



**REENCONTROS
NOVOS ESPAÇOS
OPORTUNIDADES**

XXXIV SIC Salão Iniciação Científica

**26 - 30
SETEMBRO
CAMPUS CENTRO**

Evento	Salão UFRGS 2022: SIC - XXXIV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2022
Local	Campus Centro - UFRGS
Título	Desenvolvimento de modelo animal com Mucopolissacaridose tipo II - GFP para edição de Células-Tronco Hematopoiéticas via CRISPR/CAS9
Autor	NÁTHALI DA SILVA PAIVA
Orientador	GUILHERME BALDO

Justificativa: Causada por deficiência enzimática de iduronato-2-sulfatase (IDS), codificada pelo gene *IDS*, a Mucopolissacaridose do tipo II (MPS II) é uma condição genética ligada ao cromossomo X. Para os pacientes acometidos pela doença, a opção terapêutica de transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) permite a utilização das células do próprio paciente após correção genética, eliminando a necessidade de doador compatível e anulando a possibilidade da doença do enxerto contra o hospedeiro. O desenvolvimento de modelo animal GFP-MPS II permite a execução de experimentos de terapia celular e gênica com rastreabilidade destas células, para que possamos avaliar o comportamento das células transplantadas e a eficácia da terapia via CRISPR/CAS9. **Objetivos:** Objetiva-se a criação de modelo animal que apresente genótipo recessivo para MPS II e expresse a proteína verde fluorescente (GFP) em suas células hematopoiéticas. **Metodologia:** Para criação do modelo animal foram realizados cruzamentos dos animais C57BL/6J - GFP e C57BL/6J - MPS II para obtenção da geração parental. Em seguida foi realizada análise molecular dos genótipos das gerações consecutivas por meio do isolamento do DNA genômico por Salting Out, seguido de amplificação de fragmentos do gene *IDS* de 318 pb nos animais MPS II e 435 pb nos animais selvagens. Para aferição do transgene GFP de fêmeas em heterozigose para MPS II, aderimos a técnica de RT-qPCR conduzida no equipamento QuantStudio 3 (Thermo Fisher) utilizando o reagente PowerUp SybrGreen Master Mix (Thermo Fisher). **Resultados parciais:** Os resultados da PCR convencional e RT-qPCR para os genótipos indicaram percentual de aproximadamente 25% da ninhada F1 como fêmeas *IDS*^{+/-} *GFP*^{+/-}. Posteriormente, cruzaremos machos *IDS*⁺ *GFP*^{+/+} de biotério externo para fixar o alelo *GFP*⁺ na colônia de forma a obter animais de genótipo *IDS*⁻ *GFP*⁺.