

## **Título: Análise da função de RASSF9 em melanoma em modelos 2D e 3D**

### **RESUMO**

O melanoma é o câncer de pele mais letal. Ele pode ser dividido em quatro grupos, dependendo do tipo de mutação. Ras, uma proteína associada a diferentes processos bioquímicos, como proliferação, diferenciação, morfologia e apoptose, está mutada em 28% dos pacientes com câncer. Além disso, já foi demonstrado que Ras atua na via NF- $\kappa$ B e modula a produção de citocinas. Os principais efetores de Ras em relação à morte celular são membros da família RASSF (Ras-Association Domain Family), que é composta por dez membros (RASSF1-10) que compartilham um domínio RA (RalGds/AF6). Dependendo da posição do domínio RA, os membros são divididos em dois grupos, o grupo C-terminal (RASSF1-6) e o N-terminal (RASSF7-10). RASSF9 foi inicialmente descrito como P-CIP1 e mais tarde foi transferido para a família RASSF devido à sua semelhança com RASSF7 e RASSF8. A proteína RASSF9 atua como um supressor de tumor em cânceres de mama e gástrico, promovendo a transição G1/S e induzindo a apoptose. Em contraste, RASSF9 induz o crescimento de tumores esofágicos escamosos. Nosso projeto possui dois focos principais, o primeiro foi investigar o papel de RASSF9 em contexto de melanoma. Então, desenvolvemos duas linhagens celulares de melanoma murino (Tm1.Luc e Tm5) deficientes para RASSF9 usando o sistema CRISPR/Cas9. Observamos uma dualidade entre as duas linhagens celulares no contexto de resistência à morte celular induzida e capacidades de migração e invasão. Por um lado, após o tratamento com cisplatina, as células Tm1.Luc.R9KO parecem ser mais sensíveis à morte celular. Por outro lado, as células Tm5.R9KO exibiram ou nenhuma diferença ou uma ligeira redução na porcentagem de células mortas frente ao tratamento com diferentes drogas. O segundo objetivo foi investigar a produção de citocinas induzida por oncogenes. Induzimos a expressão de oncogenes, HRas<sup>V12</sup> e BRAf<sup>V600</sup>, e observamos que isso claramente induziu a produção de IL-6 e IL-8. Nrf2 também parece induzir a produção de citocinas, mas esse efeito provavelmente não está relacionado à via Ras, uma vez que a superexpressão de Keap1 foi insuficiente para inibir ou diminuir a produção de proteínas. Em conclusão, RASSF9 parece participar do processo de migração, invasão e resistência à morte celular. Além disso, Ras oncogênico e Nrf2 induzem a produção de citocinas, mas esse processo provavelmente não é dependente um do outro. Serão necessários mais experimentos para confirmar nossas descobertas.