypogaea</i>	+++	+++	+++	++	++	++

+++ : Très forte agglutination, ++ : Forte agglutination

- ❖ Le traitement thermique d'extrait d'*Arachis hypogaea*, a réduit significativement leur activité hémagglutinante, jusqu'à 120 °C, mais elle n'a été pas suffisante pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante **(Photo 11)**.

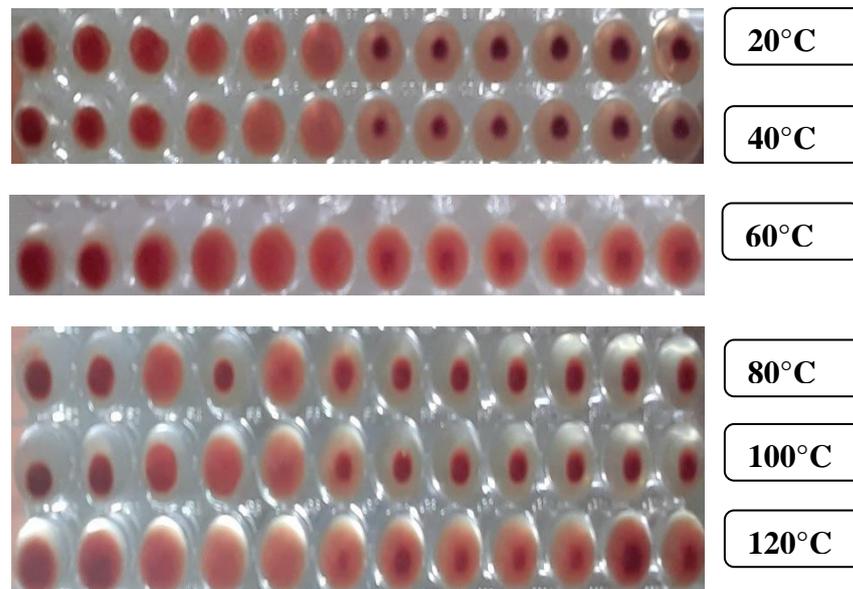


Photo 11: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d'*Arachis hypogaea*.

Résultats

II. la séparation des lectines par chromatographie sur colonne de Séphadex G 50

La chromatographie sur colonne de Séphadex G50 a été permise à fin de déterminer la purification partielle de notre échantillon et extraire dans 90 tubes. Après, les fractions ont été mesurées à l'aide d'un spectromètre à 280nm, les résultats obtenus ont été décrits dans le tableau suivant:

Tableau 12: Résultats de l'absorbance de 90 fractions obtenues après la purification partielle des Protéines par chromatographie sur gel d'exclusion Séphadex G50.

fraction	absorbance	fraction	absorbance	fraction	absorbance
1	0,019	31	0,106	61	0,122
2	0,018	32	0,111	62	0,122
3	0,012	33	0,110	63	0,122
4	0,012	34	0,110	64	0,112
5	0,027	35	0,110	65	0,117
6	0,033	36	0,110	66	0,118
7	0,034	37	0,109	67	0,163
8	0,016	38	0,109	68	0,114
9	0,008	39	0,109	69	0,115
10	0,008	40	0,109	70	0,107
11	0,009	41	0,140	71	0,107
12	0,023	42	0,116	72	0,107
13	0,040	43	0,116	73	0,102
14	0,066	44	0,115	74	0,095
15	0,109	45	0,115	75	0,096
16	0,150	46	0,114	76	0,095
17	0,183	47	0,115	77	0,086
18	0,194	48	0,114	78	0,086
19	0,179	49	0,114	79	0,085
20	0,156	50	0,114	80	0,066
21	0,130	51	0,114	81	0,069
22	0,123	52	0,114	82	0,045
23	0,108	53	0,120	83	0,027
24	0,101	54	0,120	84	0,036
25	0,101	55	0,120	85	0,009
26	0,100	56	0,120	86	0,008
27	0,101	57	0,121	87	0,005
28	0,105	58	0,121	88	0,001
29	0,105	59	0,121	89	0,001
30	0,106	60	0,122	90	0,000

Résultats

- ❖ Afin d'obtention des résultats de l'absorbance par le spectrophotomètre à UV des fractions séparées de l'échantillon, la courbe a été tracée (**Figure 17**).

