

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master2
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité : *biochimie Moléculaire et santé*

Intitulé :

Immunostimulation médiée par les Lectines Fongiques

Présenté et soutenu par: HADDAD RAYANE

Le :23 /06/2014

BELGUESMIA LAMIA

Jurys d'évaluation :

Président du jury: Mr. D.KHLIFI Prof Université Constantine 1

Encadreur: Mr. A. ZITOUNI M.A.A Université Constantine 1

Examineur : Mr. A. CHIKHI Prof. Université Constantine 1

Année universitaire
2013/2014

Remerciements

*On tient à exprimer toute notre reconnaissance à notre Directeur de mémoire Monsieur **Abdelbaki Zitouni** ont le remercie de nous avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.*

On adresse nos sincères remerciements à tous les professeurs, laborantins et laborantines qui ont intervenues, et toutes les personnes qui, par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nos rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches.

*On remercie également **INES BELILI** qui nous aidée et orienter à effectuer quelques techniques.*

Merci à vous tous.

Dédicace

*Je remercie mes très chers parents, **Faouzia et N'cer**, d'avoir cru en moi et d'avoir été toujours là pour moi. « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fière ».*

*Je remercie mon frère **Rafik**, et ma sœur **Narimaine** pour leur soutien inconditionnel et leur encouragement.*

*Sans oublier **ma grand-mère** pour ses précieuses prières.*

*Un grand merci également à mon amie **Lamia** pour sa sincère amitié et confiance*

*Je remercie très spécialement mon neveu **Adem** pour la joie qui nous a apporté depuis sa naissance.*

*Une place toute particulière doit évidemment être attribuée à mon fiancé **Oualid**, qui, malgré la distance qui nous sépare, a su être toujours près de moi et me motiver quand il le fallait.*

À tous ces intervenants, Et à tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Rayane Haddad

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail

*À mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, que Dieu me les
garde*

*À la mémoire de ma grand-mère « **Yemma Thalhadjith** » qui serait sûrement
fière de moi.*

*A mon fiancé « **Rabah** » qui m'a beaucoup soutenu et supporté*

*À mes frères et sœurs que j'adore, sans oublier ma chère amie et quatrième
sœur « **Rayane** »*

*À mon adorable cousine « **Wassila Lachi** », et à notre petit bout de chou
« **Ania** »*

*Et enfin à mon encadreur monsieur « **Abdelbaki Zitouni** » qui a toujours été là
pour nous.*

Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail

À vous tous merci

Belguesmia Lamia

Table des matières

Première partie : Présentation du contexte de l'étude

Introduction.....	16
I. Généralités sur les lectines.....	18
I.1. Définition de la lectine.....	18
I.2. Historique.....	19
I.3. Structure des lectines	22
I.3.1. Les lectines simples	22
I.3.2. Les lectines en mosaïque.....	23
I.3.3. Les assemblages macromoléculaires.....	24
I.4. Classification de lectines.....	25
I.5. Les lectines présentes chez les plantes.....	25
a. Les Mérolectines.....	25
b. Les Hololectines.....	26
c. Les Chiméroléctines.....	26
I.6. les lectines des microorganismes.....	26
I.6.1. Lectine bactériennes.....	26
I.6.2. Lectines fimbriales.....	26
I.6.3. Les toxines.....	27
I.6.4. Les lectines solubles.....	28
I.7. Les lectines de champignon.....	29
I.7.1 Caractéristiques.....	30
I.7.2 Rôles.....	30
I.8. Rôle des lectines dans les organismes vivants.....	30
I.9. Spécificité des lectines.....	31

I.10. Propriétés Biologiques des lectines.....	33
I.10.1. Liaison avec les sucres.....	33
I.10.2. Activité mitogène.....	33
I.10.3. Activité antivirale.....	33
I.10.4. Autre propriétés.....	33
I.11. Agglutination cellulaire.....	33
I.12. Quelques importantes lectines.....	34
I.13. Utilisation des lectines.....	34
I.13.1. Dans le domaine biomédical.....	35
a. Hématologie.....	35
b. Immunologie.....	35
c. Biologie cellulaire.....	35
d. Cancérologie.....	35
I.13.2. Dans le domaine agronomique.....	36
I.14. Le Système Immunitaire et l'Immunostimulation	36
I.15. Intérêt des lectines pour l'homme.....	37
I.16. L'influence des lectines sur l'homme.....	37
II. généralités sur le champignon utilisé	39
II.1. Classification scientifique	39

Deuxième partie: Etude expérimentale

I. Matériels et méthodes.....	41
I.1. Matériels.....	41
➤ Matériel végétal.....	41
➤ Matériel animal.....	41
➤ Protocole expérimental suivi.....	42
I.2. Méthodes.....	44
I.2.1 Protocole d'extraction.....	44
I.2.1.1 Préparation de l'extrait brut	44
➤ Broyage	44
I.2.2. Dosage des protéines.....	44

I.2.3. Test d'agglutination avec les hématies de lapin.....	45
I.2.3.1. Préparation de suspension d'hématies 3 %.....	45
I.2.3.2. Test d'agglutination.....	45
I.2.4. La chromatographie d'affinité sur colonne de sephadex G75.....	46
➤ Technique.....	46
➤ Préparation de la colonne de Sephadex G75.....	46
I.2.5. Lyophilisation.....	46
I.2.6. Séparation des protéines en gel de polyacrylamide dénaturant (SDSPAGE)	46
➤ Préparation du gel de polyacrylamide.....	47
➤ Révélation des protéines sur gel de polyacrylamide	48
II. Etude biologique	48
II.1. Prélèvements sanguins	49
➤ Activité phagocytaire.....	49
II.2. Analyse statistique	50

Troisième parties : Résultats et discussion

I. Résultats et discussion.....	51
I.1. Test d'agglutination.....	52
I.2. Chromatographie d'Affinité sur colonne de séphadex	53
I.3. SDS PAGE	56
I.4. Effet de l'extrait de terfezia.boudiéri sur l'activité phagocytaire.....	58
Discussion	64
Conclusion	65
Perspectives.....	66
Références bibliographiques.....	68

Liste des abréviations

A : Alpha

A : Absorbance

B : Beta

C1 : le culot d'extrait brut après centrifugation

C2 : le culot de C1 après centrifugation

Cm : Centimètre

ConA :Concavaline a de *canavalia ensiformis*

ConM : Concavaline m de *canavalia maritima*

CRD : Carbohydrate Recognition Domain

Fuc : Fucose

Fru : Fructose

g : Gramme

Gal : Galactose

GalNAc : N-acétylgalactosamine

GlcNAc : N-acétylglucosamine

GNA : *Galanthus nivalis* agglutinine

Gr : Grossissement

h : Heur

hGal-7 : Galectine -7 Humaine

KCL : chlorure de potassium

kDa : Kilo Dalton

KH₂PO₄: phosphate mono potassique

Man : Manose

ml : Millilitre

Min : Minute

mm : Millimètre

Mm : Milimolaire

Mn²⁺ : Ion De Manganèse

NaCL : chlorure de sodium

Na₂CO₃ : carbonate de sodium

Na₂HPO₄ : phosphate di sodique

NeuAc : Acide N-Acétylneuraminique

nm : Nanomètre

PBS : Tampon Phosphate Salin

pH : Potentiel Hydroisoélectrique

RCA : Lectine du ricin, *Ricinus communis* L.

RE : Réticulum endoplasmique

S1 : Le surnageant d'extrait brut après centrifugation

S2 : Le surnageant de C1 après centrifugation

Trs : Tours

UDA : Lectine de l'ortie dioïque, *Urtica dioica* L.

WGA : Lectine du germe du blé commun, *Triticum vulgare* Vill(*Wheat germ agglutin*)

°C : Degré Celsius

µm : Micromètre

[] : La concentration

% : Pourcent

μl : Microlitre

Résumé :

L'intérêt montré ces dernières années pour les lectines de champignons est principalement motivé par la découverte que certaines lectines ont des propriétés pharmacologiques intéressantes comme **par exemple la stimulation du système immunitaire, antivirales et anticancéreuses.**

Dans le présent travail, nous avons étudié l'effet immunomodulateur d'un extrait de lectines obtenu à partir d'un champignon comestible, la Truffe blanche du Sahara Algérien, *Terfezia Boudiéri*, en évaluant l'activité phagocytaire par la mesure du taux de clairance d'une dose de carbone colloïdal testée chez des souris de laboratoire.

Dans notre étude, nous avons commencé par extraire en premier lieu les lectines en mettant en évidence leur activité hémagglutinante. Après différentes autres techniques d'analyses biochimiques nous avons obtenu un lyophilisat de cette glycoprotéine que l'on a administrée à un lot de 28 souris males.

Les résultats obtenus nous ont montré une augmentation de l'activité phagocytaire du système réticuloendothélial des souris traitées au lyophilisat de lectines, et qui par voie de conséquence a fait augmenter le taux de clearance du carbone en comparaison avec le lot témoin.

Abstract:

The interest shown in recent years to lectins fungi is mainly motivated by the discovery that certain lectins have valuable pharmacological properties such as stimulation of the immune system, antiviral and anticancer system.

In the present study, we investigated the immunomodulatory effect of an extract of lectins derived from an edible mushroom, white truffle Algerian Sahara, *Terfezia boudieri*, assessing the phagocytic activity by measuring the rate of clearance a dose of colloidal carbon tested in laboratory mice.

In our study, we started by first extracting lectins highlighting their hemagglutinating activity. After various other biochemical techniques got a lyophilisate of this glycoprotein which has been administered to a batch of 28 male mice.

The results we obtained showed an increase of the phagocytic activity of the reticuloendothelial system of the mice treated lyophilisate lectins, and consequently increases at the rate of clearance in comparison with the carbon in the control group.

الملخص :

الدافع وراء الاهتمام بلكتينات الفطريات في هذه السنوات لأخيرة يعود الى اكتشاف أن اللكتينات لها خصائص دوائية قيمة مثل تحفيز الجهاز المناعي، مضادة للفيروسات، مضادة لسطان.

الهدف من هذه الدراسة هو تأثير مناعة اللكتينات المستخلصة من فطر صالح للأكل الترفاس البيض المزروع بصحراء الجزائر وذلك بتقييم نشاط الخلايا البالعة من خلال قياس معدل التخلص من جرعة الكربون التي تم اختيارها فئران المخبر.

في هذه الدراسة تم استخلاص أولا اللكتينات وذلك عن طريق ابراز الفعالية التراصية لهم. بعد اجراء اختبارات حيوية تحصلنا على Lyophilisat مختلفة , من هذا البروتين السكري الذي تم ادارته ل 28 فأر ذكر .

أظهرت النتائج المتحصل عليها زيادة في الفعالية التراصية عند الفئران المعالجة باللكتينات وهذا ما أدى الى الزيادة في معدل إزالة الكربون مقارنة مع المجموعة الشاهدة.

Liste des figures

Figure 1 : Rôle de glycoconjugués situés sur la surface cellulaire. Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides. (Yagi et al. 2002 ; Rudiger 2001).

Figure 2 : Représentation graphique d'un monomère de concanavale A de *canavaliensiformis* en complexe avec le trimannoside (Lenka ,2006)

Figure 3 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine du virus Influenza en complexe avec l'acide sialique (Lenka ,2006)

Figure 4 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *Escherichia coli* (Lenka ,2006)

Figure 5 : Récepteur PAPG en complexe avec le tetrasaccharide GBO4 (gauche, pdb 1j83) et lectine fimbriale F17-AG en complexe avec le GlcNAc (droite, pdb 1o9w) (Soto 1999).

Figure 6 : Deux orientations pour la sous-unité B de la toxine du Choléra en complexe avec le GM1 (pdb 3chb) (Merritt 1995).

Figure 7 : schéma explicatif de la procédure expérimentale

Figure 8 : Schéma récapitulatif la procédure suivie

Figure 9: courbe représentant le profil d'élution de l'absorbance en fonction du volume d'élution des différentes fractions protéiques

Figure 10 : Effet de *terfezia.boudiéri* sur l'index phagocytaire (détaillé)

Figure 11 : Effet de *terfezia.boudiéri* sur l'index phagocytaire

Figure 12 : Effet de *terfezia.boudiéri* sur la demi – vie (détaillé).

Figure 13 : Effet de *terfezia.boudiéri* sur la demi – vie.

Figure 14 : Profile électrophorétique des extraits de lectines

Liste des planches

Planche 1: observation microscopique de l'agglutination des quatre extraits utilisés

Planche 2 : planche représentant le test d'hémagglutination des fractions issues de la chromatographie sur colonne

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : récapitule l’historique de découverte des lectines (**Renato, et coll. 1991**)

Tableau 2 : Récapitulatif des structures tridimensionnelles des lectines

Tableau 3 : Lectines bactériennes solubles

Tableau 4 : récapitule le rôle des différentes lectines dans le monde vivant.

Tableau 5 : Spécificité osidique de certaines plantes a lectines (**Renato, et coll. 1991**)

Tableau 6 : quelques importantes lectines (**Mancheno., 2005**).

Tableau 7 : représentant propriétés et applications des lectines dans le domaine biomédical.

Tableau 8: préparation du gel de séparation

Tableau 9: préparation du gel de concentration

Tableau 10: agglutination des hématies de lapin en présence d’extraits de truffe blanche

Tableau 11 : Moyennes et écart-type des différents lots concernant l’index phagocytaire et la demi-vie.

Tableau 12: représente l’index phagocytaire et l’écart-type des différents lots

Tableau 13 : représente la demi-vie et l’écart-type des différents lots.

Tableau 14: représente les résultats obtenus avec L’ ANOVA de l’index phagocytaire par rapport aux lots

Tableau 15: représente les résultats obtenus après le test de TUKEY de l’index phagocytaire

Tableau 16 : représente les résultats obtenus avec L’ ANOVA de la demi-vie par rapport aux lots

Tableau 17 : représente les résultats obtenus après le test de TUKEY de la demi-vie

PREMIERE PARTIE

Introduction :

Les lectines sont des protéines capables de se lier spécifiquement de façon non covalente et réversible à des glucides.

Ces protéines ne montrent aucune activité enzymatique vis à vis de leur ligand (**Lis et Sharon 1996**), (**Kocourek 1981**). L'intérêt majeur qui pousse aujourd'hui la recherche sur les lectines est lié à leur capacité unique de lire l'information biologique qui est codifiée dans la structure tridimensionnelle des sucres. Les lectines sont des récepteurs spécifiques pour les interactions protéine-sucre qui jouent des rôles clés dans une multitude de processus de reconnaissance moléculaire et de signalisation cellulaire.

La modulation du système immunitaire (immunomodulation) est devenue un aspect important de la recherche anti-infectieuse.

L'intérêt montré ces dernières années pour les lectines de champignons est principalement motivé par la découverte que certaines lectines ont des propriétés pharmacologiques intéressantes comme par exemple la stimulation du système immunitaire, anti-inflammatoires, antivirales et anticancéreuses (**Waiser and. Weis (1999)** ; **Wang (2000)**; **Sze (2004)** ; **She (1998)**).

Très peu d'études concernant les lectines extraites à partir de truffes blanches ont été réalisées.

Notre travail s'inscrit dans ce contexte, et le protocole que nous avons choisi de suivre est le suivant :

- Extraire les lectines selon une procédure que nous décrirons par la suite.
- Réaliser des tests d'hémagglutination sur l'extrait afin de confirmer leur activité et leur présence.
- Réaliser une chromatographie sur colonne de Séphadex G75 pour augmenter le taux de purification de l'homogénat.
- Déterminer de nouveau l'activité hémagglutinante des différentes fractions de l'éluât après purification.
- Lyophiliser le nouvel extrait.
- Réaliser une SDS PAGE en conditions dénaturantes pour contrôler la pureté de notre échantillon, et enfin,
- Réaliser des tests d'immunostimulation sur un lot de 28 souris males, et déterminer si oui ou non les lectines de ce champignon ont un effet immunomodulateur.

