

OTR.17 - Desenvolvimento de vetores lentivirais para inibição do vírus da hepatite B, via RNA de interferência

Bárbara Vieira do Lago^{1*}; Nayhanne Tizzo de Paula²; Francisco Mello¹; Bruno Carneiro³; Vanessa de Paula¹; Francisco José Aragão²; Elisabeth Lampe¹.

¹Fiocruz/IOC;

²Empresa Brasileira em Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

³Universidade Estadual Paulista de São José do Rio Preto - Unesp.

Introdução:

Estima-se que a infecção crônica pelo vírus da hepatite B (HBV) seja responsável por aproximadamente mil óbitos ao ano no Brasil, devido a quadros graves de cirrose e carcinoma hepatocelular (HCC). Atualmente, diversos fármacos são utilizados no tratamento da hepatite B crônica, no entanto, a cura completa ainda é alvo de controvérsias. O principal desafio é a dificuldade do sistema imunológico em eliminar o DNA circular covalentemente fechado (cccDNA) viral presente no núcleo celular, bem como a capacidade que esse vírus tem de integrar seu DNA no genoma do hospedeiro, o que possibilita a reativação da infecção a qualquer momento da vida do paciente. O RNA de interferência (RNAi) é um mecanismo de silenciamento gênico pós-transcricional e demonstra ser uma alternativa promissora na eliminação do HBV.

Objetivo:

O objetivo desse estudo é obter um plasmídeo lentiviral efetivo no silenciamento de diferentes proteínas do HBV, via RNAi, visando o desenvolvimento de um produto para terapia gênica na infecção crônica pelo vírus da hepatite B.

Metodologia:

Os vetores lentivirais são obtidos através da co-transfecção transiente de plasmídeos contendo moléculas de *short-hairpin* RNA (shRNA), que irão atuar silenciando os genes do envelope (HBsAg), Polimerase e/ou Core (HBcAg), e de vetores de empacotamento do sistema lentiviral, contendo os genes GAG, Rev do HIV e a proteína do envelope VSV-G.

Resultado:

A construção de três vetores de silenciamento já foi realizada. Os vetores foram testado *in silico*, a fim de eliminar a possibilidade de efeitos *off-target*. A predição das estruturas secundárias e da estabilidade também já foram testadas. Células Huh7 expressando o DNA do HBV foram transfectadas com o primeiro plasmídeo lentiviral, demonstrando resultados promissores. A partir do terceiro dia pós transfecção, o HBsAg tornou-se indetectável nas células tratadas com o plasmídeo, enquanto os controles não tratados mantiveram a expressão protéica viral. A eficiência do silenciamento pelos siRNA, utilizados individualmente ou em associação, será avaliada também através da quantificação das proteínas HBeAg e do DNA do HBV durante o período pós transfecção.

Conclusão:

Com esse trabalho pretendemos obter vetores efetivos no silenciamento de proteínas importantes do HBV, via RNAi, e assim contribuir para o desenvolvimento dessa promissora modalidade terapêutica, que pode efetivamente atuar na eliminação do HBV em pacientes crônicos.

Palavras-chave: Vírus da hepatite B; RNA de interferência; vetores lentivirais