



XXXIII SIC SALÃO INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Evento	Salão UFRGS 2021: SIC - XXXIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2021
Local	Virtual
Título	Caracterização de lipossomas para vetorizar o sistema CRISPR para fins de edição gênica
Autor	EDUARDA PERES COUTO
Orientador	ROSELENA SILVESTRI SCHUH

Caracterização de lipossomas para vetorizar o sistema CRISPR para fins de edição gênica

Aluna: Eduarda Peres Couto

Orientadora: Prof.^a Dr.^a 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. Devido às limitações dos tratamentos atuais, a terapia gênica utilizando CRISPR/Cas9 tem sido explorada como um potencial terapêutico, sendo os lipossomas eficientes carreadores de material genético para esse fim. No entanto, a literatura carece de investigação aprofundada das características físico-químicas desses sistemas quando complexados aos ácidos nucleicos. Assim, o presente projeto visa desenvolver lipossomas, produzir complexos com ácidos nucleicos e avaliar suas propriedades físico-químicas, estabilidade e eficiência de internalização em diferentes tipos celulares, com vistas à sua utilização como vetores não-virais para edição gênica e tratamento da MPS I. Para isso, foram preparados lipossomas pela técnica de hidratação do filme lipídico seguida de microfluidização. Os complexos foram formados por adsorção extemporânea de DNA em diferentes razões de carga, avaliados por eletroforese e caracterizados físico-quimicamente quanto ao diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta. Também realizou-se um ensaio de digestão com DNase I, para avaliar a estabilidade, e um ensaio *in vitro* de captação celular por fibroblastos, células HEK-293 e HEP-G2, seguido de microscopia de fluorescência e citometria de fluxo, para medir a eficiência da transfecção (CEUA/HCPA#150416). Os resultados demonstraram que os complexos formados na razão de cargas +4/-1 são estáveis físico-quimicamente e capazes de proteger contra a degradação enzimática por DNase I. Além disso, houve diferença estatística na fluorescência das células tratadas, em comparação às não tratadas, indicando que a internalização foi eficaz 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, portanto, potenciais candidatos à utilização em terapia gênica para tratamento da MPS I.