

EXPRESSÃO DO ANTÍGENO Sd(a)-(NeuAc α 2-3[GalNAc β 1-4]Gal β 1-4GlcNAc-) EM CÉLULAS NATURAL KILLER UTERINAS DE CAMUNDONGOS



UNICAMP

Abib, T.H¹; Lima, P.D.A.¹; Klisch, K.²; Bizinoto, M.C.³; Yamada, A.T.¹
1- Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Biologia, UNICAMP
2- Universidade de Nottingham, UK, 3- Universidade de Alfenas, MG.



Instituto de Biologia



Palavras-chave: células uNK - gestação - glicoconjugados - lectina DBA - anticorpo Sd(a) - camundongos.

Introdução

A célula *Natural Killer* (uNK) está presente em grandes quantidades tanto no útero de humanos quanto no de roedores durante a gestação. Porém, não há um marcador específico para se distinguir essas células de outros linfócitos. Embora a lectina *Dolichos biflorus* (DBA) tenha sido usada como um marcador para células uNK murinas devido a sua afinidade aos glicoconjugados contendo N-acetil D-galactosamina (GalNAc), a identificação destas moléculas alvo ainda não foi concretizada. Um anticorpo construído para a identificação do antígeno Sd(a) contendo GalNAc foi avaliado como potencial candidato para identificar o marcador específico de superfície da célula uNK murina. O presente trabalho analisou a co-expressão do antígeno Sd(a)-(NeuAc α 2-3[GalNAc β 1-4]Gal β 1-4GlcNAc-) nos glicoconjugados contendo GalNAc terminal reativo à lectina DBA, presentes nas células uNK murinas e a sua especificidade.

