

Caracterização de metaloproteinases (MMPs) em exossomos de células tumorais de mama

PACHANE, Bianca C.^{1*}; ALTEI, Wanessa F.¹; SELISTRE DE ARAUJO, Heloisa S.¹

¹ Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos
*e-mail: biancapachane@gmail.com

INTRODUÇÃO

A invasão celular é uma das principais etapas da metástase, no qual células tumorais migram ativamente pelo tecido adjacente mediante ação de moléculas de adesão, componentes do citoesqueleto e enzimas proteolíticas, como as metaloproteinases de matriz (MMPs) (Figura 1).

As gelatinases (MMP-2 e MMP-9) têm papel importante, visto que a clivagem do colágeno tipo I mediada pelas enzimas libera o sítio de ligação da integrina $\alpha\beta_3$, desencadeando cascatas de sinalização citoplasmática para invasão celular.

Recentemente, verificou-se que a invasão celular também é auxiliada por vesículas extracelulares, especialmente pelos exossomos. Exossomos são significativamente mais abundantes em células tumorais, podendo reprogramar células saudáveis para adquirirem capacidade metastática.

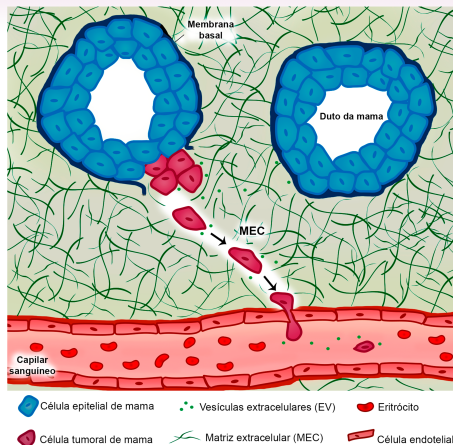


Figura 1. Comportamento de invasão de células tumorais de mama pela matriz extracelular (MEC) e pelo tecido sanguíneo. Diagrama: autoria própria.

OBJETIVO

Identificação e avaliação da atividade das gelatinases MMP-2 e MMP-9 em exossomos isolados e purificados de células tumorais de mama (MDA-MB-231) e o estudo do papel da integrina $\alpha\beta_3$ durante a invasão celular, por meio do bloqueio desse receptor com a desintegrina recombinante DisBa-01.

MATERIAIS E MÉTODOS

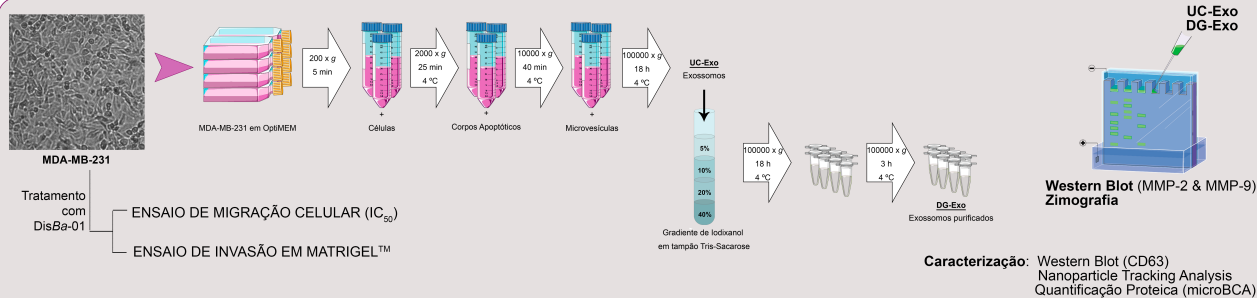
Expressão e Purificação de DisBa-01

(RAMOS *et al.*, 2008)

Expressão heteróloga em *Escherichia coli* BL21 (DE3)

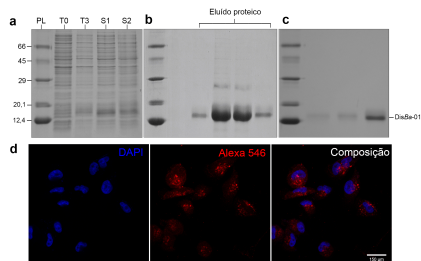
Purificação em Cromatografia de Afinidade à Ions Níquel e em Cromatografia de Troca Aniônica

Quantificação proteica (BCA)

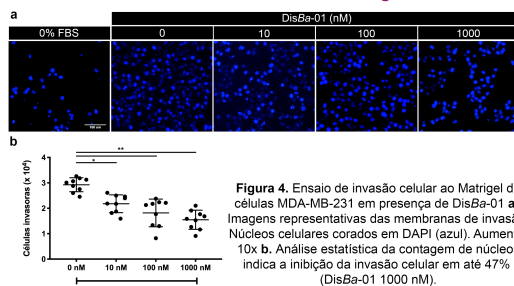


RESULTADOS

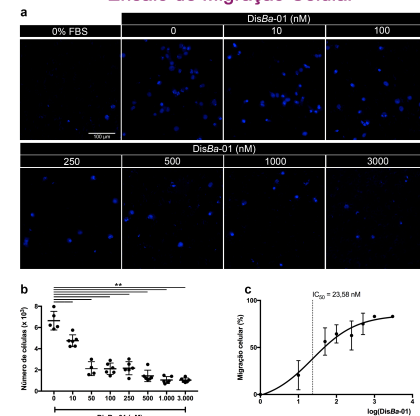
Expressão e purificação de DisBa-01



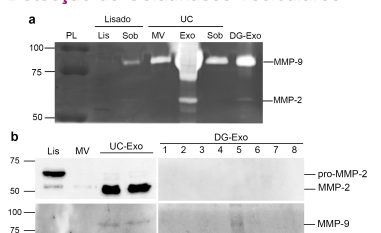
Ensaio de Invasão em Matrigel™



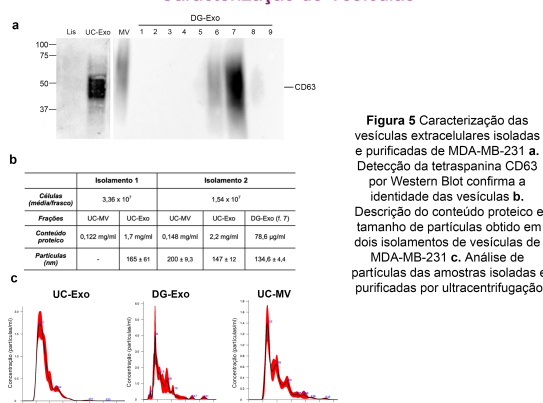
Ensaio de Migração Celular



Deteção de Gelatinases Vesiculares



Caracterização de Vesículas



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a presença das enzimas MMP-2 e MMP-9 em exossomos, podemos inferir que essas vesículas participam da degradação ativa da MEC, auxiliando no processo de invasão de células tumorais no tecido adjacente