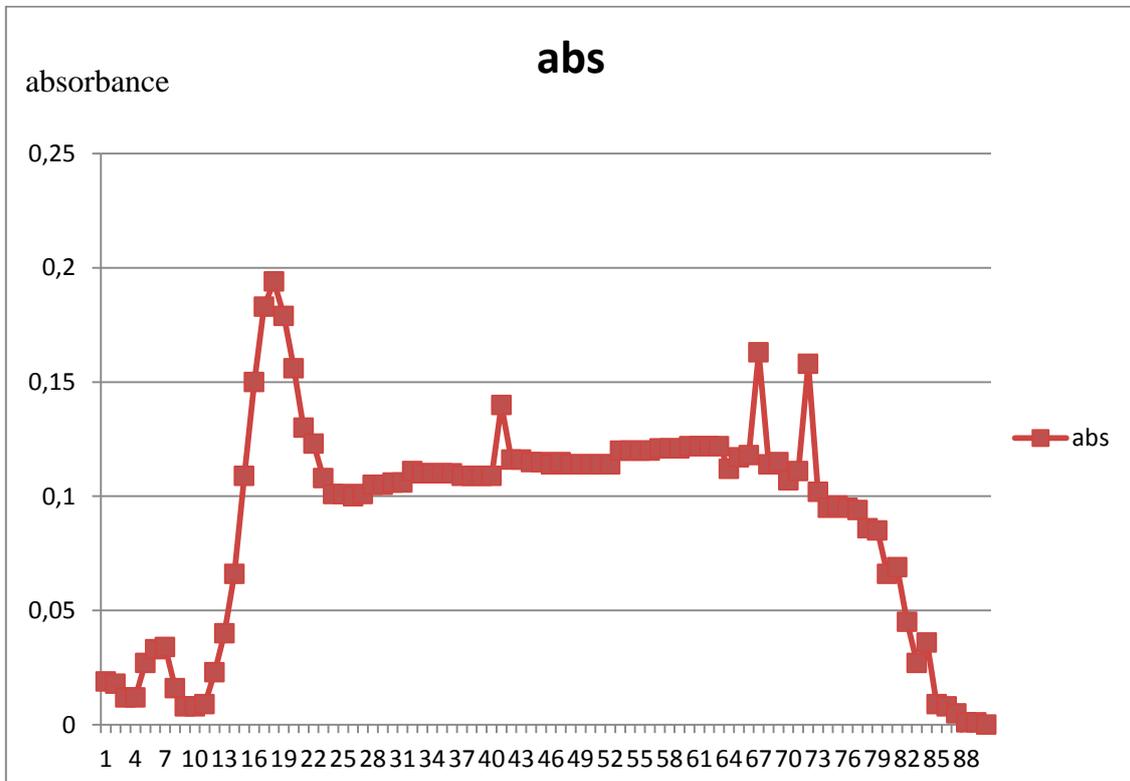


Figure 17: La courbe d'Absorbance de l'extrait d'*Arachis hypogaea* après leur passage à travers la colonne de Séphadex G50.

Eluant : Tampon PBS (0.1 M, PH 7,4).

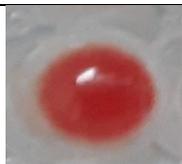
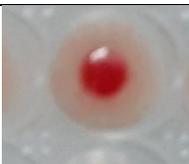
Volume de fraction : 4 ml/tube.

Absorbance : 280 nm.

- ❖ La séparation par chromatographie sur colonne de Séphadex G50 d'extrait d'*Arachis hypogaea* a donné quatre pics; un pic fort dans le 18ème et trois pics proches correspondent le 41ème, 67ème et le 72ème tube.
- ❖ D'après ce qui a été indiqué dans le chromatogramme, un test d'hémagglutination a été réalisé sur les tubes correspond aux pics formés pour identifier l'existence des lectines dans les fractions obtenues.

Résultats

Tableau 13: résultats du test d'hémagglutination réalisé avec les fractions des pics obtenues après chromatographie

fractions	18	41	67	72
Absorbance	0,194	0,140	0,163	0,158
Test d'hémagglutination				

- ❖ D'après le tableau, l'activité hémagglutinante a été présentée dans le 19ème tube par contre dans 41 ème, 67 ème et le 72 ème l'activité a été absente.

DISCUSSION

Discussion

Le travail que nous avons réalisé, rentre dans le cadre de chercher la présence des lectines et leur extraction et aussi l'étude biologique de phytoagglutinines qui sont les lectines. Dans un premier temps, nous avons testé l'existence de lectine au niveau des graines de notre plante médicinale.

Nous avons utilisé les hématies de lapin incubé avec l'extrait brut que nous avons récupéré à partir des graines de notre plante à l'aide d'une solution tampon selon le schéma que nous avons décrit (**Figure16**). Une fois cette présence des lectines a été établie, nous avons les testées biologiquement, ensuite on a procédé à la chromatographie sur colonne.

Les lectines ont été découvertes par leur capacité à agglutiner les érythrocytes, et reste toujours la méthode la plus simple et la plus pratique pour détecter la présence des lectines (**Laija et al., 2010**).

Nous avons testé l'activité hémagglutinante de l'extrait de notre plante médicinale. L'extrait d'*Arachis hypogaea* montre une très forte agglutination vis-à-vis des hématies de lapin, cette agglutination a été observée à la fois à l'œil nu et au microscope ce qui prouve que l'*Arachis hypogaea* contient des lectines, L'interaction entre les lectines et les globules rouges, se manifeste généralement lors du dépôt des lectines au niveau du puits contenant les hématies, ces dernières vont sédimenter au fond du puits dès lors dépôt ; alors que les lectines vont interagir avec elles, et former un amas homogène sous forme d'une phase gélatineuse ; c'est le phénomène d'hémagglutination.

La lectine au niveau de la plante s'attache au récepteur sur la surface des hématies, et parce qu'il est polyvalent, forme un réseau de globules rouges qui se déposent en couche fine, rosée, ce résultat est observé au microscope: on parle d'hémagglutination positive. En absence de lectine, les cellules roulent au fond du puits où elles s'accumulent en un bouton rouge dense: l'hémagglutination est négative. Le potentiel d'hémagglutination des lectines a été étudié en utilisant des érythrocytes natifs de lapin ce qui a montré une bonne hémagglutination. C'est résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites à partir des racines des plantes (**Necib et al., 2014**) ainsi qu'à ceux 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**).

Dans le but d'évaluer l'activité hémagglutinante de l'extrait d'*Arachis hypogaea* nous avons réalisé le test de limite d'hémagglutination. L'extrait d'*Arachis hypogaea* a montré une très forte agglutination vis-à-vis des globules rouges lors de sa dilution au niveau des 1^{er} jusqu'à 6^{ème} puits alors qu'elle diminue au niveau des 2 puits qui suivent (7^{ème} jusqu'à 8^{ème} puits) et disparaît complètement au niveau des puits suivants (9^{ème} jusqu'au 12^{ème}) ; C'est résultats ont été similaires à ceux de *Terfezia bouderei* qui a montré une forte agglutination allant jusqu'au 7^{ème} puits (128 UH.ml-1) (**Zitouni et al, 2014**). Alors que l'absence d'agglutination au niveau des autres puits est due à la dilution effectuée, donc les fractions contenues sont des diluâtes de l'extrait brut.