Généralités

Toute cette démarche qui a fait appel à autant de méthodologies biochimiques d'extraction et de caractérisation de cette lectine sera appuyée par des calculs statistiques analysant les relations existantes entre les différents lots de souris.

Les données bibliographiques sont représentées dans le premier volet de ce mémoire, avec une présentation générale sur les lectines, leurs structures et les différents rôles qu'on leur attribue. Le second volet décrit le matériel biologique et l'ensemble des méthodes utilisées dans notre étude. Les étapes suivies dans l'exploitation de nos résultats ainsi que leur discussion sont présentées dans le troisième volet. Une conclusion générale et des perspectives seront enfin données.

I. Généralités sur les lectines

I.1. Définition des lectines

Les lectines sont des protéines ou des glycoprotéines capables d'interagir spécifiquement avec des saccharides pour former des liaisons non covalentes et de provoquer l'agglutination des cellules animales. Ces substances ont été successivement baptisées agglutinines, hémagglutinines ou bien phytohémagglutinines et finalement lectines.

Du verbe latin *légère* signifiant choisir, lorsqu'il fut découvert qu'elles avaient la capacité de distinguer les divers groupes sanguins humains ; la notion de lectine, pour un certain nombre d'auteurs n'est plus basée sur le pouvoir agglutinant, mais seulement sur la reconnaissance spécifique par la protéine d'un motif saccharidique porté par la membrane d'une cellule (sanguine ou non). La liaison entre une lectine et son polysaccharide spécifique est comparable à une réaction anticorps-antigène.

L'agglutination des hématies est toujours le test principal permettant de détecter les lectines. Les lectines sont présentes dans toutes les branches du règne vivant. L'abondance de ces molécules et leur relative facilité de purification leur ont permis d'être largement caractérisées et d'être utilisées dans différents domaines de la biologie (**Universalis encyclopedia/lectines**), comme elles peuvent provoquer aussi l'hypertrophie de l'intestin grêle et du pancréas. Ces effets néfastes des lectines inactivé par leur traitement thermique dont l'efficacité dépend de la température et de la durée du traitement (**Kocourek., 1981**)

Les lectines font partie d'une importante classe de protéines, ce sont des molécules ubiquitaires qui se trouvent généralement dans toutes les classes d'organisme. La plupart des lectines peuvent se lier à des monosaccharides, mais leur affinité sera en général plus forte pour certains oligosaccharides (**Gianluca CIOCI 2006**)

Ces dernières peuvent en effet interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'événements et fonctions dans ses organismes vivants. Ces interactions ont une grande importance car elles se retrouvent impliquées dans des processus biologiques ainsi que dans des processus pathologiques (**Lis and Sharon 1998**).

Les lectines ont des caractéristiques importantes comme l'agglutination ou précipitation d'où leurs deuxième nom les agglutinines.

Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche et dans le secteur biomédical :

- De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent être utilisées pour l'identification, la purification de glycoconjugués aussi bien que pour leur caractérisation (**Hirabayashi 2004**).
- Certaines lectines reconnaissent spécifiquement les antigènes des groupes sanguins humains (**Boyd and Shapleigh 1954**) et sont utilisées pour leur identification dans des banques de sang.

I.2. Historique

La première agglutinine connue, la *ricine*, fut extraite en 1888 par Stillmark des graines de ricin (*Ricinus communis*, Euphorbiacée). Peu après fut isolée l'*abrine* des graines d'*Abrus precatorius* (Papilionacée). Il a été ensuite montré que les substances isolées étaient en fait un mélange de deux lectines, l'une agglutinante et peu toxique, l'autre non agglutinante et très toxique. C'est à cette dernière qu'est réservé maintenant le nom de ricine. La première agglutinine à être purifiée fut la *concanavoline A* (con A) tirée des graines du pois-sabre (*Canavalia ensiformis*, Papilionacée).

En 1954, Boyd et Sharpleigh ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des erythrocytes humains d'un groupe sanguin donné. (RAMATA NADIO 2010)

Les premières lectines furent identifiées chez les plantes au début du vingtième siècle mais la communauté scientifique ne commença à s'intéresser à cette classe de protéines qu'à partir des années soixante, en concomitance avec la naissance de la glycobiochimie. L'intérêt était motivé surtout par l'utilisation des lectines dans la détection, l'isolation et la caractérisation d'oligosaccharides.

Le Tableau 1 : récapitule l'historique de découverte des lectines (Renato, et coll. 1991)

Année	Auteurs	Découvertes
1884	Warden & Waddel / Bruyllant & Venneman	Toxicite de la graine d' <i>Abrus precatorius</i>
1886	Dixson	Toxicite de la graine de <i>Ricinus communis</i>
1888	Stillmark	Activite hemagglutinante de la graine de <i>Ricinus communis</i> Toxicite de la graine de <i>Croton triglium</i>
1890	Erlich	Utilisation de l'abrine et la ricine dans les recherches immunologiques
1891	Hellin	Activite hemagglutinante de la graine de <i>Abrus precatorius</i>

Généralités

1897	Elfstrand	Introduction du terme d'hémagglutinine
1902	Landsteiner	La réversibilité de l'hémagglutination par la chaleur
1902	Kauss	L'inhibition de l'activité hémagglutinante par le sérum non immunitaire
1907	Landsteiner & Raubitschek	Activité hémagglutinante dans les plantes non toxiques
1908	Landsteiner & Raubitschek	La spécificité des espèces de plantes à hémagglutinines
1909	Landsteiner	L'inhibition de l'activité hémagglutinante par un traitement thermique de sérum
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la Concanavalina A (Con A)
1926-7	Marcusson-Begun/Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins
1947-9	Boyd & Reguera /Renkonen	Spécificité groupe de sang des plantes à hémagglutinines
1949	Liener	Toxicité des hémagglutinines de <i>Phaseolus Vulgaris</i>

Généralités

1949	Jaffé	Inactivation Thermique des hemagglutinines de <i>Phaseolus vulgaris</i>
1952	Watkins & Morgan	L'inhibition de lectines par les sucres simples demonstration avec l'aide de lectines que les sucres sont des determinants de groupe sanguin
1954	Boyd & Sharpleigh	Introduction du terme de lectine
1960	Nowell	La stimulation mitogenique des lymphocytes par la lectine de <i>Phaseolus vulgaris</i>
1965	Agrawal & Golstein	Chromatographie d'affinite pour la purification des lectines
1966	Boyd	Lectines dans les algues
1981	Reinsner et al.	L'utilisation de lectines dans les greffes de moelle osseuse
1990	Yamauchi & Minamikawa	Expression de Con A dans les cellules d' <i>Escherichia coli</i>

Au cours des vingt dernières années, plusieurs centaines de lectines principalement extraites de plantes, ont été purifiées et caractérisées. Elles sont utilisées en tant que réactifs pour la purification et la caractérisation de glycoconjugués ou en tant que mitogènes de classes spécifiques de lymphocytes. (Yagi et al. 2002 ; Rudiger 2001).

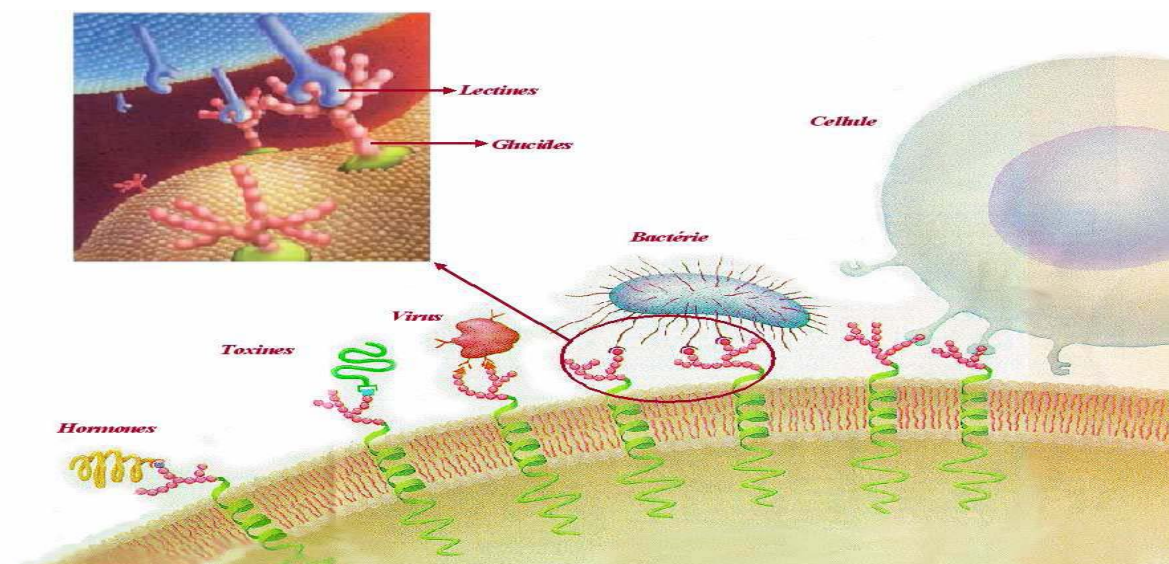


Figure 1 – Rôle de glycoconjugués situés sur la surface cellulaire. Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides.

I.3 Structure des lectines :

Du point de vue structural, les lectines sont classées en trois grandes classes selon leur topologie.

I.3.1 Les lectines simples

Ces lectines sont formées de plusieurs monomères (pas forcément identiques), dont la masse moléculaire généralement n'excède pas 40 kDa. Cette classe comprend pratiquement toutes les lectines végétales, les lectines bactériennes solubles et les galectines, une famille de lectines animales spécifiques pour le galactose (Figure 2) (Lenka., 2006).

La protéine est représentée par un ruban jaune pour les brins β , un ruban rouge pour les hélices α et un fil pour les autres zones. Une représentation en bâtons est utilisée pour le sucre et en boule pour les cations. (Lenka., 2006).

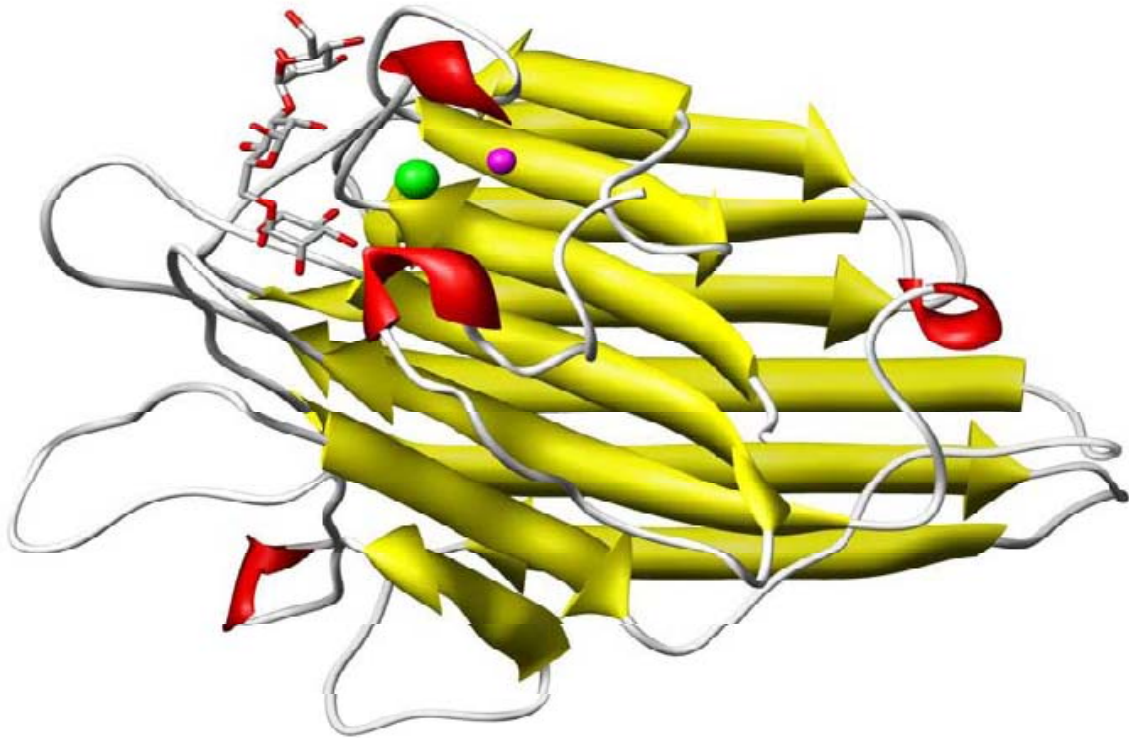


Figure2 : Représentation graphique d'un monomère de concanavaline A de *canavaliensiformis* en complexe avec le trimannoside (**Lenka ,2006**)

I.3.2 Les lectines en mosaïque :

Ce groupe comporte diverses protéines de différentes sources (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., 2006**). (**Figure 3**)

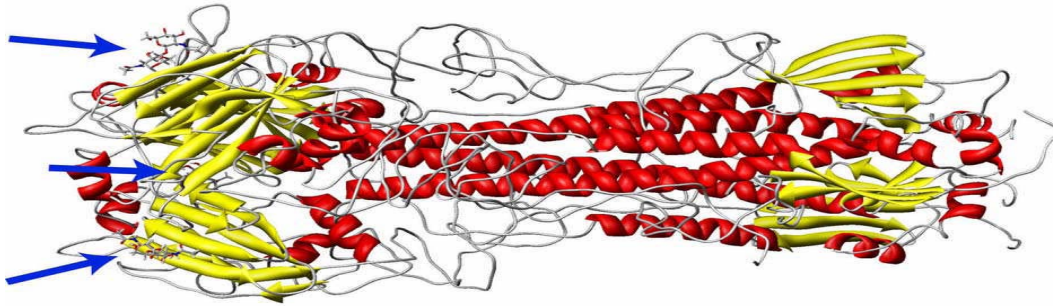


Figure 3 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine du virus Influenza en complexe avec l'acide sialique

I.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 et donc est responsable de la capacité d'adhésion du fimbriae (**Lenka., 2006**). (**Figure 4**)

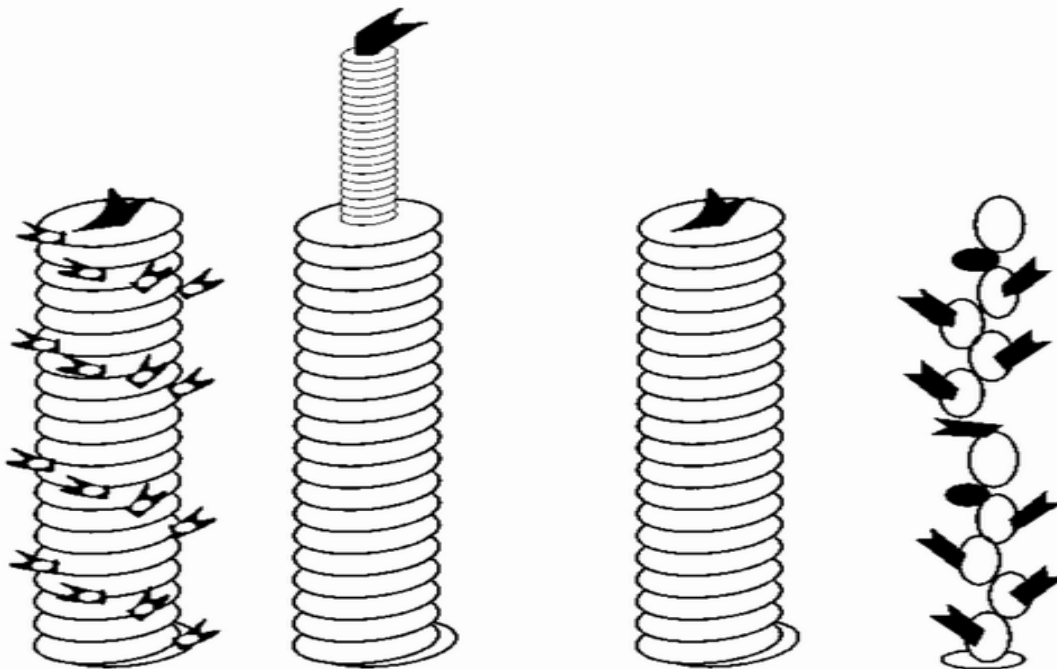


Figure 4 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *Escherichia coli*

Généralités

I.4 Classification des lectines :

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

La banque de lectines comprend ainsi 48 familles structurales différentes dont 6 d'origine végétale, 10 d'origine bactérienne, 18 d'origine animale, 5 familles d'origine virale, 8 d'origine fongique et 1 famille d'algues. **Tableau N°2 (Karolina S ,2006)**

Origine	Exemples de lectines	Native	complexé	Total
Plante	ConA Ricine	106	201	307
bactéries	PA-IL de pseudomonas Toxine de cholera	37	79	116
Animaux	E-selectin <i>Helix pomatia agglutinin</i>	80	152	232
Virus	Hemagglutinin de virus Capside de rotavirus	43	25	68
Champignons	Lectine de mousseron	17	23	40
Algues	Griffithsin	2	7	9
Total		285	487	772

Tableau 2 : Récapitulatif des structures tridimensionnelles des lectines

I.5 Les lectines présentes chez les plantes :

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

a. Les Mérolectines :

Les merolectines sont de petits peptides, formées d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides (exemple : heveine, protéines d'Orchidées).

