

DETERMINAÇÃO DA INTERAÇÃO DAS VIAS DE REPARO DO DNA COM AS PROTEÍNAS DO *heat shock* EM LINHAGENS DE *Saccharomyces cerevisiae* EM PRESENÇA DO ANTITUMORAL ET-743

Queli Defaveri Varela (BIC/UCS), Mirian Salvador, Daniele G. Soares, João Antonio P. Henriques - Instituto de Biotecnologia/UCS; Diego Bonatto - UFRGS; Gilberto Schwartsmann - Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS - [quimfarm@yahoo.com.br](mailto:quimfarm@yahoo.com.br)

O alcalóide tetrahidroisoquinilínico Ecteinascidin 743 (Et 743) é uma droga antimoral potente isolada do tucato marinho *Ecteinascidia turbinata* cujos ensaios clínicos têm demonstrado uma potente atividade contra os sarcomas de tecidos moles, podendo vir a se tornar mais uma opção nos tratamentos clínicos. De qualquer forma, o seu mecanismo de ação ainda não está totalmente elucidado. A sua estrutura química sugere que pode haver uma ligação entre a sua citotoxicidade e as quebras que ele insere nas proteínas e no DNA. Desta forma, neste trabalho se verificou a interação das proteínas das vias de reparo do DNA (excisão de bases, excisão de nucleotídeos, recombinação e síntese translesão) com as proteínas do *heat shock* pela da determinação da sensibilidade de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* proficientes e deficientes nas vias de reparo tratadas com diferentes concentrações de ET 743 em presença e ausência de *heat shock*. Para tanto foram utilizadas as seguintes linhagens de *S. cerevisiae*: *ntg1ntg2*; *ntg1ntg2apn1*, *ntg1ntg2apn1rad1*, *ntg1ntg2apn1rev3*, *ntg1ntg2apn1rad52* com inóculo de  $2 \times 10^6$  células/mL, em fase exponencial de crescimento, sendo então tratado com Et 743 em concentrações crescentes de 1; 2; 4; 6 e 8  $\mu\text{M}$  e incubadas a 28°C e 38 °C (*heat shock*) por 5 horas, com agitação, em meio YEPD (2% glicose, 1% de extrato de levedura, 2% peptona). Após, as células foram convenientemente diluídas em solução salina 0,9% e semeadas em placas de Petri contendo meio YEPD acrescido de 2% de ágar. Posteriormente foram incubadas a 28°C durante 48 horas. A viabilidade celular foi determinada pela contagem das colônias nas placas, considerando-se como 100% de sobrevivência as células sem tratamento. A análise estatística foi realizada através da análise de variância e pós-teste de Tukey utilizando o programa SPSS 10.0 for Windows. Os resultados mostraram que a resistência dos mutantes da via NER ao ET 743, principalmente os envolvidos na etapa de incisão (*rad1*, *rad10* e *rad2*), corroboram os resultados obtidos em células de mamíferos. Empregando a combinação de simples, duplos, triplos e quádruplos mutantes das vias BER, NER, síntese translesão e recombinação foi possível determinar que tanto a via BER e NER estão envolvidas na promoção da incisão do DNA junto a lesão levando à morte celular.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*, Et-743, vias de reparo de DNA

Apoio: UCS, GENOTOX/UFRGS, CINCAN-ULBRA, CNPq, FAPERGS