



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2020: SIC - XXXII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2020
<b>Local</b>	Virtual
<b>Título</b>	Desenvolvimento e caracterização físico-química de lipossomas para vetorizar o sistema CRISPR para fins de edição gênica
<b>Autor</b>	EDUARDA PERES COUTO
<b>Orientador</b>	ROSELENA SILVESTRI SCHUH

## **Desenvolvimento e caracterização físico-química de lipossomas para vetorizar o sistema CRISPR para fins de edição gênica**

Aluna: Eduarda Peres Couto

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Roselena Silvestri Schuh

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A Mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma desordem multissistêmica causada pela deficiência da enzima alfa-L-iduronidase (IDUA), que leva ao acúmulo intracelular de glicosaminoglicanos. A terapia gênica é uma potencial alternativa aos tratamentos atuais, sendo os lipossomas eficientes carreadores de ácidos nucleicos para esse fim. Entretanto, a literatura carece de investigação aprofundada das características físico-químicas desses sistemas quando complexados aos ácidos nucleicos. Nesse contexto, o presente projeto visou desenvolver lipossomas, produzir complexos com ácidos nucleicos e avaliar suas propriedades físico-químicas, estabilidade e eficiência de internalização em diferentes tipos celulares, objetivando sua utilização como vetores não-virais em edição gênica com vistas ao tratamento da MPS I. Para isso, lipossomas compostos por DOPE, DOTAP e DSPE-PEG foram preparados pela técnica de formação de filme seguida por microfluidização. A obtenção de complexos com o DNA foi realizada pelo método de adsorção extemporânea em diferentes razões de carga, sendo a eficiência dessa verificada por eletroforese em gel de agarose. Para a caracterização físico-química das formulações, determinou-se o diâmetro médio, o índice de polidispersão e o potencial zeta das partículas. A estabilidade foi verificada em um ensaio de digestão com DNase I e a eficiência da transfecção foi analisada em um ensaio *in vitro* de captação celular por fibroblastos, células HEK-293 e HEP-G2, visualizado por microscopia de fluorescência e quantificado por citometria de fluxo. Os resultados demonstraram que os complexos formados na razão de cargas +4/-1 são estáveis físico-quimicamente (homogêneos, monodispersos e com potencial zeta de +42 mV) e protegem o DNA da degradação pela DNase I, além de serem internalizados eficazmente em todos os tipos celulares estudados. Conclui-se que os lipossomas complexados com o plasmídeo do sistema CRISPR/Cas9 são eficientes vetores não virais capazes de serem internalizados nas células e são potenciais candidatos à utilização em terapia gênica para tratamento da MPS I.