Les merolectines sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules.

b. Les Hololectines :

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

c. Les Chimérolectines :

Les chimerolectines possèdent un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides ainsi qu'un domaine ayant une activité catalytique bien définie et agissant indépendamment du site de liaison. Selon le nombre de liaison aux glucides, les chimerolectines se conduisent comme des merolectines (exemple : chitinase classe I) ou comme des hololectines (exemple : type 2-Rip *Ribosom Inactivating Proteine* : Protéine Inactivant les Ribosomes comme la ricine)

I.6 Les lectines des microorganismes :

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

Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines *fimbriaes* (pili et flagelles), les *toxines* et les lectines *solubles* (**Imberty, et al. 2005**).

I.6.1 Les lectines bactériennes :

Les lectines bactériennes sont généralement situées sur la surface de la bactérie ou localisées dans le cytosol et jouent des rôles importants dans la reconnaissance des glycoconjugués présents à la surface des cellules de l'hôte pendant la première étape du processus d'infection, ce qui a attiré bien évidemment beaucoup d'attention dans ces dernières années (**Sharon 1996**).

Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles: les lectines fimbriales, les toxines et les autres lectines solubles qui n'appartiennent pas aux deux premières classes (**Imberty 2005**).

I.6.2 Les lectines fimbriales

Les bactéries sont dotées d'organelles de surface appelés fimbriae qui servent à différentes fonctions, comme la reconnaissance et l'adhésion sur des surfaces diverses et en particulier sur les cellules des organismes eucaryotes (**Low 1996**). Des centaines de fimbriae sont attachés à la surface d'une cellule bactérienne. Dans les trois différents types de fimbria qui ont été observés (type I, type P et type IV) l'organisation structurale est similaire (**Soto 1999**).

Généralités

Les structures cristallines des différentes lectines fimbriales résolues jusqu'à aujourd'hui appartiennent aux pili de type 1 ou de type p et montrent que les domaines lectines adoptent des repliements similaires, basés sur une structure allongée de type β -sandwich.

Le site de liaison pour le ligand est généralement une dépression peu profonde localisée sur un côté du domaine lectine. (**Figure 5**).



Figure 5 : Récepteur PAPG en complexe avec le tetrasaccharide GBO4 (gauche, pdb 1j83) et lectine fimbriale F17-AG en complexe avec le GlcNAc (droite, pdb 1o9w)

I.6.3 Les toxines

Les toxines sont des protéines sécrétées par la bactérie qui montrent une activité toxique directe dans les cellules cibles. L'endommagement de la cellule peut advenir par la rupture de la paroi cellulaire, par l'inhibition de la synthèse protéique ou par l'activation des métabolismes secondaires. Les toxines du type AB sont sécrétées par différents microorganismes tels que *Vibrio cholerae*, certaines souches d'*E.coli* (ETEC), *Shigella dysenteriae* et *Borderella pertussis*. Ces toxines sont formées d'une sous-unité A qui est responsable de l'activité enzymatique et d'une ou plusieurs sous-unités B (**Figure 6**) qui sont spécialement conçues pour reconnaître spécifiquement les sialogangliosides présents sur la surface cellulaire, comme le GM1, GM2 et le Gb3 (**Merritt 1995**).

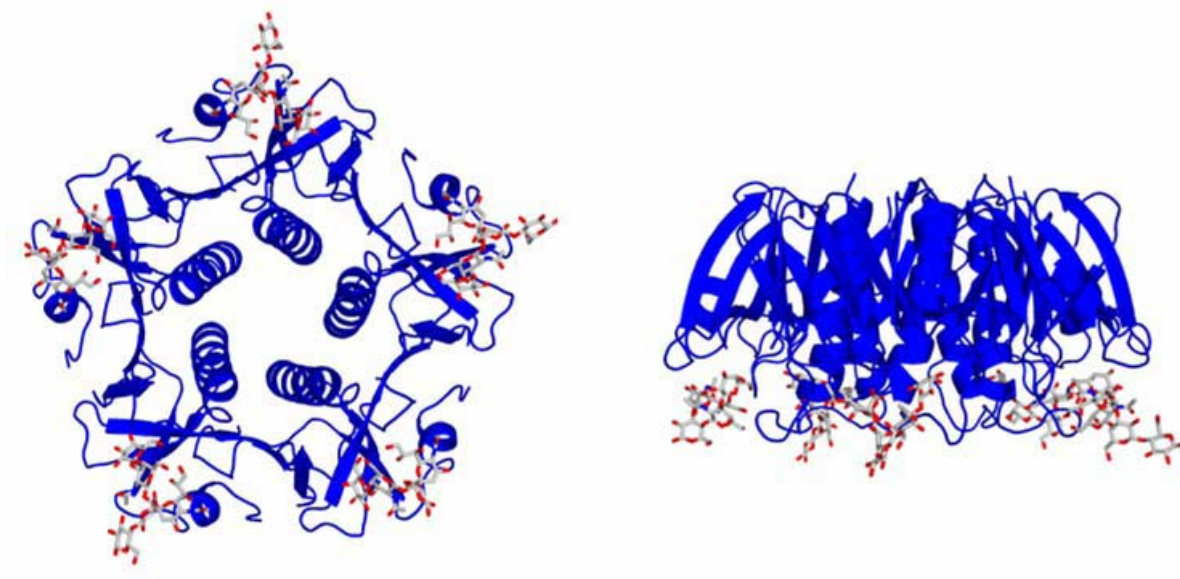


Figure 6 : Deux orientations pour la sous-unité B de la toxine du Choléra en complexe avec le GM1 (pdb 3chb)

I.6.4 Les lectines solubles

Seul un petit nombre de lectines solubles ont été caractérisées et le domaine d'étude est en pleine expansion. Dans cette famille de lectines bactériennes on regroupe toutes les protéines solubles exprimées par la bactérie ayant une affinité pour des sucres et ne montrant pas d'activité enzymatique. **(Kostlanova 2005)**.

Tableau 3 : Lectines bactériennes solubles

Nom	Type	Spécificité	Caractéristiques
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA-II	Pathogène humain	galactose	Lectine cytotoxique
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA-III	Pathogène humain	fucose/mannose	Très haute affinité vers le fucose
<i>Cromobacterium violaceum</i> CV-III	Pathogène humain	fucose/mannose	Très haute homologie avec PA-III

Généralités

<i>Burkolderia cenocepacia</i> BCLx	Pathogène humain	fucose/mannose	Différents gènes identifiés homologues à PA-IIL
<i>Ralstonia solanacearum</i> RS-IIL	Pathogène végétal	mannose/fucose	Très haute homologie avec PA-IIL
<i>Ralstonia solanacearum</i> RSL	Pathogène végétal	fucose	Similaire à <i>Aleria arantia</i> lectin, une lectine de champignon

I.7. Les lectines de champignon

Les champignons, y compris les moisissures et les champignons proprement dits, font partie d'une importante classe d'organismes. De par leurs propriétés nutritionnelles, les champignons ont toujours gardé une place importante dans notre alimentation, dans nos traditions gastronomiques mais également dans la médecine, spécialement dans la médecine traditionnelle orientale. N'étant pas capable d'utiliser la photosynthèse comme les plantes ils doivent extraire du milieu toutes les substances nutritives dont ils se nourrissent et ont donc adopté des modes de vie saprophytes, parasites ou symbiotiques. Ces organismes, qui à première vue peuvent apparaître très simples, ont développé au cours des centaines de millions d'années d'évolution une impressionnante série de gènes et sont donc très riches en métabolites et en protéines qui confèrent à la fois des propriétés bénéfiques ou très toxiques.

Parmi les protéines qui ont été purifiées à partir de champignons on peut trouver des protéines antifongiques, des ribonucléases, des protéines de type *ubiquitine*, des lectines, des cellulases, des xylanases, des laccases, des invertases et des tréhaloses phosphorylases (Ng 2004).

L'intérêt montré dans les dernières années pour les lectines de champignons est principalement motivé par la découverte que certaines lectines ont des propriétés pharmacologiques intéressantes comme par exemple la stimulation du système immunitaire, contre l'hypertension et contre l'hypercholestérolémie mais aussi antivirales et anticancéreuses (She 1998; Sze 2004). L'abondance de lectines dans les champignons est tout à fait remarquable et un test d'agglutination conduit sur plus de 400 spécimens a permis d'identifier la présence de lectines dans la moitié des champignons analysés (Pemberton 1994).

I.7.1 Caractéristiques

Les lectines de champignon qui ont été purifiées et caractérisées jusqu'à aujourd'hui montrent des caractéristiques très variables, soit en terme de taille (12-190 kD), soit en terme de structure primaire, de glycosylation, de nombre des sous-unités (1-8) et de structure tridimensionnelle. La spécificité pour les sucres est aussi très variable et les ligands reconnus par ces lectines sont soit de simples monosaccharides, soit des structures plus complexes comme des oligosaccharides ou des glycoprotéines.

De plus, les lectines de champignon sont des outils intéressants pour la glycobiologie et ont trouvé des applications dans les études taxonomiques, embryologiques et bactériologiques, dans le fractionnement des glycoconjugués, des cellules, etc. Cependant, malgré l'intérêt montré dans ces dernières années qui a conduit à l'isolation de nombreuses lectines, la connaissance de ces protéines reste encore très limitée.

I.7.2 Rôles

En ce qui concerne les rôles biologiques, différentes hypothèses ont été avancées (**Guillot 1997**). Elles joueraient probablement un rôle important dans la période de dormance, dans la croissance et la morphogenèse du corps fructifère ou comme protéines de défense immunitaire. Chez les saprophytes, les lectines pourraient avoir un rôle dans la reconnaissance des substrats nutritifs. Par contre, chez les champignons qui adoptent un mode de vie parasitaire ou symbiotique avec d'autres organismes, les lectines sont probablement impliquées dans les processus de reconnaissance de l'hôte ou dans les premières étapes de la mycorrhization (**Giollant 1993**)

I.8 Rôle des lectines dans les organismes vivants :

Le Tableau 4 : récapitule le rôle des différentes lectines dans le monde vivant.

Lectines	Rôles
<i>Bactéries</i>	
Lectines fimbriales	Adhésion, infection
Lectines solubles	Adhésion, infection, formation de biofilm
Toxines	Adhésion, infection

Généralités

<i>Virus</i>	
Influenza haemagglutinine	Adhésion, infection
<i>Amoeba</i>	
Lectines de surface	Adhésion
<i>Plantes</i>	
Légumineuses	Défense, symbiose avec les bactéries fixant l'azote
Autres	Défense
Galectines	Reconnaissance des glycanes dans la matrice extracellulaire

I.9. Spécificité des lectines :

La plupart des lectines sont des protéines multivalentes. Elles sont capables de se lier à plusieurs molécules de glucides. La multivalence peut provenir de la répétition de type « Tandem » de domaine lectines dans un polypeptide, de l'association de plusieurs monomères ou de la présentation de plusieurs lectines sur une surface cellulaire. Les interactions multiples entre d'une part les lectines multivalentes et d'autre part les glycoconjugués, sont impliquées dans les processus de reconnaissance (**Lee and Lee 1995**). (**Le tableau 5**) nous montre la spécificité osidique de certaines plantes à lectines.

On peut identifier deux classes de lectines par rapport à leur spécificité : celles qui reconnaissent un monosaccharide spécifique et celles qui reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (**Sharon 2003**). Les 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 (**Park, et coll. 2008**). Par exemple, en utilisant les techniques de test ELLA (Enzyme Linked Lectin Assay) et de test

Généralités

« Glycans array » la spécificité d'une lectine peut être déterminée. Ces techniques sont simples, rapides et requièrent de quantités réduites de matériel.

ESPECES	SPECIFICITE
<i>Abrus precatorius</i>	Gal
<i>Adenia digitata</i>	Gal
<i>Aleuria aurantiaca</i>	L-Fuc
<i>Canavalia brasiliensis</i>	Man > Glc
<i>Canavalia ensiformis</i>	Man > Glc
<i>Dolichos biflorus</i>	GalNAc
<i>Phaseolus vulgaris</i>	GalNAc
<i>Vicia sativa</i>	Man
<i>Ulex europaeus 1</i>	L Fuc
<i>Momordica charantia</i>	GalNAc
<i>Cytissus sessilifolia</i>	GlcNac >Fuc >Gal
<i>Datura stramonium</i>	GlcNac

Tableau 5 : Spécificité osidique de certaines plantes a lectines (**Renato, et coll. 1991**)

I.10. Propriétés Biologiques des lectines :

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées.

I.10.1 Liaison avec les sucres

Elle est spécifique et propre à chaque lectine de sorte que la connaissance du sucre spécifique conditionne la mise en évidence de l'activité de la lectine (**Miyoshi et coll, 1982**).

I.10.2 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 lymphoblastiques résulte du pouvoir mitogène des lectines mais en général elle ne s'exerce que sur les lymphocytes T (**Barbosa, 2001 ; Falasca 1989 ; Nachbar et coll., 1980**).

I.10.3 Actions antivirales

Les lectines peuvent avoir des actions antivirales comme celles observées par les RIPs (Ribosomes inactivant les protéines) (**Wang et coll, 1998**).

Les lectines mannose-spécifiques isolées de bulbes de 15 espèces sauvages du genre *Narcissus* cultivées en Espagne ont une activité inhibitrice anti-VIH1. L'activité anti-VIH-1 la plus efficace est obtenue avec les extraits de l'espèce *Narcissus tortifolius* (**Lopez 2003**).

I.10.4. 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**), les effets pro et antiinflammatoires (**Assreuy 1997**), l'induction de l'apoptose (**Kulkarni 1988**).

I.11. Agglutination cellulaire

L'agglutination cellulaire est la manifestation la plus visible de l'interaction des lectines avec les cellules. Les lectines doivent posséder au moins deux sites de reconnaissance et de liaison avec des saccharides de surface des cellules animales ou autres (bactéries, virus, mycoplasme, champignon) pour qu'elle puisse se produire. Les lectines monovalentes ont un seul site de reconnaissance ne provoquent pas d'agglutination (**Peumans et coll., 1995 ; Wang et coll., 1998**).

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**).

I.12. quelques importantes lectines:

lectines	Exemple de commentaires
Lectines de légumes	concanavallineA, lectines de pois
Agglutinine de germe de blé	Fréquemment utilisée dans l'étude des surfaces membranaire des cellules normales ou cancéreuses
Ricine	Glycoprotéines cytotoxiques provenant des graines de ricin
Toxines bactériennes	Entérotoxine thermolabile d'E. Coli et toxine du coléra
Hémagglutinine du virus de la grippe	Responsable de l'attachement à la cellule hôte ainsi que la fusion membranaire
Lectine de type S	Lectine animales se lient avec les B-galactose, elles ont aussi des rôles dans les interactions cellule-cellule et cellule- matrice extracellulaire

Tableau 6 : quelques importantes lectines (Mancheno., 2005).

