

Résumé

Les venins de serpents constituent une des sources naturelles la plus riche en molécules bioactives (Sérine-protéases, métalloprotéases et phospholipases A₂). Les sérine-protéases et les PLA₂ sont connues pour agir sur le système hémostatique en tant qu'agents pro-coagulants, anti-coagulants, pro- ou anti-agrégants des plaquettes. Elles présentent un intérêt en biothérapie dans les maladies thrombotiques et les ischémies cardiaques mais aussi dans le diagnostic. Les métalloprotéases souvent douées également d'activité fibrino(gen)lytique induisent des hémorragies locales et systémiques. Par leur capacité à inhiber l'agrégation plaquettaire en se liant avec une haute affinité au facteur FXa, les PLA₂, présentent quant à elles une activité anti-coagulante. Tous ces effets biologiques ont une action directe sur l'hémostase et permettent de considérer ces biomolécules en tant qu'outils de diagnostic ou de biomarqueurs des pathologies hématologiques.

Le travail réalisé a permis de purifier et de caractériser trois biomolécules (CC3-SPase, CCSV-MPase et CC2-PLA₂) impliquées dans le système hémostatique à partir du venin de *Cerastes cerastes*. Les analyses protéomiques MS et MS/MS, utilisant la banque NCBIInr comme une base de données, ont également été réalisées afin d'identifier ces nouvelles molécules. La structure de ces molécules fortement impliquées dans le système hémostatique a été caractérisée par spectrométrie de masse MALDI et SDS-PAGE.. L'analyse par LC/MS et LCMS/MS de fragments tryptiques des trois molécules purifiées a permis de montrer une homologie de séquence avec d'autres protéines déjà purifiées à partir d'autres venins de serpents. Les résultats obtenus révèlent que la CC2-PLA₂ présente 51% d'homologie de séquence avec la phosphatidylcholine acylhydrolase 2 précédemment purifiée à partir du venin même de la vipère Algérienne *Cerastes cerastes* (gi |129506|), soit 61/120 résidus d'acides aminés sont communs entre les PLA₂. Cette nouvelle phospholipase est également douée d'une activité antiagrégante des plaquettes humaines en plus de son activité hémolytique.

La CCSV-MPase est une Zn²⁺-métalloprotéinase ayant une activité fibrinogénolytique mais non-hémorragique. Cette métalloprotéinase hydrolyse la chaîne Bβ du fibrinogène humain *in vitro*, ce qui résulte la libération du fibrinopeptide B seulement et réduit de manière significative le taux du fibrinogène plasmatique lorsqu'elle est administrée à des animaux.

Par ailleurs, la CC3-SPase de type sérine protéinase et douée d'activité coagulante et hydrolyse le fibrinogène en agissant de la même manière que la thrombine comme une α β fibrinogénase, avec une forte activité agrégeante des plaquettes humaines. En plus, l'activité coagulante de la CC3SPase testée sur des plasmas humains déficients en facteurs facteurs II, VII et VIII montre une activité similaire à celle du facteur II a. Ce résultat suggère que la CC3-SPase pourrait se substituer à un facteur déficient (FII a).

CC3-SPase et CC2-PLA₂ sont impliquées dans l'induction d'une réponse inflammatoire caractérisée par une hyperleucocytose dans le sang périphérique accompagnée d'une libération de médiateurs inflammatoires (IL-6, l'EPO et le système du complément).

Mots clés : Venin; *Cerastes cerastes*; Serine protéines; Métalloprotéinases; Phospholipases A₂; Protéomique; Hémostase ; Inflammation.