



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Indução da superexpressão da enzima DPPIV/CD26 em células de carcinoma cervical humano
Autor	JULIA BIZ WILLIG
Orientador	ANDREIA BUFFON

Título: Indução da superexpressão da enzima DPPIV/CD26 em células de carcinoma cervical humano

Júlia Biz Willig, Andréia Buffon – Laboratório de Análises Citológicas e Bioquímicas- Faculdade de Farmácia- UFRGS

Introdução: O câncer de colo de útero é uma das neoplasias que mais acomete mulheres em todo o mundo. Este tipo de câncer está diretamente relacionado com a infecção pelo papiloma vírus humano (HPV), porém estudos têm demonstrado que apenas a infecção pelo HPV não é capaz de conduzir à transformação maligna, portanto outros fatores estão envolvidos neste processo. Neste contexto, o estudo de proteínas que podem contribuir para o processo tumoral tornar-se um tema interessante para a compreensão da biologia celular da carcinogênese cervical. 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. Estudos prévios do nosso grupo de pesquisa demonstraram expressão e atividade reduzida desta proteína em linhagens celulares de câncer cervical. **Objetivo:** 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). **Metodologia:** 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 de 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 expressão da DPPIV/CD26 foi avaliada por citometria de fluxo utilizando anticorpo anti-DPPIV/CD26 conjugado com PE. A atividade enzimática da DPPIV/CD26 em células aderentes e sobrenadante 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. **Resultados:** 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.