I.13. Utilisation des lectines

Les lectines peuvent interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'évènements et fonctions dans ces organismes vivants. Ces interactions ont une grande importance car elles se retrouvent impliquées dans des processus biologiques ainsi que dans des processus pathologiques (Lis and Sharon 1998).

Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédical et dans le domaine agronomique.

I.13.1 Dans le domaine biomédical

a. Hématologie :

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

b. Immunologie :

De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent être utilisées pour l'identification et la purification des glycoconjugués aussi bien que pour leur caractérisation (**Hirabayashi 2004**).

Les lectines mitogènes sont employées pour déceler les allergies médicamenteuses, pour reconnaître les déficiences immunologiques congénitales ou acquises, pour étudier les sensibilisations dues aux maladies infectieuses et pour juger des effets de diverses manipulations immunosuppressives et immunotherapeutiques (**Jaffe, 1980**).

c. Biologie cellulaire :

Les lectines sont des outils pour étudier la nature, les structures, la dynamique des membranes cellulaires (possédant des résidus saccharidiques) sous des conditions normales et pathologiques (**Jaffe, 1980**). Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses tropicales présentent des propriétés anti-inflammatoires (**Alencar, 2005**).

d. Cancérologie :

Certaines lectines purifiées à partir d'invertébrés terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histochimiques puisque certaines maladies tel le cancer sont associées à une modification des glycanes présents sur les cellules (**Guillot, coll. 2004**). (**Kenoth et al 2001**) rapportent qu'en raison de leur agglutination préférentielle aux cellules cancéreuses, les lectines sont suggérées comme transporteurs pour diriger drogues et produits pharmaceutiques vers les cellules cancéreuses. (**Tableau 7**).

<i>Propriétés</i>	<i>Applications</i>
Agglutination spécifique des globules rouges selon le groupe sanguin	- typage du sang - identification de nouveaux groupes Sanguins
Induction de la mitose	étude de la constitution chromosomique de la cellule et détection des anomalies

Généralités

Agglutination cellulaire	recherche sur l'architecture des membranes externes cellulaires, leurs changements et transformations. - phagocytose et motilité. Diminution de la croissance des cellules Tumorales
Précipitation des polysaccharides et des glycoprotéines	- isolement, purification et études structurales des glucides, - purification des glycoconjugués (enzymes, hormones) - modèles pour la réaction antigène anticorps (test ELISA, etc)
Liaison aux sucres	- études des sites de liaison spécifique des protéines et glycoprotéines. - structure et fonctionnement des Membranes

Tableau 7 : représentant propriétés et applications des lectines dans le domaine biomédical

I.13.2 Dans le domaine agronomique

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

Par exemple, la lectine de blé et celle de graine de *Bauhinia purpurea* ont des effets létaux pour deux insectes (*Ostrinia nubilabis* et *Diabrotica undecimpunctata*) se nourrissant sur le maïs, l'action des lectines peut se faire à des concentrations relativement faibles (**Peumans et coll. 1995**).

I.14. Le Système Immunitaire et l'Immunostimulation :

Le système immunitaire joue un rôle essentiel dans la défense naturelle, il a la capacité de reconnaître les agents étrangers à l'organisme, mettant en jeu deux types de défenses: les défenses non spécifiques, naturelles ou innées et les défenses spécifiques ou adaptatives

La modulation du système immunitaire (immunomodulation ou immunostimulation) est devenue un aspect important de la recherche anti-infectieuse. En effet, l'activation excessive ou inappropriée du système immunitaire peut engendrer des conséquences néfastes pour l'hôte.

Les immunostimulants ont une action plus générale sur le système immunitaire et peuvent modifier simultanément plusieurs réponses immunologiques.

Généralités

C'est Gaston Ramon qui, en 1925, « instaure le principe des *substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité*, technique qui permet d'obtenir des sérums plus riches en antitoxines en joignant au vaccin une substance irritante pour les tissus »

Dès 1927, différentes substances sont testées en tant qu'adjuvant pour leur pouvoir immunostimulant : mie de pain, tapioca aluminium (sous forme d'un sel : hydroxyde ou phosphate). En 1937, remarquant que des animaux infectés par la tuberculose avaient parfois des réactions marquées lors d'une vaccination subséquente, Jules T. Freund a l'idée de se servir de la bactérie tuberculeuse mélangée à une émulsion comme d'un adjuvant (**J. Freund et coll,1937**)

L'intérêt montré ces dernières années pour les lectines de champignons est principalement motivé par la découverte que certaines lectines ont des propriétés pharmacologiques intéressantes comme par exemple la stimulation du système immunitaire, anti-inflammatoires, antivirales et anticancéreuses (**She, Q.B., Ng, T.B. and Liu, W.K. 1998**) ; (**Sze 2004**) ; (**Wang,H.,J.Gao and T.B. Ng,2000**) ; (**Waiser, S.P. and A.L. Weis, 1999**).

I.15. Intérêt des lectines pour l'homme

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

- De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent être utilisées pour l'identification, la purification de glycoconjugués aussi bien que pour leur caractérisation (**Hirabayashi 2004**).

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

- Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses tropicales présentent des propriétés anti-inflammatoires (**Alencar, et al. 2005**).

- Certaines lectines purifiées à partir d'invertébrés terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histo-chimiques puisque certaines maladies tel le cancer sont associées à une modification des glycannes présents sur les cellules (**Guillot, et al. 2004**)

I.16. L'influence des lectines sur l'homme :

De nombreux facteurs influencent l'équilibre biochimique unique d'une personne et ses besoins nutritionnels. Notre groupe sanguin (O, A, B ou AB) en serait la clé. Certains aliments, selon notre groupe, auraient une action positive ou négative sur notre santé, notre énergie, notre poids et notre espérance de vie. Les responsables majeurs seraient les lectines (du latin choisir) que l'on trouve dans les végétaux et les animaux et qui, dans notre

Généralités

organisme, vont être attirées par certaines cellules plutôt que par d'autres. Ces substances (protéines) sont susceptibles d'interagir avec les antigènes de surface des cellules de l'organisme pour provoquer un processus d'agglutination. La plupart des aliments contiennent des lectines dont certaines sont capables d'agresser un groupe sanguin en raison de leur ressemblance avec les antigènes d'un autre groupe. Par exemple, les lectines du lait s'apparentent aux antigènes du groupe B. Donc, dès qu'une personne des groupes O ou A absorbe du lait, son organisme provoque une agglutination pour les rejeter. Les systèmes nerveux, cardiovasculaire, digestif ou hormonal peuvent alors être affectés.

Généralement, 95% des lectines sont neutralisées par l'organisme. Toutefois, près de 5% traversent la barrière intestinale pour arriver dans le sang où elles attaquent et détruisent les globules blancs et rouges engendrant ainsi, à long terme, un certain nombre de problèmes de santé.

Certaines lectines, selon les groupes sanguins et les aliments, ont des effets mimétiques de l'insuline et vont donc accroître certains problèmes de santé:

- Fringales, grignotages, maux de tête
- Prise de poids en graisse et en eau
- Augmentation du cholestérol LDL
- Humeur désagréable, tendance à la mélancolie
- Hypoglycémie, "coup de pompe".

Les lectines rencontrent d'abord les cellules du système digestif. Elles produisent, au cours de la digestion, une certaine quantité d'indoles et de polyamines (putrescine, spermidine et cadavérine). Les lectines de blé intensifient la production de polyamines chez tous les groupes sanguins d'où une diminution de la digestibilité et de l'utilisation des protéines dans l'intestin. **(Lis and Sharon 1998)**

II. généralités sur le champignon utilisé :

Notre travail de recherche portera sur un de champignon du Sahara Algérien, appelé communément truffe blanche et appartenant à l'espèce *terfezia.boudiéri*

II.1. Classification scientifique :

Terfezia



Royaume : Mycètes
Division : Ascomycota
Classe : Pezizomycetes
Ordre : Pezizales
Famille : Terfeziaceae ou Pezizaceae
Genre : *Terfezia*
Especies: *Terfezia Alsheikhii*
Terfezia Arénaire
Terfezia Austroafricana
Terfezia Boudieri
Terfezia Canariensis
Terfezia Claveryi
Terfezia Decaryi
Terfezia Eremita
Terfezia Leptoder

Etude Expérimentale

I. Matériels et méthodes :

I.1. Matériels

Notre travail a nécessité l'utilisation de plusieurs techniques de laboratoires relevant des laboratoires de biochimie et d'immunologie.

➤ Matériel végétal :

Nos travaux ont été effectués sur la truffe blanche du Sahara algérien.

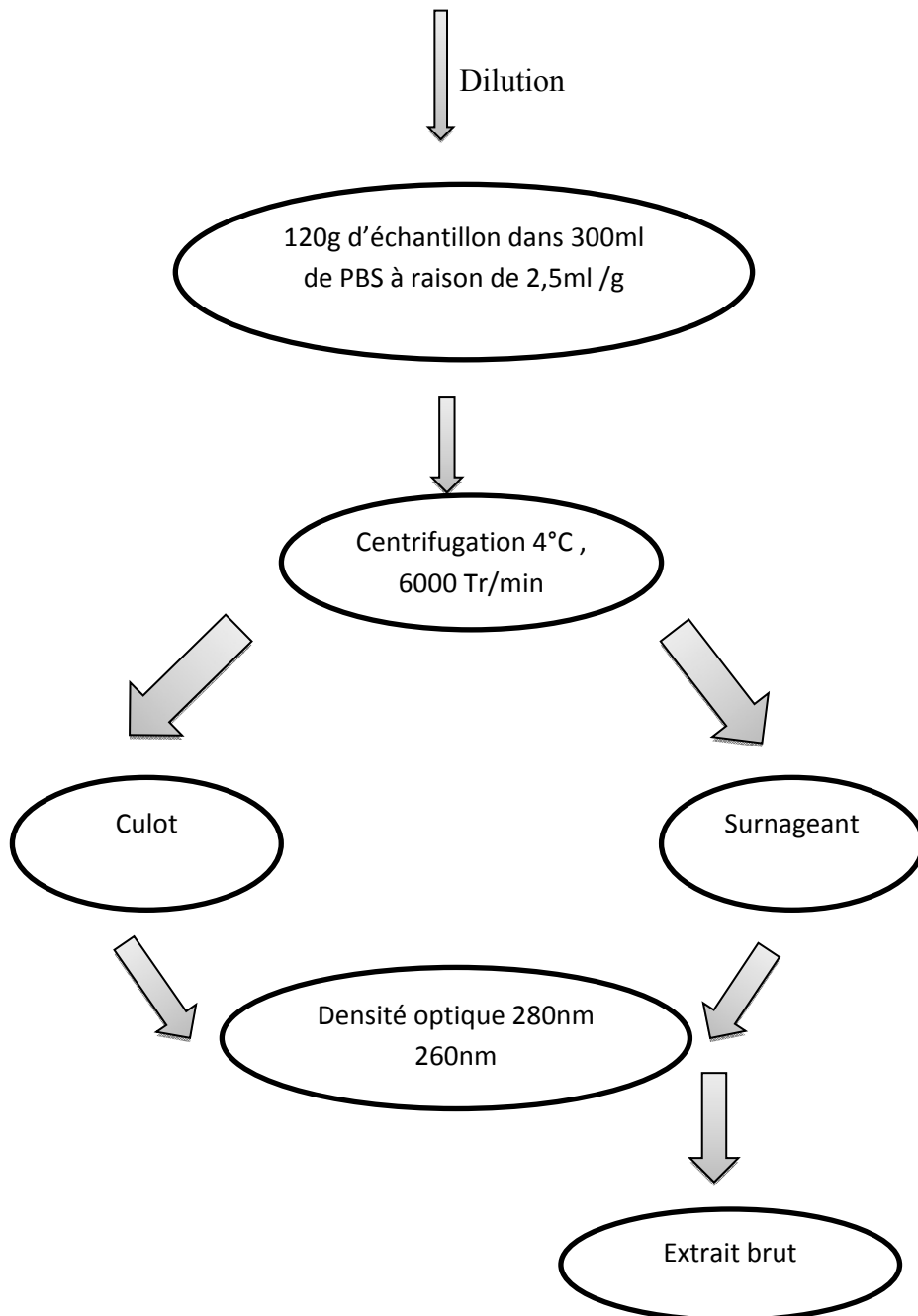
➤ Matériel animal :

Le sang de lapins nous a servi pour réaliser les tests d'hémmaglutination et des souris males pour les tests d'Immunologie.

Protocole expérimental suivi :



120 g de *terfezia.boudieri*
Rendus en poudre grâce à L'Azote liquide



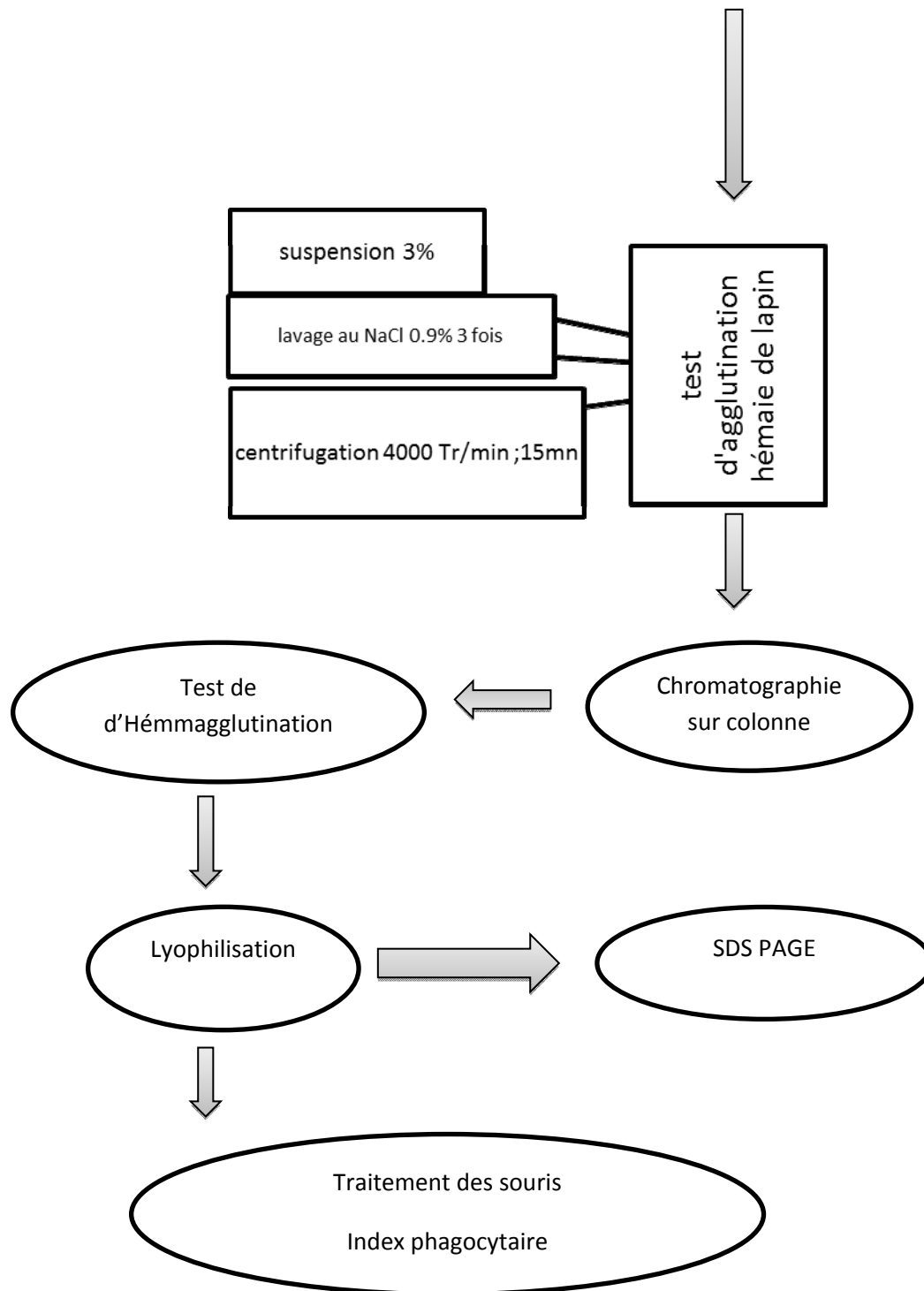


Figure 7 : schéma explicatif de la procédure expérimentale

I.2. Méthodes

I.2.1 Protocole d'extraction

Différentes méthodes d'extractions ont été utilisées :

I.2.1.1 Préparation de l'extrait brut

L'extraction des lectines a été faite selon la méthode de **(Budu 1988 et de Cammu et al 1985)**.