Discussion

Dans le but d'étudier la spécificité de notre extrait à des hématies humaines et de trouver un extrait spécifique à un seul groupe et par conséquent, leur utilisation comme nouveau réactif, nous avons réalisé le test d'agglutination sur les hématies humaines (ABO).

L'extrait d'espèce *Arachis hypogaea* agglutine assez fortement tous les types de groupe sanguins humain, cette poly agglutinabilité est due au faite que la lectine reconnaît le même sucre sur la membrane globulaire des différent groupe sanguin, nous pouvons alors classer notre lectine dans la catégorie des lectines « **non spécifiques** », cela indique que nous ne pouvons pas utiliser la lectine d'*Arachis hypogaea* comme réactif de groupage. Ces résultats ont été similaires à ceux des lectines purifiées à partir de *Calycotome spinosa* et *Urtica didica* L qui ont été présentées une activité avec les groupes sanguins du système ABO (Necib et al., 2015).

L'effet inhibition sur l'activité hémagglutinante des lectines par les glucides est due de leurs compétitions avec les érythrocytes sur les sites de liaisons de la molécule du lectine. Ce qui interfère l'attachement de ces dernières sur la structure glucidique présente à la surface des hématies (Daoudi et al., 2014).

Pour déterminer la spécificité de nos extraits vers une structure glucidique particulière, on a réalisé un test d'inhibition de l'hémagglutination 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 purifications.

D'après les résultats obtenus le glucose, cellobiose et galactose ont un effet inhibitrices sur l'activité hémagglutinante ceci dit que ces derniers se sont attachés aux lectines et ont occupés le/les sites actifs (domaines de reconnaissance) censés être occupés par les sucres présents sur la surface cellulaire des érythrocytes, sur ce nos lectines présentent une affinité pour ces sucres. Notre extrait a la même propriété de *Bryopsis plumosapre* qui reconnaisse spécifiquement le glucose et le galactose (Necib et al., 2015).

Quant aux autres sucres le lactose, glucosamine hcl, mannose, maltose et arabinose n'ont pas influencé l'agglutination des érythrocytes de lapin en présence des lectines, ceci veut dire que ces dernières n'ont aucune affinité pour ces saccharides.

Le test de limite d'inhibition d'hémagglutination permet d'évaluée la concentration minimale de glucide induit l'inhibition de l'activité hémagglutinante (MIC), des deux espèces ayant présentés une spécificité pour les monosaccharides, pour cette raison des doubles dilutions d'un ligand en présence d'une concentration constante d'extraits de plante et des globules rouges ont été effectuées.

Dans le cas du glucose, on remarque une agglutination qui a lieu au niveau du septième puits, donc la concentration minimale capable d'inhiber l'activité est (dilution 1/64) [glucose] = 6,25 g/ml, ceci confirme nos résultats précédents qui montrent que le glucose présente une bonne affinité vis-à-vis des sucres présents dans les érythrocytes, par rapport aux lectines contenues dans notre extrait. Ceci **indique que nos lectines ont une forte affinité avec le glucose.**

Discussion

Le cellobiose quant à lui présente une moindre affinité vis-à-vis des lectines par rapport à le glucose, l'agglutination apparaît au niveau du cinquième puits, donc la MIC (dilution 1/16) avec une concentration égale à : 25 g/ml.

Concernant le galactose, l'agglutination a lieu dans le quatrième puits donc la concentration minimale capable d'inhiber l'activité est plus faible que le glucose et cellobiose (dilution 1/8)

[Galactose] = 50 g/ml, ceci **indique que nos lectines ont une moindre affinité avec le galactose.**

La plupart des molécules protéiques ne conservent leur activité biologique ou leur capacité fonctionnelle qu'à l'intérieur d'un intervalle étroit de pH et de température, La température élevée rompt les interactions faibles qui stabilisent la forme repliée ou native d'une protéine et déstabilisent les liaisons ioniques et hydrogènes. L'état dénaturé est généralement défini soit par la perte de l'activité biologique ou biochimique de la protéine. Cette dénaturation entraîne la perte totale ou partielle de l'activité biologique. Dans le cas d'une lectine, la dénaturation détruit ces capacités d'agglutination.

Nos résultats ont montrés que l'extrait d'*Arachis hypogaea* a une activité d'agglutination forte dans les douze puits de l'intervalle allant de [3 à 10], ce qui montre que les degrés variables de 3 à 10 de pH n'affectent pas sur l'activité d'agglutination des lectines d'*Arachis hypogaea*, par contre dans le pH [11] l'agglutination de notre lectine persiste comme même jusqu'au huitième puits qui disparaît au niveau de neuvième puits, ce qui montre que le pH basique (11) influence sur l'activité hémagglutinante. Ainsi que l'extrait a été remarquablement hémolysés dans le pH [1, 2, 12] à cause des interactions entre les groupements acides et basiques ce qui conduit à la rupture de membrane des érythrocyte et la sortie d'hémoglobine. **cela signifie que le pH favorable pour l'activité des d'*Arachis hypogaea* est un pH moyen.** Ces résultats ont été comparés à ceux de (Chaudhary et Sood, 2008) qui ont montré que la lectine de *Ricinus communis* est stable au pH [3-7]. Les résultats obtenus sont presque similaires à ceux obtenus avec les lectines du champignon « *Ganoderma capense* », l'activité hémagglutinante de ces lectines est stable dans l'intervalle de pH compris entre 4 et 11 (Patrick H.K Ngai, 2004).

