



IMUNOCITOQUÍMICA DE CÉLULAS EMBRIONÁRIAS CULTIVADAS DE CARRAPATOS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*
IMMUNOCYTOCHEMISTRY FOR CULTIVATED EMBRYONIC TICK CELLS OF *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

M.C.Luzzi^{1,2}, P.H.L. Bertolo^{1,2}, L. Lima-Duarte³, T.M.V. Silva², R.O. Vasconcelos², R.Z. Machado², M.R. André², D.M. Barros-Battesti²

¹PPG Medicina Veterinária; ²Depto. de Patologia Veterinária, FCAV-UNESP (Universidade Estadual Paulista), Jaboticabal, SP; ³Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP.

Embora sejam utilizadas e cultivadas há algum tempo, células embrionárias de carrapatos ainda não foram satisfatoriamente caracterizadas no que diz respeito ao uso de biomarcadores. A imunocitoquímica é uma técnica importante de diagnóstico, que utiliza anticorpos para detecção de antígenos distribuídos na célula em seus diversos compartimentos, permitindo sua visualização com diferentes tipos de revelação. O objetivo do presente trabalho foi utilizar anticorpos e biomarcadores já existentes no mercado para imunocitoquímica, visando testar a imunomarcagem de diferentes antígenos em células embrionárias de carrapatos cultivadas da linhagem IBU-RBM12, da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Em secções de 3µm do material celular obtido por *Cell Block*, foram testados os seguintes anticorpos monoclonais: caspase-3 (anti-mouse, 1:200), para identificar células em apoptose; vimentina (anti-mouse, 1:200), para células mesenquimais; e MCA874G (anti-human, 1:350), para precursoras mielóides. O protocolo geral para todos os anticorpos primários foi: disposição das amostras em lâminas silanizadas, desparafinização em estufa e incubação em xilol; hidratação em soluções decrescentes de álcool e recuperação antigênica em panela de pressão com solução tampão de citrato de sódio. Para o bloqueio da peroxidase endógena, utilizou-se uma solução de metanol e peróxido de hidrogênio 30 volumes a 8%. O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com produto comercial por 30 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida os cortes foram incubados com os anticorpos primários, e com polímeros ligados à peroxidase. Entre cada um dos passos descritos, foram realizados banhos em água destilada e em solução tampão de Tris HCl (pH 7,4). Para a visualização da reação, utilizou-se o cromógeno DAB e a contra-coloração Hematoxilina de Harris. Foi observada imunomarcagem intensa de caspase-3 nas células IBU-RBM12, sendo preferencialmente presente nos núcleos, indicando células em apoptose na cultura. Não foi observada imunomarcagem de vimentina e MCA874G nas amostras, indicando que marcadores específicos para células de carrapato devem ser desenvolvidos, para auxiliar a fixar padrões, monitorizar biologicamente as células para verificar sua viabilidade, e fornecer dados importantes para o estabelecimento e crescimento destas culturas.

Palavras-chave: marcadores celulares, cultivo celular, IBU-RBM12

Financiamento: FAPESP, CAPES, CNPq.