➤ Broyage

Le rajout d'une quantité suffisante d'azote liquide a permis au champignon de prendre un aspect solide et nous a facilité sa transformation en poudre dans un mortier.

L'échantillon est ensuite dilué dans du tampon (PBS) à raison de 2.5 ml/g, soit 120g dans 300ml. Le volume obtenu est homogénéisé grâce à un ultraturax, et centrifugé à 4000 trs/min pendant 20 min à 4°C.

Les premiers culots et surnageants obtenus lors de la première centrifugation subiront une deuxième à raison de 15000 trs/min pendant 20 min à 4°C.

En fin de centrifugation les deux culots et les deux surnageants vont être remis dans la solution tampon, homogénéisés avec un agitateur magnétique, puis filtrés au travers de membranes millipores (0.45µm), et enfin conservés à 4°C.

I.2.2. Dosage des protéines

Nous avons procédé au dosage des protéines en mesurant l'absorbance au spectrophotomètre des différents extraits à 280nm pour les protéines et 260nm pour les acides nucléiques éventuellement présents dans nos solutions qui contaminent souvent les préparations de protéines. **Warburg et Christian (1941)** ont étudié les propriétés spectrales de ces deux macromolécules et ont développé une méthode pour déterminer la concentration protéique d'un mélange contenant une proportion donnée d'acides nucléiques. Cette méthode requiert la mesure de l'absorption à deux longueurs d'onde: à 280 nm, pour les protéines, et à 260nm pour les acides nucléiques.

Ces valeurs peuvent alors s'intégrer dans l'équation:

$$[\text{Protéines}] \text{ (mg/ml)} = 1.55 A_{280} - 0.76 A_{260}$$

I.2.3. Test d'agglutination avec les hématies de lapin

I.2.3.1. Préparation de suspension d'hématies 3%

La préparation de suspension d'hématies est effectuée selon la méthode de **Higuichi et al. (1989)**. Avec quelques modifications.

Après trois lavages avec du NaCl 0,9% dans des tubes à essai; le mélange est ensuite centrifugé à trois reprises à 4000 trs /mn pendant 15 min à la température ambiante. Après chaque centrifugation on élimine le surnageant et on récupère le culot dans du PBS. A ce stade, la transparence du surnageant nous indique l'arrêt de l'opération de centrifugation. Le culot obtenu est dilué avec du NaCl à raison de 1,5 ml de culot pour 48,5 ml de NaCl, afin d'obtenir une suspension d'hématies à 3%.

Nous avons utilisé ces hématies diluées pour le test d'agglutination.

I.2.3.2. Test d'agglutination

La mesure d'activité hémagglutinante est le test le plus simple et le plus largement utilisé pour la détection des lectines et leur caractérisation (**Goldstein, et al. 1980, Rüdiger**). Il est basé sur la propriété de ces protéines à se lier aux glycoconjugués de la surface des érythrocytes. Ce test repose sur l'observation de l'agglutination (ou agrégation) des érythrocytes par les lectines visible à l'œil nu.

L'activité hémagglutinante des lectines de l'extrait de *terfezia* a été réalisée dans des microplaques de titration.

A l'aide d'une micropipette ,50 µL des hématies de lapin ont été rajouté à 50 µL d'extrait brut.

La lecture de l'activité hémagglutinine des lectines (teneur en lectines) est réalisée après une heure par une estimation visuelle et le microscope optique (Grossissement X 10).

I.2.4. Chromatographie d’Affinité sur colonne de sephadex G75

- Nous avons utilisé une colonne de 30 cm de longueur et 1cm de diamètre.

➤ Technique :

- Préparation de la colonne de Sephadex G75

4 g de Séphadex sont dissous dans 30 mL PBS. L’hydratation du gel dure environ 01 heure à T° ambiante. L’élution a été réalisée en présence d’un tampon PBS, (PH = 7.4), avec un débit de 0,22 ml/min, et des fractions de 3 ml chacune furent ainsi collectées.

- Du bleu de dextran a été utilisé pour déterminer le volume mort de la colonne.

- L’échantillon dissout dans du PBS, va subir un passage à travers la colonne de séphadex G75. Cette première opération sera arrêtée dès que l’absorbance se rapproche de zéro. Une deuxième élution est de suite lancée en présence du tampon PBS glucose 0.2mole/litre.

Toutes les fractions feront l’objet d’une lecture de l’Absorbance à 280nm. Une courbe du profil d’élution sera ainsi faite.

Des tests d’hémagglutination de toutes les fractions recueillies après la chromatographie sur colonne seront réalisés afin de repérer et récupérer seulement les fractions qui présenteront une agglutination positive.

I.2.5. Lyophilisation :

Seules les fractions recueillies présentant une activité hémagglutinante positive, donc renfermant des lectines feront l’objet d’une Lyophilisation (P= 0.165 mbar ; T -52°C).

Le lyophilisat va servir pour une SDS-PAGE afin de contrôler la pureté de notre échantillon de lectines ; et également pour une étude biologique (Immunomodulation et activité phagocytaire)

I.2.6. Séparation des protéines en gel de polyacrylamide dénaturant (SDSPAGE) (Dodécyl sulfate de sodium)

La technique d’électrophorèse SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) permet de séparer les protéines en fonction de leur masse moléculaire

(Laemmli modifiée, 1970 ; Singh N.K 1991) A un pH donné, les protéines acquièrent une charge électrique négative ou positive selon leur point isoélectrique. Cette propriété leur permet de migrer au sein d’un champ électrique. Dans cette technique, les protéines sont préalablement incubées avec l’agent réducteur β -mercaptoéthanol, qui rompt les ponts disulfures, et du SDS, qui dénature les protéines, de telle sorte à conférer une charge uniquement négative aux protéines.

Dès lors, les protéines vont migrer dans la même direction au travers d’un gel de polyacrylamide et ne seront séparées qu’en fonction de leur masse moléculaire.

Les marqueurs de masse moléculaire utilisée couvrent une gamme variant de 10KDa à 250KDa. Les échantillons sont déposés à raison de 50 μ l par puits. La migration est effectuée à 40 mA par gel dans un tampon tris 25mM ph 8,5 contenant 1.4% (p/v) de glycine et 0.1% (p/v) de SDS. Une fois la migration électrophorétique achevée, le gel est révélé au moyen d'une coloration au bleu de coomassie a 12% (p/v) de TCA et 5% (v/v) de solution mère de bleu de coomassie R250 à 1% dans l'éthanol pendant toute la nuit. Les gels sont colorés toute la nuit avec la solution de coloration. Ils sont enfin décolorés dans de l'eau de robinet.

➤ Préparation du gel de polyacrylamide

- **Gel de séparation : T : 12,52% C : 0,97%**

Réactifs	Volume (ml)
Acrylamide 40%	12,4ml
Bis acrylamide 2%	2,4ml
Tampon Tris – HCL Ph 8,8	15,2ml
Eau permutée	8,6ml
SDS 10%	0.40ml
APS 1%	1ml
TEMED	0.020ml

Tableau 8: préparation du gel de séparation

- **Gel de concentration: T: 2,88 % C : 1,42%**

Réactifs	Volume (ml)
Acrylamide 40%	1ml
Bis acrylamide 2%	0,3ml
Tampon Tris – HCL Ph 6,8	1,7ml
Eau permutée	10,2ml
SDS 10%	0.14ml
APS 1%	0,70ml
TEMED	0.014ml

Tableau 9: préparation du gel de concentration

➤ **Révélation des protéines sur gel de polyacrylamide :**

Les protéines peuvent être révélées par coloration au bleu de Coomassie (détection d'environ 1 µg de protéines). Le gel est incubé dans une solution de bleu de Coomassie [bleu de Coomassie 0,25% (p/v), acide acétique 10% (v/v), méthanol 50% (v/v)] pendant 10 à 30 min sous agitation. L'excès de colorant est éliminé par des bains successifs dans une solution de décoloration [éthanol 26% (v/v) et acide acétique 7% (v/v)].

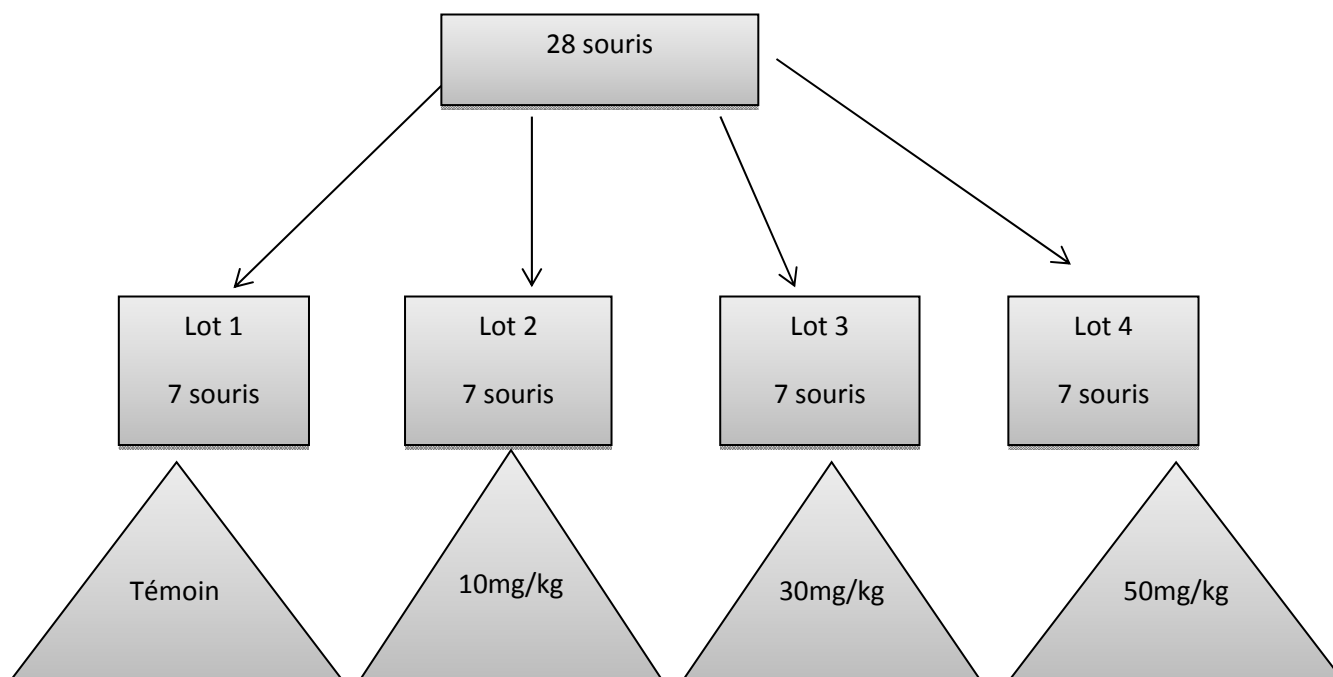
II. Etude biologique :

Afin d'apprécier l'activité immunomodulatrice éventuelle de nos lectines, nous avons utilisé un lot de 28 souris males appartenant à la race Albinos, espèce *Mus musculus* et provenant de l'animalerie de la Faculté de Médecine de Constantine. Les 28 souris ont été nourries avec des croquettes dont la composition est reportée dans l'Annexe 3, placées dans un environnement à température ambiante 25°C durant toute notre période expérimentale et séparées en 4 lots différents.

Chacun des lots comprenant 7 souris a été choisi d'une manière aléatoire.

Une solution d'échantillon à analyser (lyophilisat de lectines) dissoute dans du NaCl à 0.9% est injectée aux 21 souris des trois lots par voie intra péritonéale selon les doses suivantes : 10mg/kg ; 30mg/kg ; 50mg/kg. Le quatrième lot ; le témoin, ne recevra que 0.5ml d'NaCl à 0.9%.

Figure 8 : Schéma récapitulatif de la procédure suivie :



- Les différentes doses injectées aux souris sont calculés selon le poids de ces dernières.

48heures après la première injection, une deuxième leur sera faite à raison de 0.1ml/10g du poids de la souris au travers de la veine caudale, contenant une solution de carbone composée de : (3ml d'encre de chine, 4ml d'NaCL à 0.9% et 4ml de gélatine a 3%).

II.1. Prélèvements sanguins :

Deux prélèvements sanguins par voie oculaire après 5 et 15min d'intervalle sont réalisés. Le sang va être collecté grâce à des tubes capillaires dans des tubes secs contenant du Na₂CO₃ 0,1% à raison de 14 gouttes de sang dans 4ml d'Na₂CO₂ 0,1% dans chaque tube. La lecture de l'absorbance des différents tubes dans un spectrophotomètre visible sera mesurée à une longueur d'onde de 675nm.

➤ **Activité phagocytaire :**

L'activité phagocytaire exprimée par l'index phagocytaire K, nous renseigne sur la fonction de l'ensemble des cellules du système réticulo-endothélial au contact du sang circulant en présence d'un corps étranger (Encre de chine contenant du carbone).L'activité phagocytaire

sera mesurée d'après la cinétique (vitesse) de l'épuration sanguine du carbone colloïdal (vitesse de disparition du carbone du sang).

Le taux de clairance exprimé par la période de demi-vie du carbone dans le sang ($t_{1/2}$, min) ; ainsi que les activités phagocytaires K, sont calculées d'après les formules de **(Biozzi et al, 1953)** :

$$K = \frac{\ln OD1 - \ln OD2}{t_2 - t_1} \quad , \quad t_{1/2} = \frac{0,963}{k}$$

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

II.2. Analyse statistique :

Les résultats de l'activité phagocytaire et le taux de clearance du carbone sont représentés sous forme de moyennes et écart-types. Le traitement statistique est réalisé par le biais du test One-Way ANOVA et le test Tukey's multiple comparaisons (logiciel Minitab version 17.0), pour étudier la différence entre les groupes (04 lots).

Cette différence sera considérée selon un risque d'erreur (p) comme :

*Non significative si $p > 0,05$.

*Significative si $0,05 > p > 0,01$.

*Hautement significative si $0,01 > p > 0,001$.

*Très hautement significative si $p < 0,001$.

