

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC
**UFRGS**
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Desenvolvimento de lipossomas como vetores para o sistema CRISPR/Cas9 visando à edição gênica de fibroblastos MPS I
Autor	CAMILA VIEIRA PINHEIRO
Orientador	HELDER FERREIRA TEIXEIRA

Desenvolvimento de lipossomas como vetores para o sistema CRISPR/Cas9 visando à edição gênica de fibroblastos MPS I

Aluna: Camila Vieira Pinheiro

Orientador: Prof. Dr. Helder Ferreira Teixeira
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença de depósito lisossômico causada por mutações no gene da enzima alfa-L-iduronidase (IDUA), o que impossibilita a degradação dos glicosaminoglicanos heparan e dermatan sulfato em diversos tecidos, levando a sintomas multissistêmicos. Como os tratamentos disponíveis apresentam restrições, dentre as abordagens terapêuticas encontra-se a edição gênica, que consiste na correção do defeito genético causador da doença. Desta forma, este projeto visa ao desenvolvimento de lipossomas como vetores não-virais para o sistema CRISPR/Cas9 para fins de edição gênica de fibroblastos, através da correção do gene *IDUA*. Objetivo: desenvolver os vetores lipossomais e avaliar sua eficiência de transfecção *in vitro* em fibroblastos de pacientes MPS I. Metodologia: os lipossomas contendo DOPE, DOTAP e DSPE-PEG foram obtidos por homogeneização à alta pressão. A obtenção de complexos dos lipossomas com o DNA foi realizada por adsorção extemporânea na razão de cargas +4/-1. As formulações e complexos foram caracterizados em termos de diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta, determinados por espectroscopia de correlação de fótons e mobilidade eletroforética. A complexação entre o DNA e os lipossomas foi avaliada através do ensaio de retenção em gel de agarose por eletroforese. Fibroblastos de pacientes MPS I foram utilizados para avaliação da viabilidade celular pela técnica de MTT e para a avaliação da transfecção, através da incubação das células com os complexos. A eficiência de transfecção foi avaliada através da dosagem da atividade enzimática de IDUA em fibroblastos por ensaio fluorimétrico. Resultados: os lipossomas apresentaram-se monodispersos, com potencial zeta positivo e tamanho de cerca de 90 nm que aumentou quando se adicionou o DNA (~110 nm). Além disso, observou-se que as formulações são carreadoras estáveis e eficientes de DNA através do teste de complexação. Após incubação das células com os complexos, verificou-se alta viabilidade celular, além da promoção de um aumento significativo na atividade da enzima IDUA de cerca de 5%, que se manteve após 30 dias de cultura celular. Conclusão: a partir do conjunto de resultados, conclui-se que os lipossomas são eficientes vetores não-virais para o sistema CRISPR/Cas9 juntamente com o oligonucleotídeo doador da sequência correta do gene *IDUA*, e os complexos demonstraram eficiência de transfecção, pois promoveram um aumento significativo da atividade de IDUA em fibroblastos de pacientes MPS I.