Lors de l'exposition de notre extrait d'*Arachis hypogaea* à différentes températures de 40°C jusqu'à 120 °C pendant 1h, l'*Arachis hypogaea* garde toujours son activité d'agglutination, alors ce traitement thermique n'a pas été suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante. D'autres espèces ont dénaturées dans des températures plus faibles, comme les lectines de *Phaseolus vulgaris* et *Bryopsis plumose* qui restent natives à 60°C et 50°C, avec une perte totale d'activité à 80 °C et 60°C respectivement (Andrew et al., 2014 ; Han et al., 2010). Donc ce résultat indique que nos hémagglutinines sont très résistants à haute température, comme est le cas des lectines extraites à partir de l'algue rouge *Pterocladia capillacea* qui pousse jusqu'à 100°C (Necib et al., 2015).

Discussion

Dans le but d'améliorer l'activité hémagglutinante des extraits, nous avons procédé à leur purification par la chromatographie sur colonne. En effet, les extraits obtenus à la chromatographie sur colonne ont une activité supérieure à celle des extraits initiaux. Ce résultat pourrait insinuer que l'extrait issu de la chromatographie sur colonne contient moins d'impureté sans être un extrait pur de lectine.

Les résultats de séparation sur colonne avec le gel Séphadex G50 montrent un bon fractionnement d'échantillon qui a donné 4 pics : la première correspond au dix-huitième tube (absorbance : 0,194), un deuxième pic dans le tube quarante et un (absorbance : 0,140), un troisième pic dans le tube 67 (0,163) et un dernier pic dans le tube 72 (0,158). En se référant sur notre chromatogramme un test d'hémagglutination qui a été réalisé avec les fractions des pics obtenues, d'après ces résultats de tableau on remarque une activité hémagglutinante apparaît seulement dans le tube dix-huit, on en déduit que ce dernier contient les lectines d'*Arachis hypogaea*, et les autres trois fractions obtenues sont véritablement des protéines absorbent la lumière à une longueur d'onde de (280 nm).

**CONCLUSION
ET PERSPECTIVES**

Conclusion et perspectives

Conclusion

Nous avons extrait des substances à partir des graines d'une plante médicinale, il s'agit d'*Arachis hypogaea*, ces molécules ont une activité agglutinante sur les hématies, et donc ce que signifie la présence des lectines.

Nos investigations ont présentés que l'extrait d'*Arachis hypogaea* a montré leur pouvoir à agglutiner toutes les hématies des groupes sanguins du système ABO. Alors, les lectines d'*Arachishypogaea* ne montrent aucune spécificité pour les hématies des groupes sanguins du système ABO.

Les lectines d'*Arachis hypogaea* sont inhibés par le glucose, cellobiose et galactose, l'affinité de ces lectines pour ces monosaccharides peut être utilisée pour son purification.

D'autre part, l'extrait d'*Arachis hypogaea* est thermorésistant, stable dans des pH neutre, alcalin et acide.

Perspectives

Ce travail peut être la première étape d'une naissance des nouveaux lectines. Les résultats obtenus à partir de notre travail, encourageant la poursuivre des évaluations biologiques et les études par :

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

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- **A** Andrew S-A, Randy C- F, Xiuli D, Yau S-C, Wenliang P et Tzi B- N. (2014). Purification and Characterization of a Glucosamine- Binding Antifungal Lectin from Phaseolus vulgaris cv. Chinese Pinto Beans with Antiproliferative Activity Towards Nasopharyngeal Carcinoma Cells. *Appl Biochem Biotechnol.* (172), 672–686.
- **A** Atalah B-A, De Vleeschauwer D, Xu J, Fouquaert E, Hofte M et Vandamme E- J. (2014). Transcriptional behavior of EUL-related rice lectins towards important abiotic and biotic stresses. *J. Plant Physiol.* (171), 986–992.
- **A** Ayméric J-L et Lefranc G. (2009). *Immunologie Humaine*. De Boeck & Laccier S.A. Paris . (24).

- **B** Babosa T. (2001). In vivo lymphocyte activation and apoptosis by lectins of the diocleinae subtribe. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 95 (5), 673-678.
- **B** Banwell J-G. (1983). Phytohaemagglutinins derived from red kidney bean: a cause for intestinal malabsorption associated with bacterial overgrowth in the rat. *Gastroenterology.* (84), 506-515.
- **B** Beziat D, Courbil R, Faure C et Meudec J-M. (1996) . La thérapeutique transfusionnelle comprendre pour réussir. *Heures De France.* 226.
- **B** Bianchet M-A, Ahmed H, Vasta G-R et Amzel L-M. (2009). Structural aspects of lectin-ligand interaction In Vasta G0 R., Amzel L. M. *Animal lectins: a function view*. Taylor et Francis. LLC. 13-14.
- **B** Bird G-W-G . (1974). Plant and other agglutinins in the study of some human erythrocyte anomalies. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (234), 129.
- **B** Boettner D-R, Huston C, Petri J-R et William A. (2002). Galactose/ Nacétylgalactosamine lectin: the coordinator of host cell killing. *J. Biosci.* (27), 553-557.
- **B** Bouchara J-P et Trouchin G. (2003). *Lectines fongiques et adhérence dans Les Mycoses*. Elsevier. Paris(67).
- **B** Boucher C. (2008). Une brève histoire des idées de Galilée à Einstein. *Fides.* 94-95.
- **B** Boyd W-C et Shapleigh E. (1954). Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). *Science.* 119- 419.
- **B** Brooker et Will. (2001). *Batman Unmasked: Analyzing a Cultural Icon*, Continuum

