

P 1093**Indução da superexpressão da enzima DPPIV/CD26 em células de carcinoma cervical humano**

Julia Biz Willig; Aline Beckenkamp; Franciele Cristina Kipper; Guido Lenz; Andréia Buffon - UFRGS

O câncer cervical é uma das neoplasias mais prevalentes na população feminina em todo o mundo. A exoprotease dipeptidil peptidase IV (DPPIV), também conhecida como CD26, é uma proteína multifuncional envolvida em diversos processos relacionados com o câncer. Ela possui uma atividade catalítica capaz de inativar biopeptídeos, e é a principal proteína de ligação para a adenosina deaminase (ADA) e também se liga a proteínas da matriz extracelular. O objetivo deste estudo foi induzir a superexpressão da DPPIV/CD26 em células de câncer de colo do útero, para posterior análise da influência desta proteína em processos tumorais. Além disso, também avaliamos a dependência da atividade enzimática no seu papel no câncer de colo do útero, usando uma forma mutada desta proteína (CD26mut). As linhagens celulares HeLa (derivadas de carcinoma cervical) e HEK-293 foram mantidas em meio de cultivo DMEM suplementado com soro fetal bovino 10%, a 37 °C, em 5% de CO₂. As células foram semeadas em placas 96 poços e transfectadas usando 0,1µg de plasmídeo (vetor vazio pLR2, pLR2CD26wt ou pLR2CD26mut), e 0.3µl de solução de polietilenimina (1µg/µl). As células foram analisadas 72h pós.transfecção. A expressão do gene repórter, proteína verde fluorescente – GFP, em células transfectadas foi analisada por microscopia de fluorescência e citometria de fluxo. A atividade enzimática da DPPIV/CD26 em células aderentes e sobrenadantes foi determinada através de ensaio colorimétrico, onde as células foram incubadas na presença do substrato artificial Gli.Pro.p.nitroanilida durante 60 min de reação e a absorbância do sobrenadante foi medida a 405 nm. A indução da superexpressão da DPPIV/CD26 foi confirmada por citometria de fluxo, que demonstrou um aumento na expressão de DPPIV/CD26 nas células GFP+ transfectadas com pLR2CD26wt e pLR2CD26mut. As células transfectadas com pLR2CD26wt apresentaram um aumento significativo na atividade enzimática em células aderentes, enquanto pLR2CD26mut não afetou a atividade enzimática, confirmando o efeito da mutação. Além disso, foi demonstrado que o plasmídeo pLR2 vazio não afeta a atividade enzimática quando comparado com as células não transfectadas. No sobrenadante, um aumento na atividade enzimática foi observado apenas na linhagem celular HEK.293, que parece secretar essa proteína de forma mais eficiente. Este estudo continua em desenvolvimento com perspectiva de melhor compreender a relação da expressão da DPPIV/CD26 com a carcinogênese cervical. Unitermos: DPPIV/CD26; Superexpressão; Câncer Cervical