Metodologia

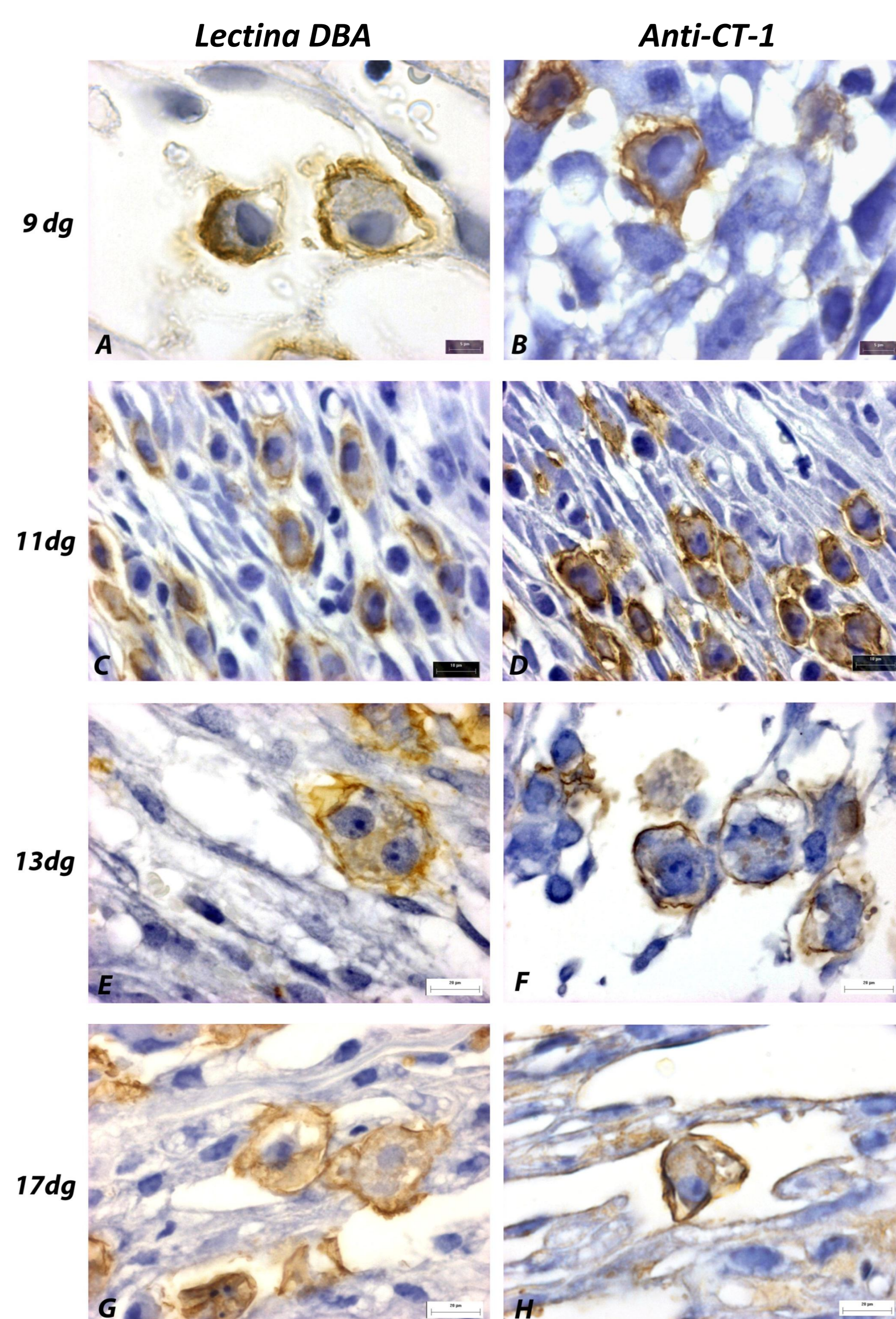
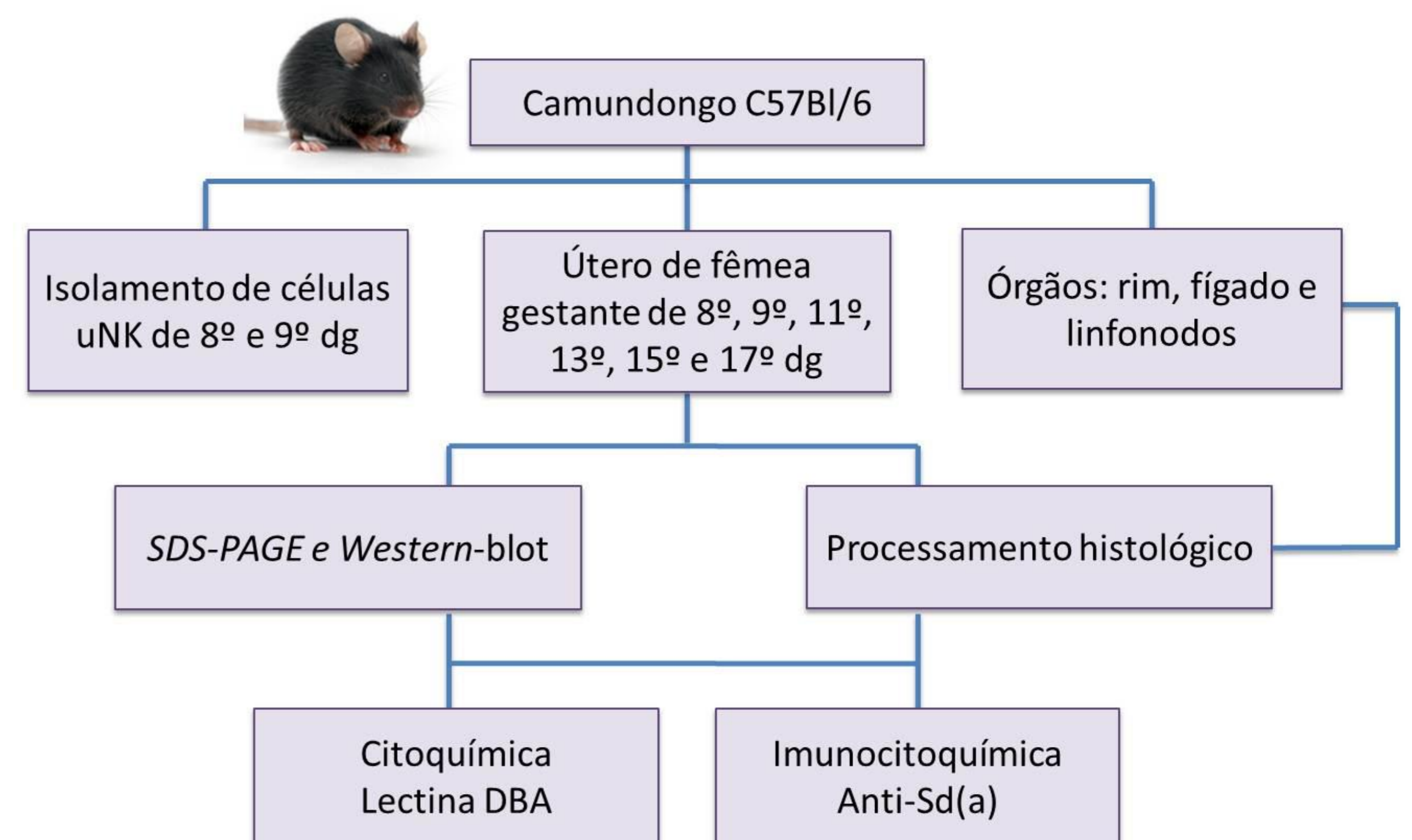