Résultats

Et

Discussions

I. Résultats et discussions

I.1. Test d'agglutination :

La plupart des lectines sont capable d'interagir avec des globules rouges. Cependant 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'héماغglutination. (**Tableau 10**)

Extraits	Test d'agglutination
Homogénat	+++
Surnageant après 1ere centrifugation	+
Surnageant après 2eme centrifugation	++
Culot 1	-
Culot 2	-

Tableau 10: agglutination des hématies de lapin en présence d'extraits de truffe blanche

- +++ : Forte agglutination**
- ++ : Moyenne agglutination**
- + : Faible agglutination**
- : Absence d'agglutination**

Parmi ces extraits utilisés, on remarque que l'homogénat représente une forte agglutination et une moyenne pour le surnageant après la deuxième centrifugation, par contre les culots 1et2 n'ont donné aucune agglutination. Nos résultats nous indiquent donc que les lectines se retrouvent donc pour leur majeure partie dans le surnageant. (**Tableau 10**), (**Planche 1**)

Résultats et discussions

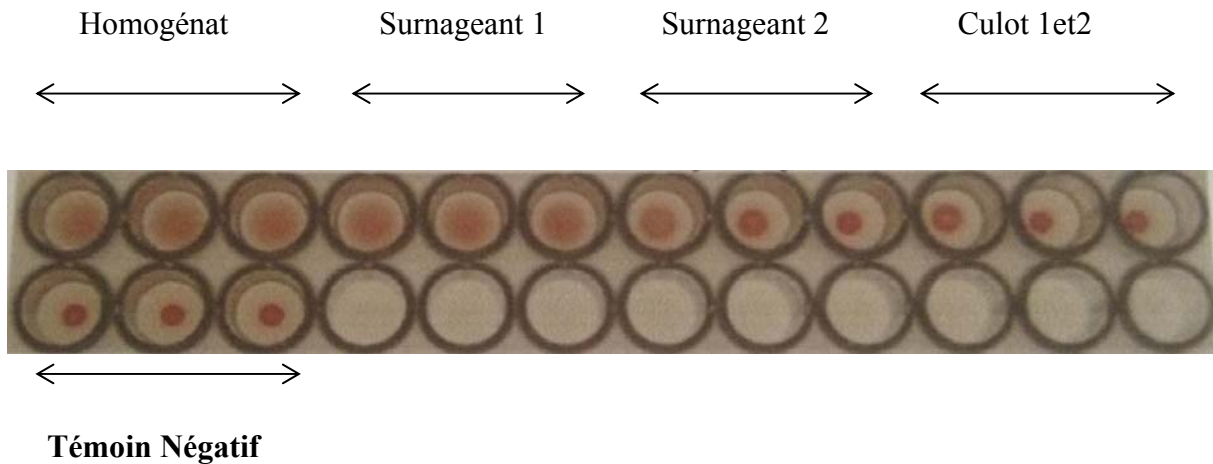


Planche 1: observation microscopique de l’agglutination des quatre extraits utilisés

Ces résultats indiquent clairement que la truffe blanche (*terfezia.boudiéri*) contient effectivement des substances à activité agglutinante sur les hématies, et donc ne peut être que de nature glycoprotéique.

I.2. Chromatographie d’Affinité sur colonne de séphadex :

Nous avons procédé à une chromatographie sur gel de sephadex G75 uniquement pour améliorer la pureté de notre extrait et vérifier en même temps si nos lectines pouvaient se fixer sélectivement sur le support du séphadex qui est un polydextran de glucose. Le Sephadex est normalement utilisé pour la filtration sur gel. Cependant on l’emploie ici à cause de son affinité pour les lectines liant le glucose, Ce phénomène accidentel, non prévu dans la mise au point du Sephadex, en fait cependant un outil très utile pour purifier la concanavoline A et d’autres lectines. La résine Sephadex nous sert donc ici pour une chromatographie d’affinité et un tamisage moléculaire (filtration sur gel) car elle nous permet de séparer toutes les protéines de tailles supérieures à 80.000 Da (Domaine de fractionnement du G75 :3000-80.000 Da), des molécules de grandes tailles.

Les résultats de la concentration des protéines après la mesure de l’absorbance à longueur d’onde 280nm et 260nm sont présentés sous forme d’une courbe (**figure 9**) tenant compte du volume d’élution en fonction de son absorbance.

Résultats et discussions

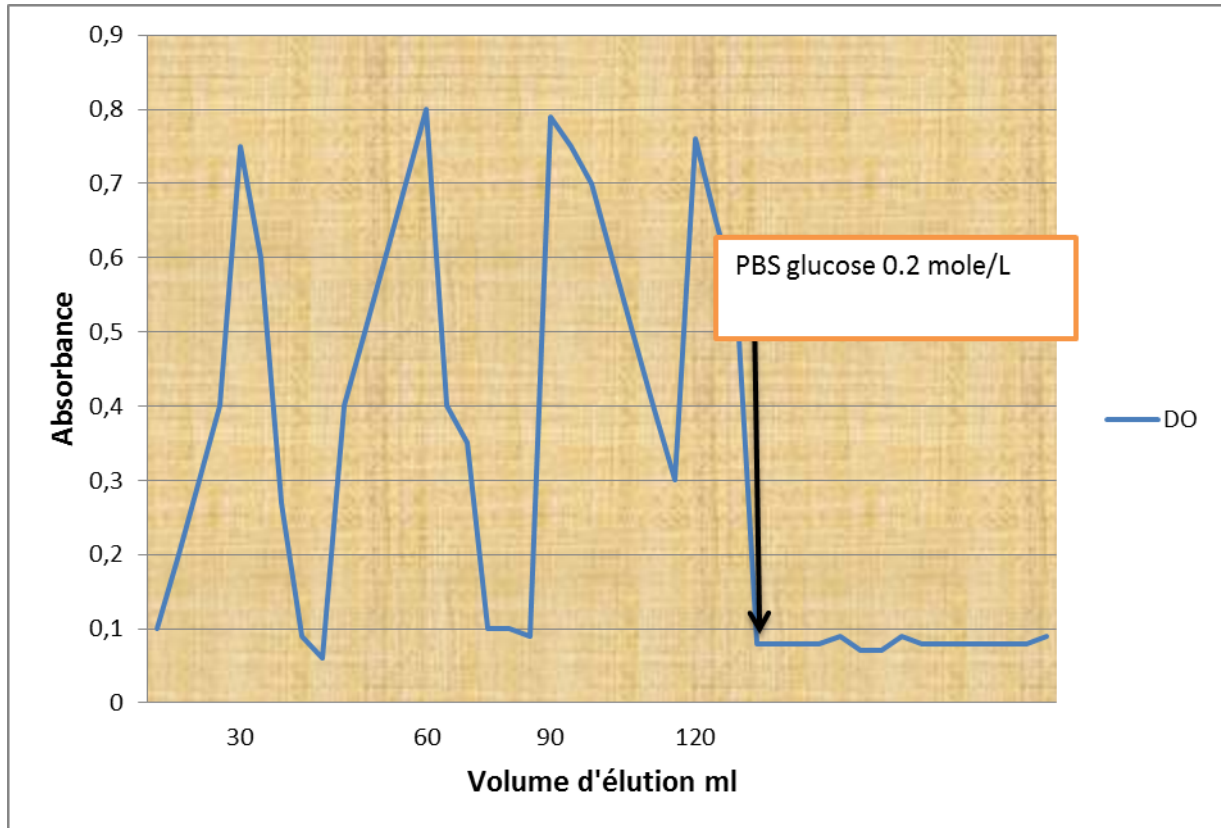


Figure 9: courbe représentant le profil d'élution de l'absorbance en fonction du volume d'élution des différentes fractions protéiques

L'exploitation des résultats relatifs à cette chromatographie ne nous a pas permis d'obtenir le résultat escompté ; en fait toutes les protéines contenues dans notre échantillon ont été exclues du gel avant que l'on ait introduit le deuxième tampon PBS Glucose 0.2 mol /l. Il est donc clair que nos lectines ne présentent donc aucune affinité pour le Glucose.

Ceci nous a conduits à tester systématiquement l'activité hémagglutinante de toutes les fractions collectées à partir de cette chromatographie sur colonne. (**Planche 2**)

Résultats et discussions

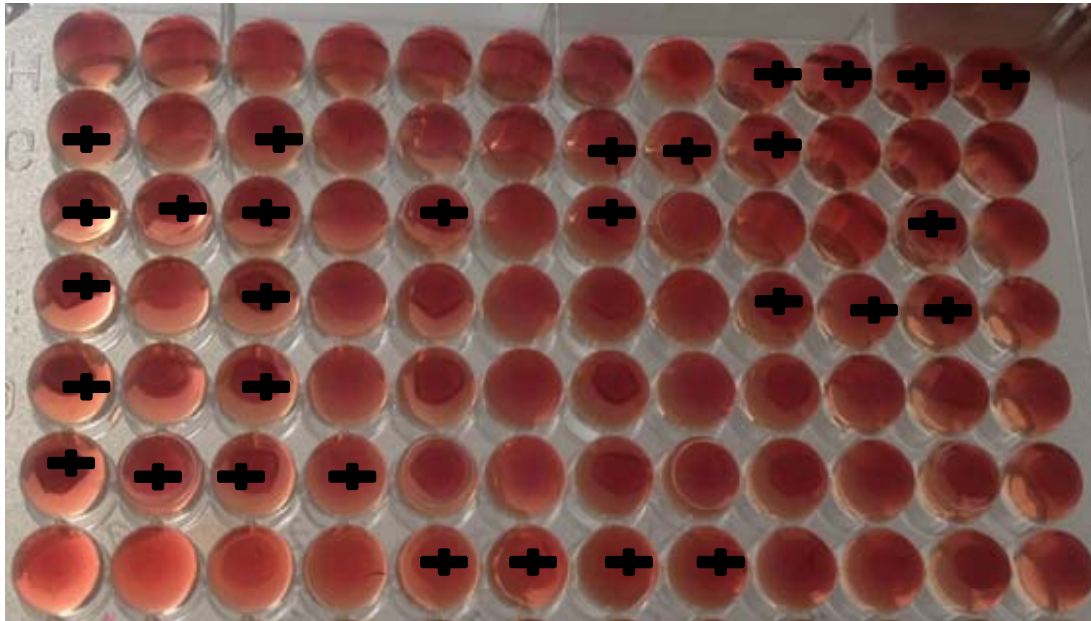


Planche 2 : planche représentant le test d'hémagglutination des fractions issues de la chromatographie sur colonne

⊕ Présence d'agglutination

Ce test nous a permis visuellement de repérer quelles étaient les fractions qui présentaient une hémagglutination positive et donc celles qui renfermaient des lectines. Seules les fractions (4,5,6,7,9,10,12,13,14,15,17,18,19,22,23,24,2,30,31,38,39) ont été retenues pour la suite des analyses.

I. 3. SDS PAGE :

L'électrophorèse (SDS-PAGE sur gel de polyacrylamide dénaturant) nous a donné le profil électrophorétique suivant :

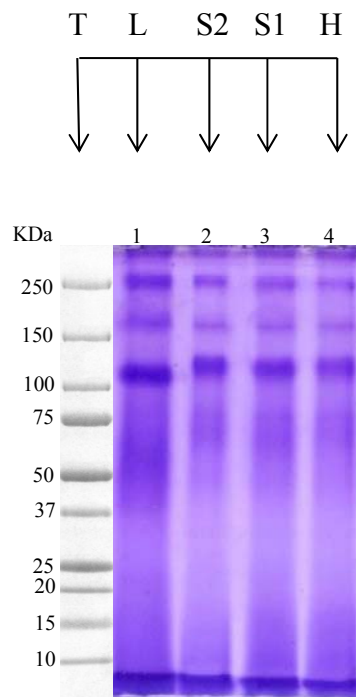


Figure 14 : Profil électrophorétique des extraits de lectines dans des conditions dénaturantes:

T : témoin

L : lyophilisat

S2 : surnageant après la deuxième centrifugation

S1 : surnageant après la première centrifugation

H : homogénat

Résultats et discussions

La lecture de cet électrophorégramme consiste à relever la mobilité des bandes présentes en mesurant la distance parcourue pour chaque bande dans le gel de séparation. Afin de déterminer le poids moléculaire de chaque protéine, un marqueur de taille a été utilisé.

Les diagrammes électrophorétiques des échantillons analysés renferment 4 bandes franches qui se situent dans des zones qui s'étalent entre des poids moléculaires situées approximativement entre 120 et 250 KDa. D'autres bandes moins claires sont observées à environ 75 KDa pour les deux surnageants et l'homogénat, alors que le lyophilisat présente une bande à environ 60 KDa.

D'après la littérature, il en ressort une grande variabilité dans les poids moléculaires des lectines fongiques se situant généralement dans l'intervalle 15-90KDa, mais Leur majorité se situe entre 23-36 KDa avec un nombre de sous unités allant de 2 à 6 (**Feroz Khan 2011**). Quatre sous unités furent trouvées chez la lectine de *Pleurocybella porrigens* (Suzuki et al., 2009) et la lectine d'*Agaricus blazei* (**Kawagishi et al., 1988**).

Six unités furent révélées chez la lectine de *lactarius rufus* (Panchak et Antoniuk, 2007) et la lectine de *Rhizopus stolonifer* (**Oda et al., 2003**).

D'autres auteurs rapportent un poids moléculaire de 439 KDa, révélé par SDS –PAGE sur des lectines de concombres de Mer (*holothuria atra jaeger*), une espèce qui vit dans l'Océan Indien (**Elmer –Rico et al 2004**).

Les différences constatées dans les poids moléculaires obtenus généralement par la filtration sur gel séphadex et la SDS –PAGE, peuvent être attribuées à la nature glycoprotéique des lectines ; d'ailleurs, étude menée sur des glycoprotéines contenant une quantité substantielle d'hydrates de carbone a montré un comportement anormal pendant les dites techniques de séparation (**Wittenbach 1983**). En fait, la filtration sur gel se base sur la période relative qu'ont les protéines natives à traverser les interstices du Dextran qui compose le gel du Séphadex (**Hagel 1989**), alors que la SDS-PAGE sépare des protéines dénaturées en fonction de leur capacité à traverser le réseau du gel de polyacrylamide. De plus la détermination du PM par la SDS-PAGE n'est pas directement applicable pour les glycoprotéines car ces derniers contiennent une quantité assez élevée d'hydrates de carbone et vont donc se comporter anormalement en SDS-PAGE une fois comparées aux protéines standards car les mobilités seront automatiquement faussées (**Segrest and Jackson 1972**).

Résultats et discussions

I.3. Effet de l'extrait de *terfezia.boudiéri* sur l'activité phagocytaire :

Les données recueillies après traitement des souris sont résumées dans le (Tableau 11)

Groupes	Index	Moyenne	Ecart-type	demi-vie	Moyenne	Ecart-type
T	0,0127	0,015	0,004	75,826	46,930	20,779
T	0,0112			61,875		
T	0,0144			48,125		
T	0,0154			14,576		
T	0,0117			59,23		
T	0,0184			37,66		
T	0,0222			31,216		
10mg	0,041	0,055	0,016	16,702	15,883	7,775
10mg	0,0391			17,72		
10mg	0,0749			9,52		
10mg	0,048			31,788		
10mg	0,079			8,712		
10mg	0,055			12,6		
10mg	0,049			14,142		
30mg	0,0441	0,047	0,018	15,714	18,701	13,545
30mg	0,0674			10,281		
30mg	0,062			11,177		
30mg	0,0142			48,802		
30mg	0,053			12,6		
30mg	0,049			14,142		
30mg	0,0381			18,188		
50mg	0,0488	0,057	0,004	14,2	12,303	0,961
50mg	0,0591			11,725		
50mg	0,06			11,55		
50mg	0,0571			12,136		
50mg	0,0544			12,738		
50mg	0,0608			11,398		
50mg	0,056			12,375		

Tableau 11 : Moyennes et écart-type des différents lots concernant l'index phagocytaire et la demi-vie.

