

# 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 diretamente 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 em macrófagos. Sabendo que os macrófagos são as células do sistema imunológico presentes em maior quantidade no microambiente tumoral e que participam ativamente de todas as etapas da tumorigenese, 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. Para isso, 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 de fluorescência. Em paralelo, células tanto de monoculturas quanto 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. Até o presente momento, foram realizados testes com os anticorpos TNFAIP2, além de padronizações de concentrações, proporções e tempos de cultivos celulares, com o objetivo de obter as condições ideais para visualização e quantificação dos nanotubos de tunelamento nos modelos estudados.