Figura 1(A-H): Imunocitoquímica Anti-CT-1 e citoquímica de lectina DBA no útero do 9º ao 17º dia de gestação (dg). Tanto a lectina DBA quanto o Anti-CT-1 apresentam reações altamente seletivas às células uNK. Note que a marcação com lectina DBA ocorre na superfície celular e também no conteúdo citoplasmático (E, G), enquanto a reatividade do anti-CT-1 aos grânulos citoplasmáticos é menos expressiva (F, H). Barras: A, B: 5um; E, F, G, H: 20um; C, D: 40um.

Resultados

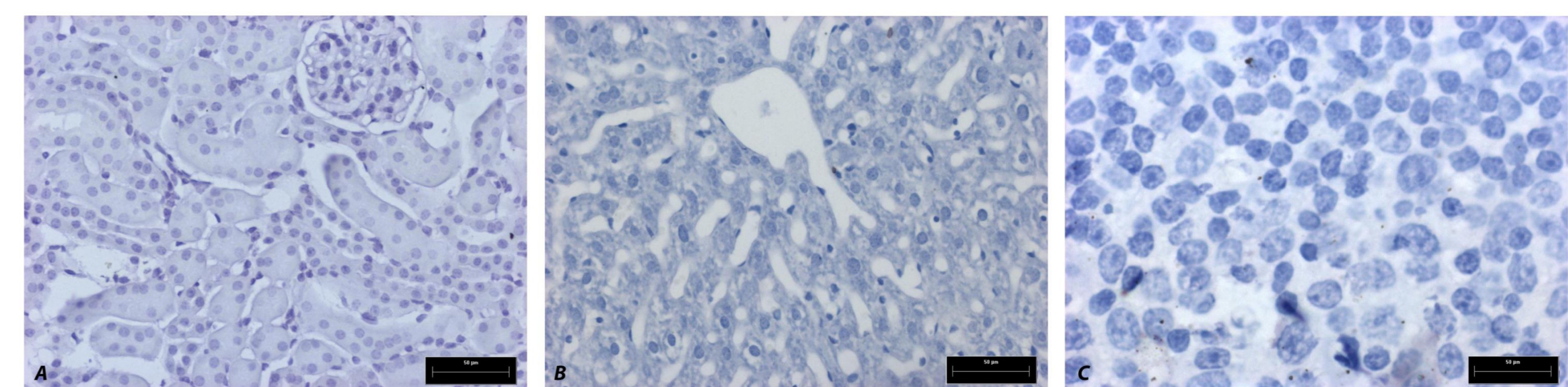


Figura 2 (A-C): Imunoperoxidase com Anti-CT-1. (A) rim, (B) fígado e (C) linfonodo. Estes órgãos analisados não apresentam tecidos ou células Anti-CT-1 positivas. Barras: 40um.