Résultats et discussions

Graphique Index phagocytaire :

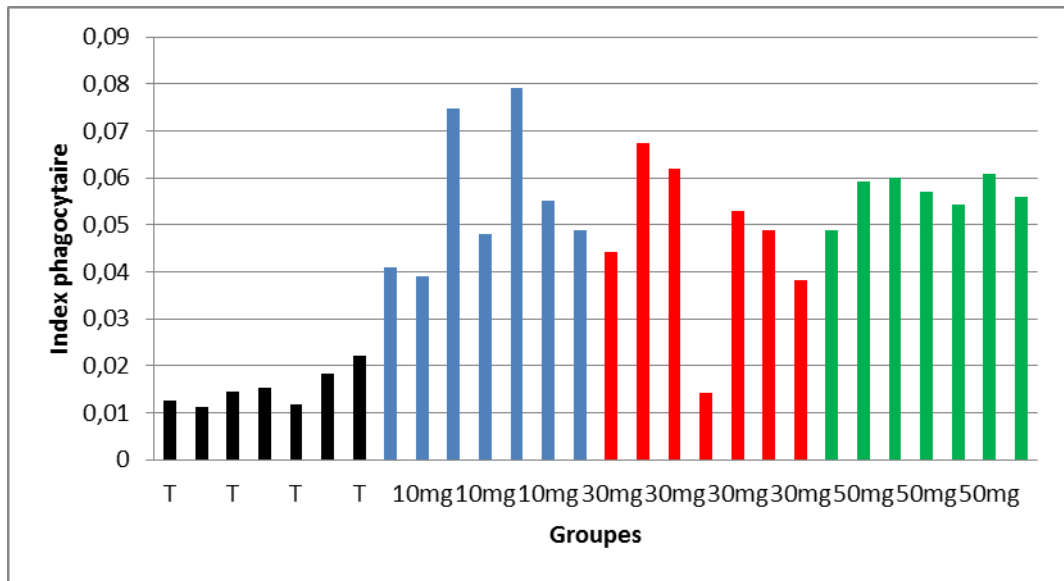


Figure 10: Effet de *terfezia.boudié* sur l'index phagocytaire (détaillé)

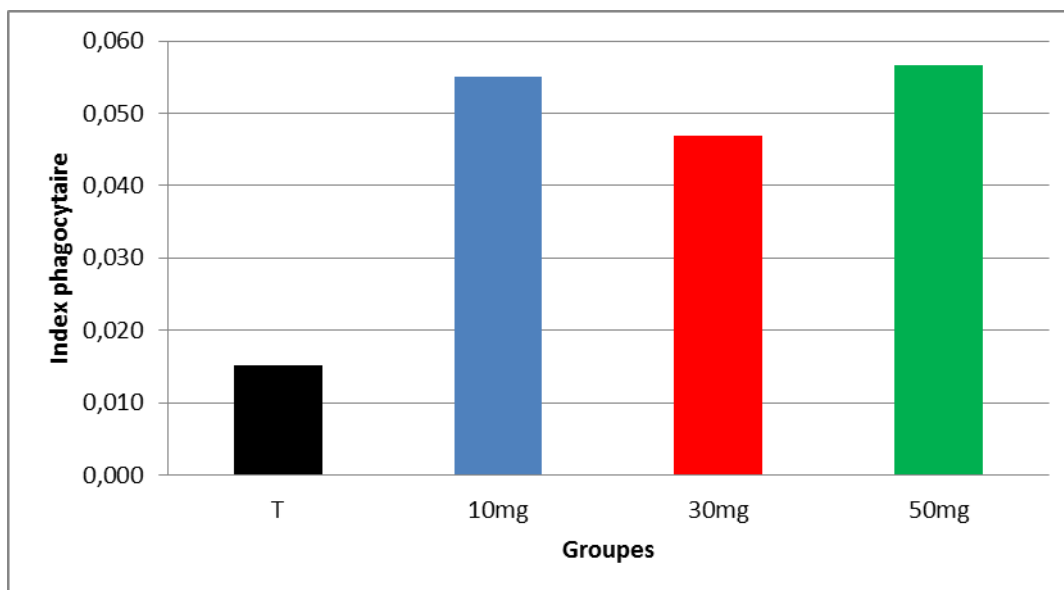


Figure 11: Effet de *terfezia.boudié* sur l'index phagocytaire

Groupes	Index phagocytaire	Ecart-type
T	0,015	0,004
10mg	0,055	0,016
30mg	0,047	0,018
50mg	0,057	0,004

Tableau 12: Index phagocytaire et écart-type des différents lots

Résultats et discussions

Graphique de la demi-vie :

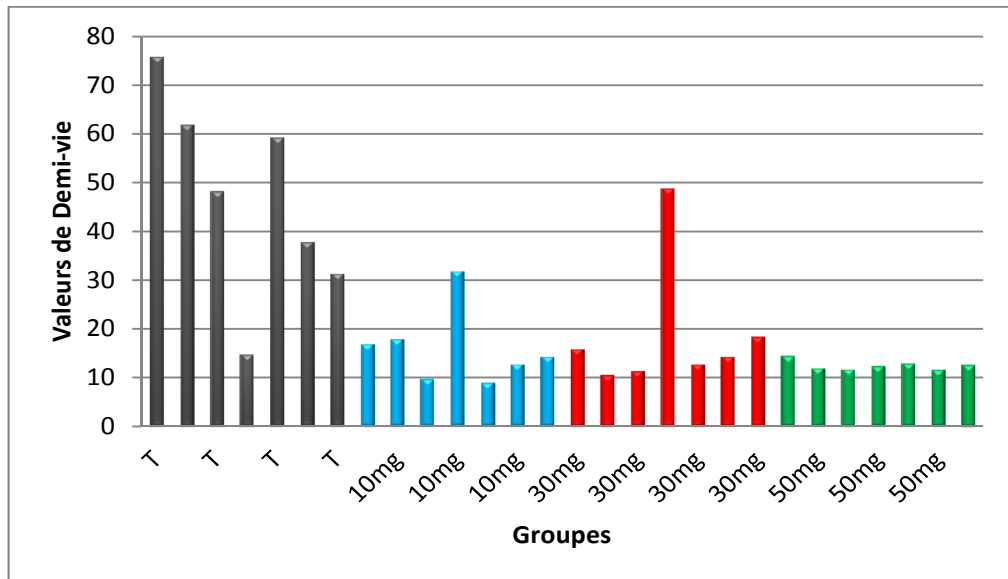


Figure 12 : Effet de *terfezia.boudiéri* sur la demi – vie (détaillé).

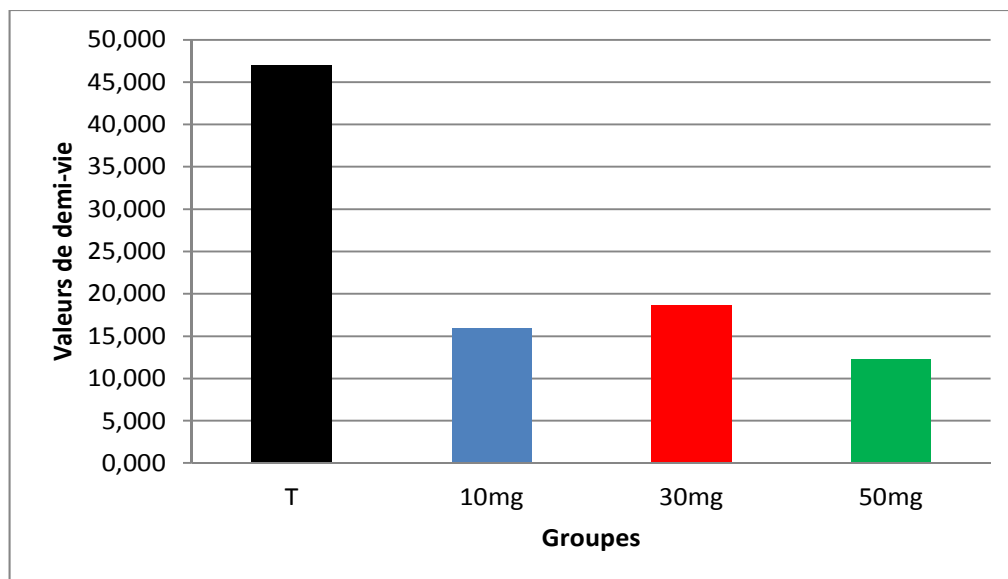


Figure 13 : Effet de *terfezia.boudiéri* sur la demi – vie.

Groupes	demi-vie	Ecart-type
T	46,930	20,779
10mg	15,883	7,775
30mg	18,701	13,545
50mg	12,303	0,961

Tableau 13 : Demi-vie et écart-type des différents lots.

Résultats et discussions

Analyse des résultats obtenus :

L'ANOVA DE L'index Phagocytaire par rapport aux groupes (lots) à donner les résultats suivants :

Source	Degré de liberté (ddl)	Valeur de F	Valeur de P
Groupe	3 (r-1)	17,72	0,000
Erreur	24 r (n-1)		
Total	27		

Tableau 14: Résultats obtenus avec L' ANOVA de l'index phagocytaire par rapport aux lots

- r : représente l'effectif de chaque groupe
- n : le nombre de chaque groupe

Le Test de TUKEY de l'index phagocytaire nous a donné les résultats suivants :

Groupe	Nombre	Moyenne	Groupement
d (50mg)	7	0,05660	A
b (10mg)	7	0,05514	A
c (30mg)	7	0,04683	A
a (témoin)	7	0,01514	B

Tableau 15: Résultats obtenus après le test de TUKEY de l'index phagocytaire

Résultats et discussions

NB : Les moyennes de chaque groupe sont classées par ordre décroissant

Les résultats obtenus et affichés dans les **Tableaux (14, 15)** et les **figures (10, 11)** montrent qu'il y'a une différence dans les moyennes de l'index phagocytaire (k) entre les groupes A (témoin) et les groupes, B, C et D.

L'analyse statistique de notre extrait de lectine sur l'activité phagocytaire montre que l'augmentation de l'index phagocytaire chez les trois groupes (03 lots) est très hautement significative quand elle est comparée avec le lot témoin : valeur de $P=0,000$ (**Tableau 14**)

Le test de TUKEY, révèle que les moyennes des groupes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes. Ce test montre aussi qu'il y'a une différence significative dans les moyennes de l'index phagocytaire entre les groupes B, C, et D comparés un à un par rapport au témoin A.

ANOVA de la Demi-Vie

Source	Degré de liberté (ddl)	Valeur de F	Valeur de P
Groupe	3 (r-1)	10,42	0,000
Erreur	24 r (n-1)		
Total	27		

Tableau 16 : Résultats obtenus avec L' ANOVA de la demi-vie par rapport aux lots

- **r** : représente l'effectif de chaque groupe
- **n** : le nombre de chaque groupe.

Résultats et discussions

Le Test de TUKEY de la demi-vie nous a donné les résultats suivants :

Groupes	Nombre	Moyenne	Groupement
A (témoin)	7	46,930	A
C (30 mg)	7	18,700	B
B (10mg)	7	15,880	B
D (50mg)	7	12,303	B

Tableau 17 : Résultats obtenus après le test de TUKEY de la demi-vie

Les résultats obtenus dans les **Tableaux 16 et 17**.et les **Figures 12 et 13**, nous montrent qu'il y'a une nette différence entre les groupes dans les moyennes de Demi-vie, et donc entre les taux de clearance du carbone.

L'analyse statistique de notre extrait de lectine sur l'activité phagocytaire montre que l'augmentation du taux de clearance du carbone et donc de son élimination dans le sang et par la suite dans les urines chez les trois groupes (03 lots) est très hautement significative quand elle est comparée avec le lot témoin : Valeur de $P=0,000$ (**Tableau 16**).

Le test de TUKEY, révèle que les moyennes des groupes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes. Ce test montre aussi qu'il y'a une différence significative dans les moyennes du taux de clearance entre les groupes B, C, et D comparés un à un par rapport au témoin A.

Discussion :

L'utilisation de certains champignons comestibles pour l'homme est aujourd'hui une forme de médecine assez répandue à travers le monde.

Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité biologique constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques.

De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des secrets des plantes médicinales.

Dans la présente étude nous nous sommes limités à la recherche d'éventuels effets immunomodulateurs liés aux lectines contenues dans la truffe blanche du Sahara Algérien.

Le choix de ce champignon assez répandu et consommé par les populations du Sud d'une part, et en raison du manque de recherches dans ce contexte d'autres parts, nous a orienté dans cette voie qu'est l'immunomodulation.

Le nombre de travaux publiés sur les lectines et l'intérêt montré ces dernières années pour les lectines de champignons est principalement motivé par la découverte que certaines lectines ont des propriétés pharmacologiques intéressantes comme par exemple la stimulation du système immunitaire, anti-inflammatoires, antivirales et anticancéreuses. **(Waiser, Weis 1999, Wang, Gao, Ng 2000, Sze (2004), She 1998)**

C'est dans ce contexte que nous avons décidé de réaliser ce travail et de tester l'effet des lectines de ce champignon sur le mécanisme des défenses immunitaires, en testant l'activité phagocytaire.

Notre système immunitaire joue un rôle essentiel dans la défense naturelle, il a la capacité de reconnaître les agents étrangers à l'organisme, mettant en jeu deux types de défenses: les défenses non spécifiques, naturelles ou innées et les défenses spécifiques ou adaptatives.

La pénétration d'agents pathogènes dans la circulation sanguine, provoque l'activation des cellules phagocytaires, notamment les macrophages, conduit à l'ingestion puis à la digestion de l'agent étranger, ainsi qu'à la production de cytokines qui, à leur tour, contribuent à l'induction de la réaction inflammatoire T. **(Josien, 2002, Genetet, 1997, Chatenoud, 2002).**

La réponse adaptative ou spécifique représente la deuxième ligne de défense. Elle met en jeu les lymphocytes B et T, portant à leur surface des récepteurs d'antigènes **(Revillard, 2001)**

Conclusion :

Les macrophages sont donc un élément très important des défenses de l'hôte contre tout corps étranger, et leur activité phagocytaire est un indicateur clé pour l'appréciation des fonctions immunitaires de l'organisme. Cette dernière a été évaluée par la mesure du taux de clairance d'une dose de carbone testée chez des souris de laboratoire.

Dans notre étude, nous avons commencé par extraire en premier lieu les lectines en mettant en évidence leur activité hémagglutinante (Cioci., 2006, Sharon et Lis, 2003).

.Après différentes autres techniques d'analyses biochimiques nous avons obtenu un lyophilisat de cette glycoprotéine que l'on a administrée à un lot de 28 souris males.

Les résultats obtenus, tests statistiques à l'appui, nous ont montré à l'évidence une augmentation franche et hautement significative de l'activité phagocytaire du système réticuloendothélial des souris traitées au lyophilisat de lectines, et qui par voie de conséquence a fait augmenter le taux de clearance du carbone en comparaison avec le lot témoin.

Ces résultats nous montrent par contre que les deux paramètres (index k et la Clearance n'évoluent pas parallèlement à la dose de lectine injectée.

A ce stade du raisonnement, nous pouvons dire que l'intensité de la réponse phagocytaire obtenue chez les souris survient très rapidement et significativement juste après leur inoculation par un corps étranger (encre de chine); entre 5 et 15minutes après. Cette stimulation de l'activité phagocytaire du système réticuloendothélial (SRE) pourrait certainement relever de deux mécanismes de défense, spécifique et non spécifique. Le mécanisme spécifique serait lié à la formation d'anticorps contre le corps étranger. Le mécanisme de l'immunité non spécifique serait en relation directe avec l'augmentation de l'activité phagocytaire des macrophages mononucléaires, ce qui est en conformité avec les expériences de plusieurs chercheurs (She 1998; Sze 2004) réalisées chez des souris traitées par *Argania spinosa*, *Stachys mialhesi* en présence de la lectine du Haricot rouge et celle d'*Astragalus mongholicus* et les travaux de Yoeli (Yoeli, M. 1966), de Nussenzweig (Nussenzweig, R. S. 1967) et ceux de Biozzi et all (Biozzi 1953) sur des rats infectés par *Plasmodium berghei* irradié.

La modulation des fonctions du système immunitaire est, et restera un sujet en plein développement, et il est clair qu'un certain nombre de plantes, de champignons, de molécules comme les lectines ont des propriétés d'importance thérapeutique. Une recherche approfondie de leur mécanisme d'action et de leur structure, devrait permettre leur sélection.

Perspective :

Les perspectives de ces travaux sont nombreuses et la poursuite des recherches sur ces lectines implique au préalable l'utilisation de techniques et méthodes capables de fournir une très bonne purification et caractérisation de cette glycoprotéine. Ce travail mériterait d'être également étoffé d'une étude cristallographique en vue de déterminer sa structure en 3D et ainsi la comparer avec d'autres structures connues ; d'une (TSA) Thermal shift assay dans différentes conditions de tampon de PH et de température pour déterminer sa stabilité thermique, et aussi des tests d'inhibition d'hémmaglutination en présence de différents monosaccharides pour déterminer la spécificité.