Références Bibliographiques

- **Catier O et Roux D. (2007).** Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3ème édition. wolters kluwer. 13.
- **Cavaillon J-M. (2005).** Mediateurs de l'inflammation In Vincent J-L. Martin C. Sepsis sévère et choc septique. Spinger-Verlage. France. (23).
- **C-F, Vasconcelos M-P, Leite K-B, Aragao K-S, Assreuy A-M, Nogueira N-A, Cavada B-S et Vale M-R. (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.
- **Chabrol E, Fieschi F et 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. 63-64.
- **Chrispeels M-J et Raikhel N-V. (1991).** Lectins, Lectin genes and their role in plant defense. Plant cell. (3) 1-9.
- **Clavel D et Gautreau J. (1997).** In Charrier André (ed.), Jacquot Michel (ed.), Hamon Serge (ed.), Nicolas Dominique (ed.). L'amélioration des plantes tropicales. Montpellier, cirad. 61-82.

- **Damme, Mariya T-1, Els J et Van M. (2020).** 130 years of plant lectin research. plant defense. Plant Cell. (3), 1-9.
- **Dam T-K et Brewer C-F. (2002).** Thermodynamics of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry. Chem. Rev. (102), 387-429.
- **Dana H et Dominique S. (2012).** Algal lectins as potential HIV microbicide candidates. Mar.drugs. (10), 1476-1497.
- **Danic et Le frère. (2011).** La transformation sanguine et le don de sang traité par cinémathématologie 17 (16), 402-40.
- **David G et Gilles F. (2003).** Groupes sanguins et conséquences médicales, Planet Vie.
- **Delatorre P et al. (2006).** Crystal structure of a lectin from Canavaliamaritima (ConM) in complex with trehalose and maltose reveals relevant mutation in ConA-like lectins. J Struct Biol. (154), 280-286.
- **Dennis J-W, Granovsky M et Warren C-E. (1999).** Glycoprotein glycosylation and cancer progression. Biochim. Biophys. Acta. (1473), 21-34.
- **De Hoff P-L, Brill L- M et Hirsch A-M. (2009).** Plant lectins: the ties that bind in root symbiosis and plant defense. Mol. Genet. Genomics. (282), 1-5.
- **Diaz L-C, Melcherse L-S, Hooykaas P-J-J, Lugtenberg B-J-J et Kijne J-W. (1989).** Root lectin as a determinant of host-plant specificity in the Rhizobium-legume symbiosis. Nature. (338), 579-581.
- **Drickamer K. (1993).** Ca²⁺-dependent carbohydrate-recognition domains in animal proteins. Curr. Opin. Struct. Biol. (3), 393-400.

Références Bibliographiques

- **E**delman G-M, Cunningham B-A, Reeke G-N, Becker J-W, Waxdal M-J et Wang J-L. (1972). The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA.(69), 2580-2584
- **Emoto M et Emoto Y. (2009).** Intracellular bacterial infection and invariant NKT cells. Yonsei Med J. 50(1): 12-21.
- **Etzler M-E. (1986).** Distribution and function of plant lectins in the lectins: properties, functions and applications in biology and medicine. Orlando (USA): Liener I-E, Sharon, N, Goldstein I-J. Academic Press, Inc. 371-437.

- **F**alasca A- I. (1989). Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz. Febs Lett. 246 (1-2), 159 -162.
- **Fujita T, Matsushita M et Endo Y. (2004).** The lectin-complement pathway--its role in innate immunity and evolution. Immunol Rev.(198), 185-202.

- **G**anong W-F. (2005). Physiologie médicale. 2ème édition, De Boeck. 507.
- **Gerlach D, Wagner M, Schlott B, Zahringer U et Schmidt K-H. (2002).** Chemical and physicochemical characterization of the sialic acid-specific lectin from *Cepaea hortensis*. FEMS microbiol lett. (214), 61-68
- **Ghopkins W et Evrard C-M. (2003).** Physiologie Végétale. DE Boeck. 1ère édition, 104- 105.
- **Gillier P et Silvestre P. (1969).** L'arachide, techniques agricoles et productions tropicales. Ed. G.P. Maisonneuve et Larousse, Paris. 289.
- **Goker H, Haznedaroglu I-C, Ercetin S et al. (2008).** Haemostatic actions of the foliolic medicinal plant extract *Ankaferr* blood steeper. Jint. Med. Res (36), 163-170.
- **Goldstein I- J et Hayes C-E. (1978).** The lectin-carbohydrate binding proteins of plants and animals. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.(35),127-334.
- **Goldstein I- J et Poretz R-D. (1986).** Isolation, physicochemical, characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins in Liener I- E, Sharon N and Goldstein I- J. The Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine. Academic Press, Orlando. 35-229.
- **Gomes. (1994).** Histamine release induced by glucose (mannose) specific lectins isolated from Brazilian beans comparison with concanavalin A agent (41) ,132-135.
- **Greer S. (1985).** Edinburgh. Churchill Livingstone. (5), 87-104.
- **Guénard H et al. (2001).** Physiologie humaine. 3ème édition. Paridel. (497).
- **Guillot J, Guerry M, Kanska G, Caldefie-Chezet F, De Latour M et Penault-Llorca F. (2004).** Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation : cas des carcinomes mammaires. Bull Cancer. (91), 141-158.

