

**P 4445**

**Uso do sistema CRISPR-Cas9 para corrigir mutações em MPS I**

Talita Giacomet de Carvalho, Felipe Mateus Pellenz, Roberto Giugliani, Guilherme Baldo, Ursula Matte  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

A Mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença lisossômica de depósito causada por mutações no gene da IDUA, que leva ao acúmulo dos glicisaminoglicanos dermatan e heparan sulfato nos tecidos. Tendo em vista as limitações apresentadas pelas terapias existentes no tratamento da MPS I, a investigação de novas alternativas terapêuticas é necessária. A tecnologia CRISPR-Cas para edição genômica permite modificar regiões genômicas de maneira mais precisa e segura que as formas de terapia gênica tradicionais. O objetivo deste trabalho é utilizar o sistema CRISPR-Cas9 para corrigir mutações de ponto em células de um paciente com MPS I. Para isso, fibroblastos com a mutação W402X foram cultivados e transfectados com o vetor CRISPR-Cas9 desenhado para clivar uma região próxima à mutação e um oligonucleotídeo para recombinação homóloga e correção da mutação. Após 48 horas, a atividade de IDUA nos fibroblastos transfectados foi quantificada. Os resultados de ensaio da atividade de IDUA nas células transfectadas mostraram um aumento de em média 8 vezes a atividade observada em fibroblastos não transfectados. A medida da atividade enzimática no meio de cultura em que as células foram mantidas, também 48h após a transfecção, não apresentou diferença entre as células transfectadas ou não. Os resultados mostraram que uma porcentagem das células foi corrigida e passou a produzir a enzima ausente nas células do paciente. Análises após tempos maiores e outros testes são necessários para corroborar este resultado. Projeto aprovado pelo CEP HCPA. Palavras-chaves: Mucopolissacaridose tipo I, CRISPR-Cas9, edição genômica.