Tous ces paramètres pourraient mieux nous orienter pour l'évaluation du potentiel biologique, thérapeutique et immunomodulateur de cette lectine fongique. Ce type d'étude et d'approche, encore marginal, gagnerait à être généralisé aux autres champignons de la flore de notre Grand Sud Saharien, jusqu'alors peu étudiés. Cette propriété immunomodulatrice de certains extraits glycoprotéiques pourrait constituer un complément thérapeutique de choix chez des patients immunodéprimés ou immunodéficients.

Références bibliographiques

Alencar, N. M., Cavalcante, C. F., Vasconcelos, M. P., Leite, K. B., Aragao, K. S., Assreuy, A. M., Nogueira, N. A., Cavada, B. S., and 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

Assreuy A.M.S (1997). Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. *Mediators of inflammation*, 6, 201-210.

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

Biozzi, G., B. Benacerraf, B. N. Halpern (1953): Quantitative study of the granuloplectic activity of the reticulo-endothelial system II. *J. Exp. Path.* 34, 441-457.

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

Budu, C. V. (1988). Isolation of two lectins from fir (*Abies alba* Mill.) bark tissue on immobilized peroxidase and some of their properties. Preliminary study. *Rev. roum. Biochim.*, 25 (1) : 3-7.

Cammue, B., Stinissen, W. J., & Peumans, W. J. (1985). Lectins in vegetative tissues of adult barley plants grown under field conditions. *Plant Physiol.*, 78: 384-387.

Chatenoud, L, 2002. Cellules de l'immunité. Dans: *Immunologie, de la biologie à la clinique*. J. F. Bach et L. Chatenoud. Paris, France: Flammarion Médecine-Sciences. 369 p.

Cioci G., Pérez S., Mitchell E., 2006: Etude structure-fonction de glycoconjugués et de lectines bactériennes et fongiques. Thèse pour l'obtention du Diplôme de docteur de l'université Joseph Fourier. Université Grenoble I – Joseph Fourier.

Elmer-Rico E. Mojica and Florinia E. Merca *Philippine Journal of Science* 133(2): 77-85, December 2004 ISSN 0031 - 7683

Falasca A.I. (1989). Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maximowics. *FEBS Lett.*, 246(1-2) 159 -162

Genetet, N., 1997. *Immunologie*. Paris, France: Éditions Médicales Internationales. 604 p

Giollant, M., Guillot, J., Damez, M., Dusser, M., Didier, P., and Didier, E. (1993) Characterization of a lectin from *Lactarius deterrimus* - research on the possible involvement of the fungal lectin in recognition between mushroom and spruce during the early stages of mycorrhizae formation. *Plant Physiol.*, 101, 513-522.

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

Gomes J.C (1994). Histamine release induced by glucose (mannose) specific lectins isolated from Brazilian beans. Comparaison with concanavalin A. *Agent Action* , 41, 132-135

Guillo, J., Kanska G., 1997 : Lectins in higher fungi. *Biochem. System. Ecol.*, 25, 203-230.

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

Hagel L. 1989. Gel filtration. In: *Protein Purification Principles, High Resolution Methods and Applications.* Janson JC and Ryden L (eds). VCH Publishers.

Higuichi, M., Fukumoto, Y. and Iwai, K. (1988). Appearance of lectin in winged bean pods during seed development after flowering. *J. Agric. Food Chem.*, 36 (3): 534-536

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

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

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

Isik, F., Tunali Akbay, T., Yarat, A., Genc, Z., Pisiriciler, R, Caliskan, A., Cetinel, S., Altuntas, A., Sener, G. (2010). Protective Effects of Black Cumin (*Nigella sativa*) Oil on TNBS-Induced Experimental Colitis in Rats. *Dig Dis Sci*

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

Josien, R., 2002. Cellules dendritiques. Dans: *Immunologie, de la biologie à la clinique.* J. F. Bach et L. Chatenoud. Paris, France: Flammarion Médecine-Sciences. 369 p.

Karoline S.A., 2008 : Etudes structure-fonction de lectines (DisCI et DisCII) de *Dictyostelium discoideum*. These Pour l'obtention du Diplôme de docteur de l'université Joseph Fourier. Universoté Grenoble 1- Joseph Fourier.

Kawagishi, H. and T. Mizuno, 1988. Purification and properties of a bata-galactosyl-specific lectin from the fruiting bodies of *Ischnoderma resinousus*. *FEBS Let*, 227: 99-102.

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

Khan, F and M. Islam Khan 2011. Division of Biochemical Sciences, National Chemical Laboratory, *International Journal of Biological Chemistry*, pune 411 008, India.

Kocourek J., Horejsi V., 1981: Defining a lectin. *Nature*, 290, 188.

Kostlanova, N., Mitchell, E.P., Lortat-Jacob, H., Oscarson, S., Lahmann, M., Gilboa-Garber, N., Chambat, G., Wimmerowa, M. and Imberty, A. (2005) The fucose-binding lectin from *Ralstonia solanacearum*: a new type of b-propeller architecture formed by oligomerisation and interacting with fucoside, fucosyllactose and plant xyloglucan. *J. Biol. Chem.*, 280, 27839-27849.

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

Laemmli, U. K.(1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685

Laemmli, U. K. and Favre, M. 1973. Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. *J. Mol. Biol.* 80, 575-599

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

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

Lis H., Sharon, N., 1998: *Chem Rev.* 1998 Apr 2;98(2):637-674, 98, 637-647.

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

Low, D., Braaten, B. and Van der Woude, M. (1996) *Escherichia coli* and *Salmonella*: cellular and molecular biology. American Society for Microbiology Press A, Washington D.C.

Mancheno J., Tateno H., Goldstein I.J., Martinez-Ripoll M., Hermoso J., 2005: Structural analysis of the *Laetiporus sulphureus* hemolytic pore-forming lectin in complex with sugars. *J. Biol. Chem.*, 280, 17251-17259.

Merritt, E.A., and Hol, W.G.J. (1995) AB5 toxins. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 5, 165-171.

McLaughlin, D.J. 1992. Basidial development, life history, and the anamorph of *Kriegeria eriophori*. *Mycologia*. 84:668-678

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

Myoshim. et Al (1982). The lethal protein from kintoki beans (*Phaseolus vulgaris*) identified as a lectin. *J. Nutr. Sci. vitaminol*, , 28, 255-264

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

Ng T.B., 2004: Peptides and proteins from fungi. *Peptides*, 25, 1055-1073.

Nussenzweig, R. S. (1967) *Exp. Parasit.*, 21, 224

Oda, Y., T. Senaha, Y. Matsuno, K. Nakajima and R. Naka et al., 2003. A new fungal lectin recognizing (1-6)- linked fucose in the N-glycan. *J. Biol. Chem.*, 278: 32439-32447

Panchak, L.V. and V.O. Antoniuk, 2007. Purification of lectin from fruiting bodies of *Lactarius rufus* (Scop.Fr). and its carbohydrate specificity. *UKr. Biokhim. Zh*, 79: 123-128

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

Pemberton., 1994 :Agglutinins from some british higher fungi. *Mycol. Res.*, 98, 277-290.

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

Ramata Nadio 2010 la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine (DIPLOME D'ETAT) ETUDE DE L'ACTIVITE HEMAGGLUTINANTE DES LECTINES ISOLEES DES GRAINES DE *Abrus precatorius.L*

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

Revillard, J.-P., 2001. *Immunologie*. Bruxelles, Belgium: De Boeck Université. 595 p.
Robyt, J.F., 1998. *Essentials of Carbohydrate Chemistry*. New York, U.S.A.: Springer-Verlag, Inc. 399 p.

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

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

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

Segrest JP and Jackson RL. 1972. Molecular weight determination of glycoproteins by polyacrylamide gel electrophoresis in sodium dodecyl sulfate. Pp. 54-62. In: *Methods in Enzymology*. V28. Part B. V. Ginsburg (ed). New York: Academic Press, Inc. 1057p

She, Q.B., Ng, T.B. and Liu, W.K. (1998) A 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.

Singh N.K., Shepherd K. W., Cornish G.B. 1991 A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science.* 14: 203-208.

Soto, G.E., and Hultgren, S.J. (1999) Bacterial adhesins: common themes and variations in architecture and assembly. *J. Bacteriol.*, 181, 1059-1071.

Suzuki, T., Y. Amano, M. Fujita, Y. Kobayashi and H. Dohra et al, 2009. Purification, characterization and cDNA cloning of a lectin from the mushroom *Pleurocybella porrigens*. *Biosci. Biotechnol Biochem.*, 73: 702-709

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

Universalis encyclopaedia/lectines

Waiser, S.P. and A.L. Weis, 1999. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms : A modern perspective . *Crit. Rev. Immunol.*, 19:65-96

Wang,H.,J.Gao and T.B. Ng,2000. A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 275:810-816.

Wang H., 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

Witenbach VA. 1983. Purification and characterization of a soybean leaf storage glycoprotein. *Plant Physiology* 73: 125- 129.

Yagi, F., T.Iwya, T. Haraguchi and I.J. Goldstein,(2002). The Lectin from leaves of Japanese cycad. *Cycas revolute* Thumb. (Gymnosperm) is a member of the jacalin-related family. *Eur. J. Biochem.*, 269: 4335-4341

Yoeli, M. (1966) *Bull. Soc. Path. exot.*, 59, 593

Annexe

Annexe 1 : Composition du tampon PBS :

Pour préparer 1000ml de PBS

Concentration et réactifs	Quantité
137Mm Na cl	0.8g/l
2.7Mm Kcl	0.2g/l
10Mm Na ₂ Po ₄	1.44g/l
1.76Mm KH ₂ Po ₄	0.24g/l

Annexe 2:

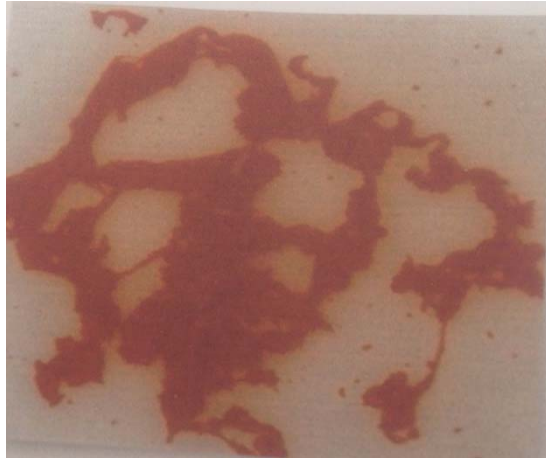
Les Absorbances aux longueurs d'onde de 280nm et 260nm

Echantillon	surnageant 1	Surnageant 2	Culot 1	Culot 2
Longueurs d'ondes 260	0.662 Dilution 1/50	0.455 Dilution 1/50	0.314 Dilution 1/80	0.383 Dilution 1/80
Longueurs d'ondes 280	0.597 Dilution 1/50	0.397 Dilution 1/50	0.369 Dilution 1/80	0.351 Dilution 1/80

Les concentrations réelles des protéines après calculs

Tube	Surnageant 1	Surnageant2	Culot 1	Culot 2
Concentration (mg/ml)	43.33	46.75	42.47	32.33

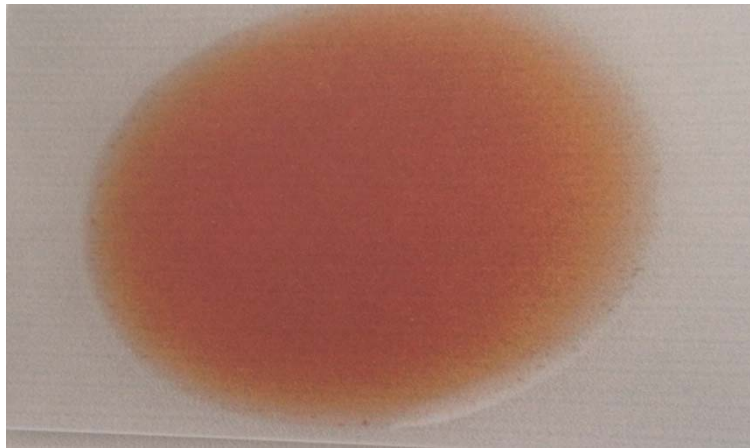
Annexe 3:



+++ Aspect microscopique d'une Très forte agglutination



++ Aspect microscopique d'une forte agglutination



+ Aspect microscopique d'une faible agglutination



— Aspect microscopique d'une absence d'agglutination

Annexe 4 : la composition de l'alimentation des souris

Protéines	15%
Lipides	2.5%
Cellulose	8%
Minéraux	8%
Humidité	13%
Vitamine A	150.000 UI
Vitamine D3	200.000 UI
Vitamine E	3mg
Fer	6mg
Cu	1.2mg
Zn	14.4mg
Cobalt	60mg
Mn	10.8mg
Iode	150mg
Sélénium	30mg
Ca+2	1%
Phosphore	0.8%

Annexe 5:

I. Préparation de NaCL (chlore de sodium à 09%)

- NaCL : 0.9g
- Eau distillée : 100ml

II. Préparation de la gélatine

- Gélatine : 0.3g
- Eau distillée : 100ml

III. Préparation du Na₂CO₃ (carbonate de sodium)

- Na₂CO₃ : 0.1g
- Eau distillée : 100ml

IV. Préparation de l'INK

- NaCL : 4ml
- Encre de chine (carbone) : 3ml
- Gélatine : 4ml

Annexe 6: Composition des gels d'électrophorèse

Gel de séparation 11% : standard

Réactifs	Volume (ml)
Eau	11
Tris – HCl	1.5 PH (6 – 8.9)
Acrylamide/Bisacrylamide 40%	6.6
SDS 10%	0.24
APS 10%	0.15
TEMED	0.025

Gel de concentration : standard

Réactifs	Volume (ml)
Eau	6.3201
Tris-HCl	0.5 M PH (2.5 – 6.6)
Acrylamide/Bisacrylamide 40%	1
SDS 10%	0.1
APS 10%	0.07
TEMED	0.01

HADDAD RAYANE

Date de soutenance : 23/06/2014

BELGUESMIA LAMIA

Thème :
Immunostimulation médiée par les lectines fongiques

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biochimie
Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Résumé :

L'intérêt montré ces dernières années pour les lectines de champignons est principalement motivé par la découverte que certaines lectines ont des propriétés pharmacologiques intéressantes comme **par exemple la stimulation du système immunitaire, antivirales et anticancéreuses.**

Dans le présent travail, nous avons étudié l'effet immunomodulateur d'un extrait de lectines obtenu à partir d'un champignon comestible, la Truffe blanche du Sahara Algérien, *Terfezia Boudiéri*, en évaluant l'activité phagocytaire par la mesure du taux de clairance d'une dose de carbone colloïdal testée chez des souris de laboratoire.

Dans notre étude, nous avons commencé par extraire en premier lieu les lectines en mettant en évidence leur activité hémagglutinante. Après différentes autres techniques d'analyses biochimiques nous avons obtenu un lyophilisat de cette glycoprotéine que l'on a administrée à un lot de 28 souris mâles.

Les résultats obtenus nous ont montré une augmentation de l'activité phagocytaire du système réticuloendothélial des souris traitées au lyophilisat de lectines, et qui par voie de conséquence a fait augmenter le taux de clairance du carbone en comparaison avec le lot témoin.

Les mots clés : *Terfezia Boudiéri*, hémagglutination, Activité phagocytaire

Laboratoire de recherche :

Laboratoire d'Immunologie et de Biochimie, Département de Biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Constantine 1.

Président du jury : Mr. A.CHIKHI

Prof Université Constantine 1

Directeur de thèse Mr .A. ZITOUNI

M.A.A Université Constantine 1

Examinatrice : Mme. S .BOUCHAHDAN

M.A.B . Université Constantine 1

