

**VANESCA DE SOUZA LINO**

**Estudo do papel de genes envolvidos no reparo de dano  
ao DNA na sensibilização à morte celular em células que  
expressam oncogenes de HPV**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo  
2023

**VANESCA DE SOUZA LINO**

**Estudo do papel de genes envolvidos no reparo de dano ao  
DNA na sensibilização à morte celular em células que  
expressam oncogenes de HPV**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Enrique Mario Boccardo Pierulivo

Versão original

São Paulo  
2023

## RESUMO

LINO, V. **Estudo do papel de genes envolvidos no reparo de dano ao DNA na sensibilização à morte celular em células que expressam oncogenes de HPV.** 2023. 85 f. (Doutorado em Microbiologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Alguns tipos de HPV, conhecidos coletivamente como HPV de alto risco, estão etiologicamente associadas com quase a totalidade dos cânceres da cérvix uterina, com mais de 50% de outros cânceres anogenitais e uma porcentagem relevante de tumores de cabeça e pescoço. A infecção por estes tipos de vírus está associada ao acúmulo de alterações genéticas incluindo mutações pontuais, inserções, deleções e alterações cromossômicas, uma característica comum à maioria dos cânceres humanos. Os HPV de alto risco expressam duas oncoproteínas, E6 e E7, que agem sobre fatores celulares específicos promovendo proliferação celular. Estas proteínas são capazes de induzir alterações cromossômicas numéricas e estruturais. Além disso, podem modular a resposta da célula à presença de dano no DNA. A letalidade sintética descreve uma condição celular que duas (ou mais) mutações não alélicas e não essenciais, que não são letais individualmente, tornam-se mortais quando presentes na mesma célula. Células transformadas por HPV de alto risco constituem modelos de particular interesse para o estudo de letalidade sintética, uma vez que as oncoproteínas E6 e E7 agem em várias vias de transdução de sinal, como por exemplo, as reguladas por p53 e pRb. Ao longo dos últimos anos, nosso laboratório vem investigando o papel de proteínas envolvidas no reparo de dano ao DNA na biologia das células derivadas de câncer cervical. No presente estudo, analisamos o silenciamento dos genes RAD52, BRCA1, PCNA e HUS1 nas linhagens derivadas de tumores da cérvix uterina HeLa (transformada por HPV18) e SiHa (transformada por HPV16). Através de ensaios de proliferação e viabilidade observamos que o silenciamento desses genes foi capaz de mudar o perfil proliferativo dessas linhagens, além de conseguir induzir parada de ciclo celular e entrada em apoptose em algumas das populações celulares analisadas.

**Palavras-chave:** HPV. Reparo de DNA. Apoptose. Células transformadas por HPV. shRNA.

## ABSTRACT

LINO, V. **Study of the role of genes involved in DNA damage repair in the to sensitization cell death in cells expressing HPV oncogenes.** 2023. 85 f. (Doctorate in Microbiology). Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2023.

Some types of HPV, collectively known as high-risk HPV, are etiologically associated with almost all cancers of the uterine cervix, with more than 50% of other anogenital cancers and a relevant percentage of head and neck tumors. Infection with these types of viruses is associated with the accumulation of genetic alterations including point mutations, insertions, deletions and chromosomal alterations, a common feature of most human cancers. High-risk HPVs express two oncoproteins, E6 and E7, which act on specific cellular factors promoting cell proliferation. These proteins are capable of inducing numerical and structural chromosomal alterations. In addition, they can modulate the cell's response to the presence of DNA damage. Synthetic lethality describes a cellular condition in which two (or more) non-allelic, non-essential mutations, which are not individually lethal, become deadly when present in the same cell. Cells transformed by high-risk HPV are models of particular interest for the study of synthetic lethality, since oncoproteins E6 and E7 act on several signal transduction pathways, such as those regulated by p53 and pRb. Over the last few years, our laboratory has investigated the role of proteins involved in DNA damage repair in the biology of cells derived from cervical cancer. In the present study, we analyzed the silencing of RAD52, BRCA1, PCNA and HUS1 in cervical cancer derived cell lines HeLa (transformed by HPV18) and SiHa (transformed by HPV16). Through proliferation and viability assays, we observed that the silencing of these genes was able to change the proliferative profile of these cells, in addition to being able to induce cell cycle arrest and entry into apoptosis in some of the cell populations analyzed.

**Keywords:** HPV. DNA repair. Apoptosis. Cells transformed by HPV. shRNA.