Références Bibliographiques

- **Kaminski P-A, Buffard D et Strosberg A-D. (1987).** The pea lectin gene family contains only one functional gene. *Plant molec. Biol.* 9(5), 497-507.
- **Kamoun P. (2003).** Oses et Polysaccharides In *Biochimie et Biologie Moléculaire. Médecin-Sciences/Flammarion.* (62).
- **Kawamura T, Ogawa Y, Aoki R et Shimada S. (2014).** Innate and intrinsic antiviral immunity in skin. *J. Dermatol. Sci.* (75), 159–166.
- **Kawasaki T. (1999).** Structure and biology of mannan-binding protein, MBP, an important component of innate immunity. *Biochim Biophys Acta.* 1473(1), 186-195.
- **Kawsar S-A, Aftabuddin S, Yasuimitsu H et Ozeki Y. (2010).** The cytotoxic activity of two D-galactose binding lectins purified from marine invertebrates. *Arch. Biol. Sci. Belgarde.*62 (4), 1027-1034.
- **Kumar K-K, Chandra K- L-P, Sumanthi J, Reddy G-S, Shekar P-C et Reddy B-V-R. (2012).** Biological rol of lectins. *Journal of Orofacial Sciences.* (4), 20-25.

- **Laija S-N, Mahesh S, Smitha L-S et Remani P. (2010).** Isolation and partial characterization of two plant lectins. *Current Research Journal of Biological Sciences.* 2(4), 232-237.
- **Lee Y- C et Lee R-T. (1995).** Carbohydrate-protein interactions: basis of glycobiology. *Acc. Chem. Res.* (28), 321–327.
- **Leffler H, Carlsson S, Hedlund M, Qian Y et Poirier F. (2004).** Introduction to galectins. *Glycoconj.* (19), 433-440.
- **Lenka S, Imberty A et Jaroslave K. (2006).** modélisation moléculaire des lectines et des glycosyltransferases. *Biologie cellulaire. Université de Grenoble I. France.*56-58.
- **Leonidas D-D, Vatzaki E-H, Vorum H, Celis J-E, Madsen P et Etacharya K-R. (1998).** structural basis for the recognition of carbohydrates by hymangalectin. (37), 13930-13940.
- **Liener I, Sharon N et Goldstein J. (1986).** The lectins Properties. Functions and Applications in biologieand medicine. *Academic Press INC. London LID.* 13-24.
- **LiuY, Liu J, Pang X, Liu T, Ning Z et ChengG. (2015).** The Roles of Direct Recognition by Animal Lectins in Antiviral Immunity and Viral Pathogenesis. *Molécules.* 20(2), 2272–2295.
- **Lis H et Sharon N. (1998).** Lectins: carbohydrate- specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem.* (98), 673-674.

Références Bibliographiques

- **M**eite A, **K**auame K-G et **K**ati-Coulibal Y- S. (2006). Substances antinutritionnelles. *Méd.Nut.* 42(4), 179-187.
- **M**ukherjee S, **Z**heng H, **D**erebe M- G, **C**allenberg K-M, **P**artch C-L, **R**ollins D, **P**ropheter D-C et **J**iang Q- X. (2014). Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. *Nature.* (505), 103–107.

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

- **N**ecib Y, **B**ahi A, **D**erri N, **F**ateh Merouan F, **B**ouadii H et **B**oulahrouf K. (2014). Immunomodulatory Activity Of Lectin Extracted From Bark Of The Black Mulberry (*Morus Nigra*). *World Journal of Pharmaceutical Research.* 4(1), 1707-1719.
- **N**ecib Y, **B**ahi A, **M**erouane F, **B**ouadi H et **B**oulahrouf 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.
- **N**ewton K et **D**ixit V-M. (2012). Signaling in innate immunity and inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 4(3).

- **P**arham P. (2000). Le système immunitaire. De Boeck Université. 340.
- **P**eumans W- J et **V**andamme E- J. (1995).Lectine as plant defense proteins. *Plant Physiol.* (109), 347-352.
- **P**istole T-G. (1981). Interaction of bacteria and fungi with lectins and lectin-like substances. *Ann. Rev. Microbiol.* (35), 85-112.
- **P**oiroux G. (2011). Evaluation du potentiel de lectines végétales dans le ciblage de médicaments anticancéreux: Application à la Photochimiothérapie. *Biologie cellulaire et Biochimie.* Toulouse. Université Toulouse III - Paul Sabatier. 35-50.

- **Q**iu Y, **X**i J, **D**u. L, **R**oje S et **P**oovaiah B-W. (2012). A dual regulatory role of arabidopsis calreticulin-2 in plant innate immunity. *Plant J.* (69), 489–500.

Références Bibliographiques

- **Ramata N. (2010).** Etude de l'activité hemagglutinante des lectines isolées des graines de *Abrus precatorius* L. la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie. Mali. Université de Bamako. 8.
- **Ramé A et Naccache P. (2001).** Transfusion sanguine. Lamarre .05
- **Renato D-E et Moreira A. (1991).** Plant lectins, chemical and biological Aspects. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. (86). 211-218.
- **Roos A, Daha M-R, Vanpelt J et Berger S- P. (2007).** Lectine liant le mannose dans les maladies rénales. Flammarion-Médecine-Science-Actualités Néphrologiques (13), 134-157.
- **Richard H-T. (1998).** Application of lectin histochemistry and cytochemistry indignant and prognosis. Methods molecular medicine. (9), 73-94
- **Rudiger H et Gabius H-J. (2001).** Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. Glycoconj. (18), 589-613.

