



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Nanoemulsões como vetores para terapia gênica in vitro de fibroblastos MPS I
Autor	FERNANDA COSTA CHARLES
Orientador	HELDER FERREIRA TEIXEIRA

Nanoemulsões como vetores para terapia gênica *in vitro* de fibroblastos MPS I

Aluna: Fernanda Costa Charles

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 sulfato de heparano e dermatano 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 nanoemulsões como vetores não-virais para o sistema CRISPR/Cas9 para fins de edição gênica de fibroblastos, através da correção do gene *IDUA*. Objetivo: desenvolver as nanoemulsões e avaliar sua eficiência de transfecção *in vitro* em fibroblastos de pacientes MPS I. Metodologia: as nanoemulsões contendo DOPE, DOTAP, DSPE-PEG e TCM foram obtidas por homogeneização à alta pressão. A obtenção de complexos das nanoemulsões 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. Fibroblastos de pacientes MPS I foram utilizados para 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: as nanoemulsões apresentaram-se monodispersas, com potencial zeta positivo e tamanho de cerca de 150 nm que aumentou quando se adicionou o DNA (~200 nm). Após incubação das células com os complexos, verificou-se um aumento significativo na atividade da enzima IDUA de cerca de 4%, que se manteve após 30 dias de cultura celular. Conclusão: a partir do conjunto de resultados, conclui-se que as nanoemulsões 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.