

ESTUDO *IN VITRO* DA EXPRESSÃO E REGULAÇÃO EPIGENÉTICA DA PROTEÍNA M-SEC NAS CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA MAMÁRIO, APÓS INTERAÇÕES COM MACRÓFAGOS

Autora: Débora de Oliveira Mares Silvestro

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Cristina Perez Hurtado

Nanotubos de tunelamento (TNTs) são pontes citoplasmáticas que medeiam interações entre diferentes tipos celulares. No câncer, o aumento de TNTs está relacionado com a aquisição de maior potencial agressivo pelas células tumorais. A proteína M-Sec (TNFAIP-2) está diretamente envolvida na formação dos nanotubos de tunelamento. Assim, o intuito do presente estudo será avaliar a expressão e regulação epigenética da proteína M-Sec, nas células de adenocarcinoma mamário antes e após interações com macrófagos, bem como sua participação na aquisição do fenótipo agressivo. Para isto, células de adenocarcinoma mamário serão cultivadas sozinhas, com macrófagos RAW 264.7 ou com sobrenadante de macrófagos por 12, 24 e 48 horas para avaliação e caracterização de TNTs por análises de microscopia confocal. Transporte de organelas como mitocôndrias e lisossomos através dos TNTs será também investigado. Sobrenadantes das culturas serão coletados para determinação do perfil de citocinas inflamatórias pela técnica CBA e presença de metaloproteases 2 e 9 por zimografia. Em paralelo, células tanto de monoculturas como de coculturas serão submetidas à separação por *cell sorter*, para análises da expressão de M-Sec em ambas as células, por PCR e Citometria de fluxo. Adicionalmente, a participação de mecanismos epigenéticos envolvidos na regulação da expressão da M-Sec serão avaliados, pela investigação de sítios plausíveis de metilação no gene da M-Sec e por análises de expressão de ao menos 3 transcritos de miRNAs selecionados da literatura. Os dados obtidos no presente trabalho serão de grande valia para elucidação do papel da M-Sec na progressão tumoral e possíveis mecanismos epigenéticos envolvidos na regulação da expressão da proteína.