- **Sanchez J-F, Lescar J, Chazalet V, Audfray A, Gagnon J, Alvarez R, Breton C, Imberty A et Mitchell E-P. (2006).** Biochemical and structural analysis of Helix pomatia agglutinin (HPA): a hexameric lectin with a novel fold. J. Biol. Chem. (281), 20171-20180.
- **Sankaranarayanan R, Sekar K, Banerjee R, Sharma V, Surolia A et Vijayan M. (1996).** A novel mode of carbohydrate recognition in jacalin, a moraceae plant lectin with a bprism fold. Nature Struct. Biol. (3), 596-603.
- **Santos A-F-S, Silva M-C-D, Napoleão T-H, Paiva P-M-G, Correia M-T-S et Coelho L-C-B-B. (2014).** Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications. Current Topics in Peptide & Protein Research. (15).
- **Sato Y, Okuyama S et Hori K. (2007).** Primary structure and carbohydrate binding specificity of a potent anti-hivlectin isolated from a the filamentous cyanobacterium *oscillatoria agardhii*. J. Boil. Chem. (282), 11021- 11029.
- **Schilling R. (2003).** L'arachide: Histoire et perspective, résumé de la conférence donnée à Agropolis Mesueum,. 14.
- **Seufiam, Galal F-H et Hafez E-E. (2012).** Caractérisation of multisugar-binding c-type lectin (splilec) from a bacterial-challenged cotton leafworm, *spodopteralittoralis*. Journal. Pone. 7(8), 0042795.
- **Sharon N. (1983).** Lectin receptors as lymphocyte surface markers. Advances in immunology. (34) 213-291.
- **Sharon N. (1993).** Lectin-Carbohydrate complexes of plants and animals: an anatomic view. Elsevier Science Publishers. (93), 221-226.
- **Sharon N. (1996).** Carbohydrate-lectin interactions in infectious disease. Adv. Exp. Med. Biol. (408), 1-8.

Références Bibliographiques

- **Sharon N et Lis H. (2004).** History of lectin : from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*.14. 53R-62R. 11. (Sharon. N., Lis. H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules *Glycobiology*. (14), 53-62.
- **She Q-B, Ng T-B et 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.
- **Sofowora A. (2010).** Plante médicinales et médecines traditionnelle d'Afrique. 1^{ère} édition. Karthala . 22.
- **Somers W-S, Tang J, Shaw G-D et Camphausen R-T. (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.
- **Sumner J-B, (1919).** The globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis*. *J.Biol. Chem*. (37), 137-142.
- **Sumner J-B et Howell S-F. (1936).** Identification of hémagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. *J. Bacteriol*. 32(2), 227-237.
- **Sze S-C-W, Ho J-C-K et Liu W-K. (2004).** *Volvariella volvacea* lectin activates mouse T lymphocytes by a calcium dependent pathway. *J. Cell. Biochem.y*. (92), 1193-1202.

- **Tanaka H, Chiba H., Inokoshi, Kuno A, Sugai T, Takahashi A, Ito Y, Tsunoda M, Suzuki K., Takenaka A. (2009).** Mechanism by which the lectin actinohivin blocks hiv infection of target cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*(106), 15633-15638.
- **Tanne A et Neyrolles O. (2010).** C-type lectins in immune defense against pathogens: The murine dc-sign homologue signr3 confers early protection against mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence*. (1), 285–290.
- **Transue T-R , Smith A-K , Mo H , Goldstein I-J et Saper M-A. (1997).** Structure of benzyl T-antigen disaccharide bound to *Amaranthus caudatus* agglutinin. *Nat. Struct. Biol*. (10), 779-783.
- **Trombetta E-S et Helenius A. (1998).** Lectins as chaperones in glycoprotein folding. *Curr Opin Struct Biol*. 8(5), 587-592.

Références Bibliographiques

- **Vasta G-R. (1992).**Invertebrate lectins: Distribution, synthesis, molecular biology and function. In Allen H-J et Kisailus E-C. (eds), *Glycoconjugates, Composition, Structure and Function*. Marcel Dekker, New York.
- **Valentiner U, Fabian S et Schumacher U. (2003).**The influence of dietary lectins on the cell proliferation of human breast cancer cell lines in vitro. *Anticancer Res.* (23), 1197-1206.
- **Vandamme E- J, Peumans W- J, Barre A et Rouge 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.

- **Wang H et NG T-G. (1998).**Ribosome inactivating protein and lectin from bitter melon (*Momordica charantica*) seeds: sequence comparison with related protein. *Biochemical and biophysical research communication.* (253), 143- 146.
- **Weis W-I, Brunger A-T, Skehel J-J et Wiley D- C. (1990).** Refinement of the influenza virus hemagglutinin by simulated annealing. *J Mol Biol.* (212), 737-761.
- **Wimer B-M. (1996).** Putative effects of mitogenic lectin therapy corroborated by alloactivation data. *Cancer Biother Radiopharm.* (11), 57-75.
- **Wissuwa M et Ae N. (1999).**Genotypic variation for phosphorus uptake from hardly soluble iron phosphate in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant and Soil.* (206), 163-171.
- **Wright C-S et 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 models. *Structure.* (4), 1339-1352.

- **Xu S, Wang L, Wang X- W, Zhao Y-R, Bi W- J, Zhao X-F et Wang J- X. (2014).** L-type lectin from the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* promotes hemocyte phagocytosis. *Dev. Comp. Immunol.*(44), 397–405.
- **Xu Y- H, Bi W- J, Wang X-W, Zhao Y- R, Zhao X- F et Wang J- X. (2014).**Two novel c-type lectins with a low-density lipoprotein receptor class a domain have antiviral function in the shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Dev. Comp. Immunol.* (42), 323–332.

Références Bibliographiques

- **Y**azer M, Olsson M et Palcic M. (2006). The cis-AB blood group phenotype: fundamental lessons in glycobiology. *Transfus Med Rev.* 20 (3), 207–17.

