

Purification de la PAG (Pregnancy-Associated Glycoprotein) bovine de type I à partir de cotylédons fœtaux



Claessens M.¹, Beckers J.F.², Sousa N.M.²



¹Haute Ecole de la Province de Liège, Quai du Barbou, Liège, Belgique

²Laboratoire de Physiologie de la Reproduction, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Liège, Belgique

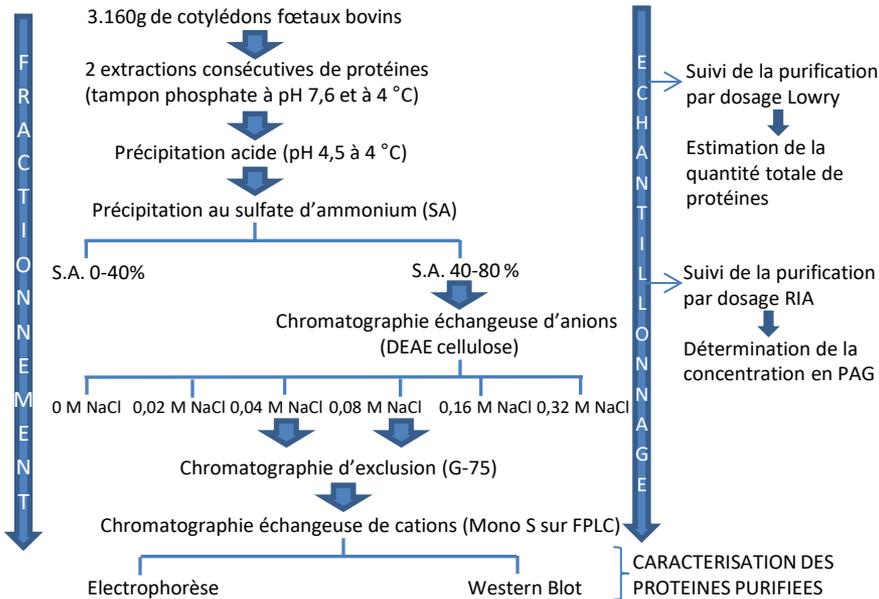
Introduction

Les protéines associées à la gestation (PAG):

- Sont des glycoprotéines associées à la famille des protéases aspartiques [1].
- Sont sécrétées par les cellules mono- et binuclées du trophoctoderme du placenta des ruminants [2].
- Sont détectables à partir du 30^e jour de gestation dans le sérum ou le plasma maternel chez les bovins [3].
- Sont utilisées en pratique vétérinaire pour établir ou confirmer des diagnostics de gestation.



Matériels et méthodes



Conclusion

Suite à la réalisation de deux précipitations et d'une série de chromatographies se terminant par la Mono S, un seul pic immunoréactif a été détecté après élution à une concentration en NaCl de 0,30 M (FIGURE 1). Après chromatographie sur Mono S (visualisation suite à SDS-PAGE et coloration au bleu de Coomassie), il ne reste plus qu'une seule bande de protéine correspondant à la protéine d'intérêt hautement purifiée (boPAG-1). Les protéines isolées sont fortement réactives par Western Blot (immunoréactivité vis-à-vis des anticorps anti-PAG de caprins).

Objectif

Ce travail avait pour objectif la purification des protéines associées à la gestation à partir de placentas bovins.

Résultats

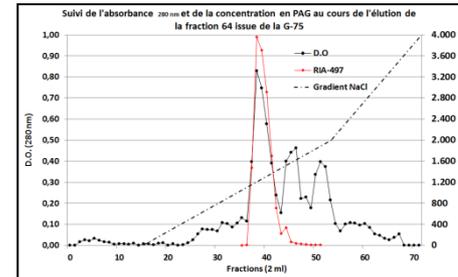


FIGURE 1: Chromatographie Sur Mono S de la fraction DEAE 0,04 M en NaCl, G-75 tubes 64. La densité optique a été mesurée à la fin de la chromatographie à 280 nm et l'immunoréactivité de type PAG a été détectée par le système RIA-497.

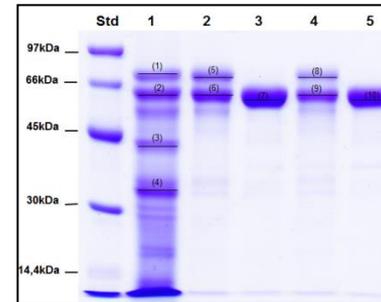


FIGURE 2: Coloration au bleu de Coomassie des protéines issues des différentes étapes de fractionnement après électrophorèse. Pistes : (1) DEAE 0,04 M ; (2) DEAE 0,04 M G-75 tube 64 ; (3) DEAE 0,04 M, G-75 tube 64, Mono S tubes 37-41 ; (4) DEAE 0,04 M, G-75 tubes 65-66 ; (5) DEAE 0,04 M, G-75 tubes 65-66, Mono S 26-31.

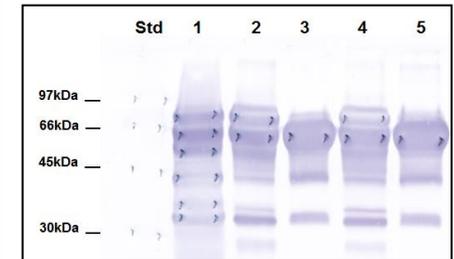


FIGURE 3: Western Blot réalisé avec l'AS#706 (Anti-PAG caprins). Pistes: (1) DEAE 0,04 M ; (2) DEAE 0,04 M G-75 tube 64 ; (3) DEAE 0,04 M, G-75 tube 64, Mono S tubes 37-41 ; (4) DEAE 0,04 M, G-75 tubes 65-66 ; (5) DEAE 0,04 M, G-75 tube 65-66, Mono S 26-31

Références

- [1] Xie SC et al. Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88:10247-10251.
- [2] Green J et al. Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. Biol. Reprod. 2000, 62:1624-1631.
- [3] Zoli AP et al. Purification and characterization of a bovine pregnancy-associated glycoprotein. Biol. Reprod. 1991, 45:1-10.