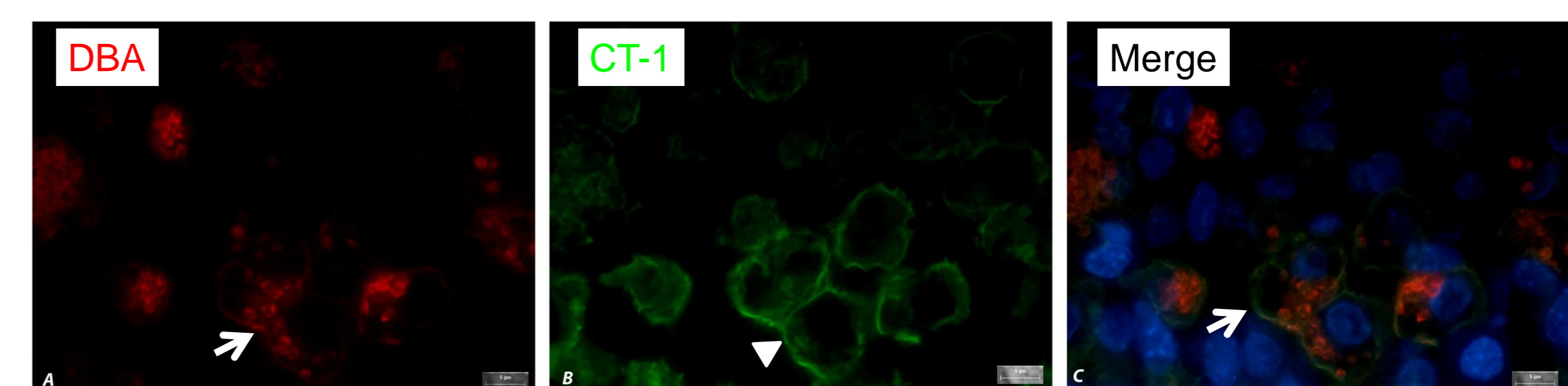
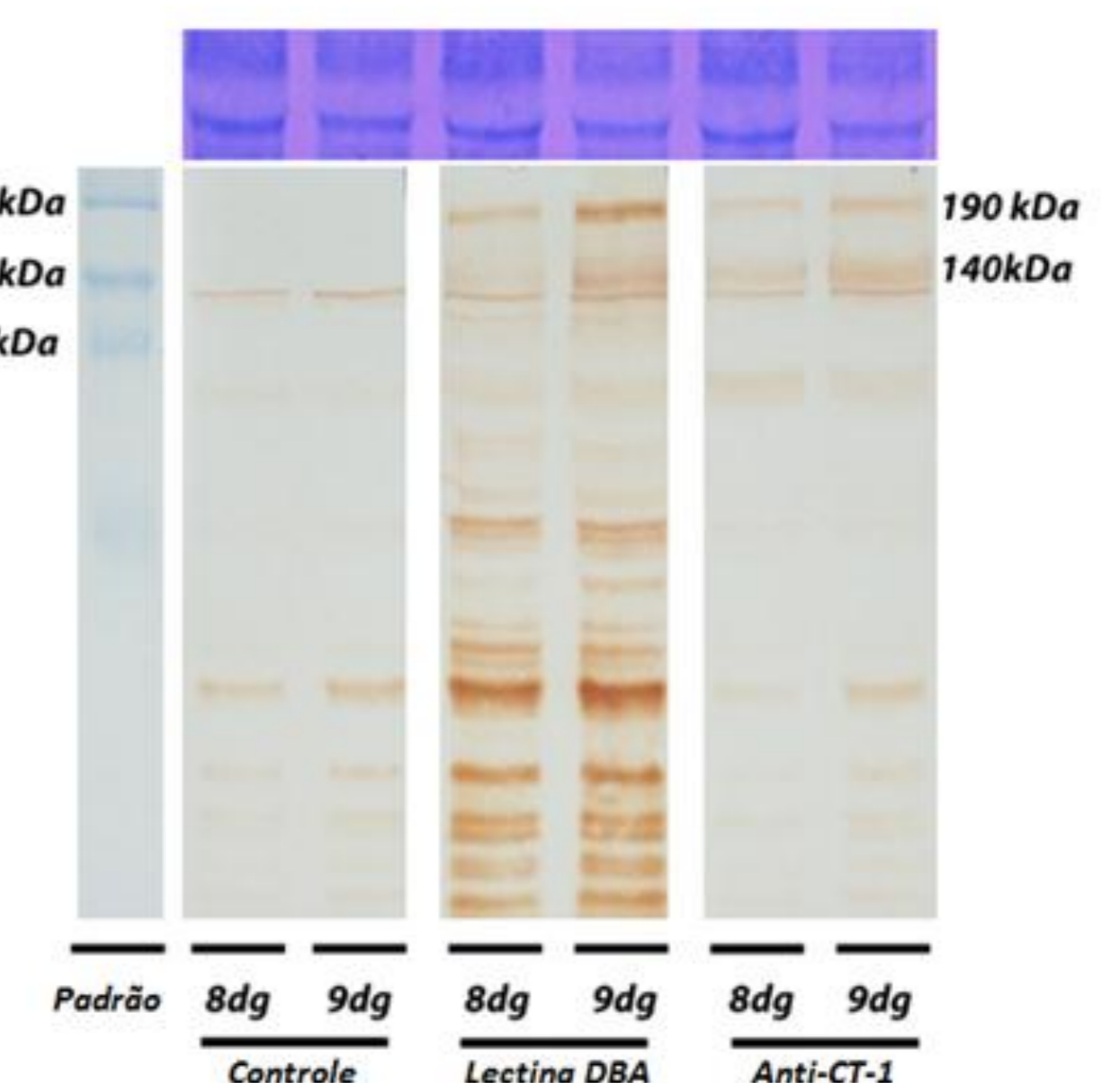