- **Z**elensky A-N et Gready J-E. (2005). The C-type lectin-like domain superfamily. *Febs Journal.* 272(24), 6179–6217.
- **Z**hang H, Peatman E, Liu H, Feng T, Chen L et 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.* (32), 598-608.
- **Z**itouni A, Bahi A et Necib Y. (2014). Immunomodulatory Activity of Lectins Extracted from *Terfezia bouderei*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* (50), 285-287.

❖ Références électroniques

- https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=arachide_nu
- <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2509048-la-cacahuete-bonne-ou-mauvaise-pour-la-sante>
- <https://sante.lefigaro.fr/mieux-etre/environnement/arachide/quest-ce-que-cest>
- <https://www.clinisciences.com/achat/cat-lectines-4741.html>.
- <https://www.em-consulte.com/article/61489/reactions-d-agglutination>
- <https://mabio.iqfr.csic.es/en/research-lines/characterization-of-lectins-and-lectin-glycan-interactions-relevant-to-physiological-or-pathological-processes>.

ANNEXE

Annexe

Annexe 01: Préparation du Tampon

Préparation de la solution tampon phosphate di-sodique PBS (0,1M ; pH 7, 4) Pour 1 litre d'eau distillée.

Le produit chimique	La concentration molaire (mM)	La masse molaire (g/mol)	Quantité
L'eau distillée	-	-	1Litre
Disodium phosphate dihydrate (Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O)	8	177,99	1,423 g
Monopotassium phosphate (KH ₂ PO ₄)	1,5	136,09	0,204 g
Chlorure de sodium (NaCl)	137	58,44	8,006 g
Chlorure de potassium (KCl)	2,7	74,55	0,201 g

- ❖ La quantité (g) = la concentration molaire (mol/l) × la masse molaire (g/mol) × le volume (L).

Annexe 02: Préparation du Na Cl (0,9%)

Na Cl	Eau distillée
9g	1Litre

Annexe 03: Préparation des monosaccharides

Le sucre	Concentration (mM)	Masse molaire (g/mol)	Volume (L)	Quantité (g)
Glucose	400	198,17	1	0,07926
Galactose	400	180,15	1	0,07206
Mannose	400	180,15	1	0,07206
Arabinose	400	150,13	1	0,06005
Glucosamine Hcl	400	215,64	1	0,08625
Cellobiose	400	342,32	1	0,13692
Maltose	400	360,32	1	0,14412
Lactose	400	360,32	1	0,14412

Annexe

REMARQUE :

Glucose monohydraté = Glucose + H₂O → 180,156 + 18,015 = 198,17 g/mol.

Maltose monohydraté = Maltose + H₂O → 342,32 + 18 = 360,32 g/mol.

Lactose monohydraté = Lactose + H₂O → 342,32 + 18 = 360,32 g/mol.

Annexe 04: Préparation d'extrait dilué par le tampon pour le test d'inhibition

Extrait (µl)	Tampon PBS (µl)	Volume totale (µl)
100	1500	1600

KISSOUM djohra

Date de soutenance :

LAIOUR manel

05/09/2021

THEME : Extraction des lectines à partir de la plante médicinale (*Arachis hypogaea*) avec des tests biologiques

Option : Analyse Proteomique et Santé

Résumé

Les lectines constituent un groupe de protéines ou glycoprotéines ubiquitaires et polyvalentes d'origines non immunitaires, qui se lient de manière non covalente spécifique et réversible aux fractions glucidiques des hydrates de carbone complexe sans réagir catalytiquement avec eux, Lorsque ces glucides sont des composants des parois cellulaires, les lectines provoquent l'agglutination des cellules qui les contiennent.

Le but de ce travail est de chercher la présence des lectines contenues dans l'extrait brut de la plante médicinale « *Arachis hypogaea* » par le test d'hémagglutination, et étudier les différentes spécificités de ces lectines pour rendre compte de leur PHi, leurs thermo-stabilité et leurs interactions et affinités avec les sucres.

L'isolement des lectines commence généralement par une extraction qui a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par une chromatographie sur colonne.

L'activité hémagglutinante d'*Arachis hypogaea* a été représentée 1:8(256). Pour le test d'ABO, les lectines de notre extrait agglutinent tous les types des groupes sanguins (été donné une forte sélectivité avec tous les hématies A, B, AB, O). Un test d'inhibition a été réalisé par la suite avec différents monosaccharides et qui a démontré que nos lectines présentent et prouvent une grande affinité seulement pour le glucose, cellobiose et galactose par rapport aux autres composés avec une concentration minimale d'inhibition de l'ordre respectivement 6.25, 25 et 50 g/ml. Ainsi que l'activité hémagglutinante de lectines d'extrait d'*Arachis hypogaea* été remarquablement stable dans la gamme du pH de 3-10. Pour Le traitement thermique l'extrait a réduit significativement leur activité hémagglutinante, jusqu' à 120 °C, mais elle n'a été pas suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante (**thermorésistant**). L'application de la chromatographie sur colonne de Séphadex G 50 sur notre extrait été donné quatre pics mais un pic seulement correspond aux lectines.

Mots clés: Lectines, Extraction, Activité hémagglutinante, Plante médicinale, Saccharide, Système ABO, Inhibition, Affinité, Hématies.

Laboratoire de recherche: Laboratoire d'Immunologie et laboratoire de Génie de Microbiologie et Application, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université des Frères Mentouri Constantine

Président: BAH I A.

(M.A- UFM Constantine).

Rapporteur: NECIB Y

(Pr- UFM Constantine).

Examineur: ZOUGHLACHE S.

(M.A- UFM Constantine).