

014

TRANSFERÊNCIA GÊNICA UTILIZANDO UM VETOR NÃO VIRAL PARA MUCOPOLISSACARIDOSE TIPO I. *Marianne Schrader de Oliveira, Melissa Camassola, Tiago Pires Dalberto, Andres Delgado Cañedo, Luisa Maria Gomes de Macedo Braga, Nance Beyer Nardi, Kátia Kvitko (orient.)* (Departamento de Genética, Imunogenética, UFRGS).

A Mucopolissacaridose Tipo I (MPS I) é uma doença hereditária autossômica recessiva, causada pela deficiência de enzimas lisossomais envolvidas na degradação de glicosaminoglicanos (GAGs). A deficiência da enzima (-L-iduronidase (IDUA) caracteriza a Síndrome de Hurler que leva ao acúmulo de dermatan e heparan sulfato nos lisossomos acarretando em um fenótipo degenerativo progressivo com o comprometimento de vários órgãos como cérebro, coração, ossos, fígado, córneas e pulmões que leva ao óbito antes dos dez anos de idade. Uma alternativa promissora para a MPS I é a terapia gênica. Ensaios pré-clínicos estão sendo desenvolvidos testando diferentes vetores. O presente trabalho visa a construção de um vetor não viral (plasmídeo) com o gene da IDUA funcional. O fragmento que contém o cDNA do gene IDUA utilizado possui 2, 17 kb e foi isolado do plasmídeo pH2.1 através da clivagem com as endonucleases de restrição BamHI e HindIII. Este fragmento foi clonado no vetor de expressão pREP9 que apresenta expressão estável e menor risco de resposta imunológica por possuir elementos do Epstein-Barr vírus (EBV), resultando no plasmídeo pRIDUA. A transformação para a obtenção de um grande número de cópias do pRIDUA foi realizada em linhagem XL1 de *Escherichia coli*. A reação da PCR foi realizada diretamente das colônias resultantes para confirmar a transformação. Atualmente, estamos realizando a transferência do pRIDUA em culturas primárias de estroma hematopoietico de camundongos nocaute para o gene IDUA da linhagem C57Bl/6. A próxima etapa será testar diferentes vias de administração do vetor nestes camundongos. (FAPERGS/IC).