

**Título: Caracterização de anticorpos monoclonais anti-N e análise de expressão fenotípica por citometria de fluxo**

Autor(es) Juliane de Campos Inácio\*; Elenice Deffune

E-mail para contato: ju\_camposinacio@yahoo.com.br

IES: FAESO / São Paulo

Palavra(s) Chave(s): glicoforina; anticorpos; citometria

**RESUMO**

A glicoforina A (GPA) é a maior sialoglicoproteína transmembrana dos eritrócitos e no segmento N terminal externo estão representados os antígenos dos grupos sanguíneos M e N. O organismo produz um anticorpo monoclonal de provável especificidade anti-N, para a validação em Imunohematologia (IH) e Citometria de Fluxo (CF). Este trabalho teve como objetivo estudar o perfil de reconhecimento de antígenos eritrocitários sabendo-se que os clones produzidos são IgG1-k e confirmar a especificidade N ou estudar a possibilidade de ser um anti-GPA. Foram realizadas titulações de anticorpos por hemaglutinação em microplaca. As análises por CF avaliou a expressão de antígenos N em hemácias, leucócitos e plaquetas além dos testes de coexpressão em hemácias NN, MM e NM com objetivo de analisar o reconhecimento de epítomos diferentes ou competição entre eles. Mediante os resultados foram realizadas novas análises com amostras de doadores fenotipados a fim de confirmar a especificidade do anticorpo monoclonal em estudo. A análise IH mostra que ambos os clones obtidos reconhecem especificamente antígenos N expressos na superfície das hemácias onde a positividade e intensidade das aglutinações foram confirmadas em microscopia convencional. Com relação à expressão dos antígenos N por CF, nos diferentes gates, observa-se que apenas as hemácias expressam essa especificidade. No ensaio de competição por CF os resultados sugerem um reconhecimento diferente das amostras NN (homozigotas) para cada anticorpo (epítomos diferentes) não havendo competição entre eles com evidente aumento da intensidade de fluorescência, porém quando se analisa amostras MN (heterozigotas) os anticorpos 1 e 2 competem entre si, sugerindo o reconhecimento de um mesmo sítio antigênico. As técnicas utilizadas para análise do perfil destes diferentes clones de anticorpo monoclonal, nos permite identificar a alta sensibilidade da Citometria de Fluxo que mostra que ambos os clones reconhecem a GPA existente nas hemácias, pois as análises confirmatórias com hemácias MM apresentam o mesmo índice de positividade quando comparadas aos resultados apresentados pelas hemácias NN, isso porque a sensibilidade da CF permite evidenciar o reconhecimento do anticorpo à glicoforina e não ao sítio antigênico específico do grupo MN ao qual se liga. Porém os resultados da análise IH revela um perfil definido de anticorpo de especificidade anti-N com alta intensidade de aglutinação quando testado com hemácias NN, resultados negativos com hemácias MM e menor intensidade de aglutinação para hemácias MN.