

“Identificação dos glicoconjugados co-reativos à lectina DBA e ao anti-CT1 expressos nas células uNK”

Lucas B Paduan, Aline FP Melo, Áureo T Yamada.

Resumo

Células NK-uterinas (uNK) são consideradas subpopulações específicas do útero gestante em humanos e camundongos, porém não há ainda um marcador específico para distingui-las das demais células NK. Em camundongos a lectina *Dolichos biflorus* (DBA) tem sido utilizada como marcador seletivo porém sem reação cruzada com uNK de outras espécies. Neste trabalho avaliou-se a expressão do antígeno Sd(a)-reativo ao anticorpo anti-CT1 nos glicoconjugados reativo à lectina *Dolichos biflorus* (DBA), presentes nas células uNK de camundongos gestantes. O anti-CT1 apresentou reação positiva na superfície das células uNK semelhante à da lectina DBA e o *Western-blot* da fração proteica de células uNK identificou duas bandas (140/190kDa) anti-Sd(a)⁺ co-reativas dentre dezenas de bandas lectina DBA positiva.

Palavras Chave: células uNK, lectina DBA, antígeno SD(a).

Introdução

As células *natural killer* uterinas (uNK) são consideradas subpopulações de leucócitos específicos do útero gestante e a sua identificação em camundongos tem a lectina *Dolichos biflorus* (DBA) que reconhece GalNac terminais de glicoconjugados presentes na membrana plasmática, como principal marcador seletivo destas células [1]. Contudo, a caracterização bioquímica desses glicoconjugados reativo à lectina DBA não são conhecidas. Análises de glicoconjugados isolado de trofoblastos de bovinos identificou o N-glicano do antígeno SDa reativo ao anticorpo monoclonal anti-CT1 como sendo co-reativo à lectina DBA [2]. A partir do estudo anterior que demonstrou a marcação das células uNK de camundongos pelo anticorpo anti-CT1, o presente trabalho propôs identificar e isolar o glicoconjugado co-reativo à lectina DBA e anti-CT1.

Resultados e Discussão

Métodos:

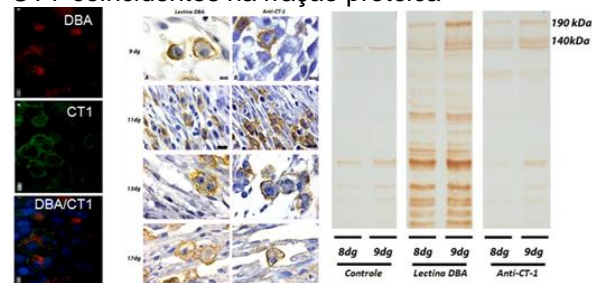
Foram utilizados úteros de camundongos no 9^o, 11^o, 13^o e 17^o dias de gestação (dg) para histoprocessamento e reações citoquímicas de lectina DBA e imunocitoquímica com anticorpo anti-CT1. Sítios uterinos no 9^odg foram utilizados para isolamento de células uNK por meio de esferas magnéticas revestidas com lectina DBA e homogenado protéico dessas células uNK foram utilizadas para SDS-PAGE e blotting das frações reveladas pela lectina DBA e anti-CT1.

Resultados e Discussão:

As células uNK apresentaram marcação coincidente tanto pela lectina DBA quanto para o anti-CT1, apresentando constância ao longo da gestação nos períodos analisados (9, 11, 13 e 17dg). O *Western-blot* realizado em frações

protéicas do SDS-PAGE identificaram dezenas de frações DBA+, porém apenas duas frações são coincidentes com o anti-CT1, mostrando a maior especificidade do anticorpo como potencial marcador específico das células uNK de camundongos. Estas frações CT-1 positivas serão isoladas para futura análise proteômica e identificação da fração peptídica dos glicoconjugados DBA+/CT1+.

Figura 1. Reação citoquímica de DBA e imunocitoquímica de anti-CT1 identificam as células uNK ao longo da gestação e pelo *Western blot* identificam duas bandas DBA⁺/anti-CT1⁺coincidentes na fração proteica



Conclusões

O anticorpo anti-CT1 é potencialmente um marcador específico de células uNK de camundongos.

Agradecimentos

Ao PIBIC/CNPq-UNICAMP pela concessão da bolsa de IC.

¹ BA Croy, J Zhang, C Tayade, F Colucci, H Yadi AT Yamada. Analysis of uterine natural killer cell. IN:Natural Killer Cell Protocols, 2010. DOI 10.1007/978-1-60761-362-6_31

² Klisch K: A tetraantennary glycan with bisecting N-acetylglucosamine and the Sd^a antigen is the predominant N-glycan on bovine pregnancy-associated glycoproteins. *Glycobiology*, 2008; (18):42–52