Figura 3 (A-C): Dupla marcação com Anti-CT-1 (Verde - Alexa fluor 488), Lectina DBA (Vermelho - Texas red) e DAPI (azul) para marcação nuclear. Note a colocalização para Anti-CT-1 e Lectina DBA (setas) em células uNK, sendo os grânulos marcados somente com Lectina DBA e algumas células uNK são somente Anti-CT-1 positivas (cabeça de seta) na superfície. Barras: 5um.

Figura 4: Bandas proteicas de SDS-PAGE corado pelo Comassie blue e Western-blot correspondente identificando duas bandas DBA+ e Anti-CT-1+ duplo-reativas de aproximadamente 140kDa e 190kDa. Note o elevado número de bandas somente lectina DBA+ e aparentemente nenhuma banda somente Anti-CT-1 positiva.



Discussão e Conclusões

- A reatividade específica do anti-CT-1 na superfície das células uNK sugere a expressão de glicoconjugados contendo antígeno Sd(a) igualmente reativo à lectina DBA.
- O número restrito de bandas anti-Sd(a) reativas comparado ao da lectina DBA e a reação localizada seletivamente na superfície de células uNK, não compartilhada com outros leucócitos, sugere o antígeno Sd(a) como um potencial marcador específico para células uNK murinas.

Referências Bibliográficas

- Paffaro, V. A. Jr, Bizinotto, M. C., Joazeiro, P. P., Yamada, A. T. Subset classification of mouse uterine natural killer cells by DBA lectin reactivity. *Placenta* 2003; 24:479-488.
- 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.
- Lefrançois, L. Expression of carbohydrate differentiation antigens during ontogeny of the murine thymus. *J. Immunol.* 1987; 139:2220.