



Expressão de subunidades de integrinas, MMPs e CAMs em linhagem B16F10 tratadas com anti-metastático.

Murilo de Souza Salardani, Paula Macedo Cunha, Jorge Hernandez Fernandez
LQFPP, CBB, UENF

As proteínas de adesão (CAMs), integrinas, e metaloproteases são fatores chaves em processo de adesão, migração, proliferação e sobrevivência celular. Todas elas interagem com proteínas de matriz extracelular. As subunidades de integrinas, tais como $\alpha 4$, αV , $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\beta 3$ e $\beta 1$ (VCAM) são importantes moléculas que agem no processo de metástase. Nesse aspecto espera-se identificar as subunidades de integrinas expressas na linhagem B16F10, que é uma linhagem de melanoma murino com alto grau de metástase. Antes da extração de RNA total as células B16F10 foram tratadas com o peptídeo antimetastático A9s em diferentes concentrações e aderidas em matriz extracelular (fibronectina- 5 ug/ml). Na extração em condições normais de cultura o kit comercial Direct-zol™ RNA MiniPrep foi usado e seguiu de acordo com o protocolo do fabricante. Na síntese do cDNA usamos o kit (Thermo Scientific Verso cDNA Synthesis Kit) de acordo com o protocolo do fabricante. Posteriormente foi realizada a PCR em tempo real para quantificação de integrinas, MMPs e CAMs. Após a PCR, foi feita a eletroforese em gel de agarose (SIGMA) 2% em tampão TAE 1x(USB) a 7 V/cm, corado com GelRed (BIOTIUM) e visualizado o produto de reação em luz ultravioleta e fotografado. Na análise densitométrica das eletroforeses no GelAnalyser das subunidades de integrinas, foi observado que as bandas amplificadas apareciam em tamanho menor do que 90 p.b. o que sugere degradação dos *primers*. Contudo, nos resultados das culturas da linhagem B16F10 aderidos a fibronectina e tratadas com mitomicina, temos a presença de moléculas de adesão como PCAM em 6 horas e ICAM e VCAM em 12 horas de cultura. MMP2 e MMP9 foram observadas neste processo. Após 6 meses de treinamento e experimentação, estes resultados devem ser repetidos para confirmação estatística das observações.

Palavras-chave: Integrina, Metástase, Moléculas de adesão, PCR.

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF