

**ID:** 3446

**Área:** Eixo 02 | Tecnologia e Inovação em saúde

**Categoria:** Concorrer ao Prêmio Jovem Pesquisador - Doutorado  
Região onde foi realizada a pesquisa:

**Código:**

**Data:**

**Horário:** às

**Sala:**

**Forma de Apresentação:** E-pôster

**Autores:** Sousa, J D (Instituto de Ciências da Saúde, UFBA, Salvador, BA, Brasil), Cunha, A R K (Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz, Salvador, BA, Brasil), Farias, L P (Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz, Salvador, BA, Brasil), Oliveira, L G F (Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz, Salvador, BA, Brasil), Khouri, M I (Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz, Salvador, BA, Brasil), Mascarenhas, A C A M M (Instituto de Ciências da Saúde, UFBA, Salvador, BA, Brasil)

**Instituições:**

**Título:** EXCISÃO DO GENOMA PROVIRAL DO HTLV-1 UTILIZANDO CRISPR-CAS9 EM LINHAGEM CELULAR DA LEUCEMIA/LINFOMA DE CÉLULAS T DO ADULTO (ATLL)

**Introdução:** O HTLV-1 foi o primeiro retrovírus humano descoberto em 1980, sendo associado a um linfoma incomum de células T, a ATLL. Mundialmente, a infecção pelo HTLV-1 acomete aproximadamente 20 milhões de pessoas. Cerca de 4% das pessoas infectadas desenvolvem ATLL. As formas mais agressivas apresentam um dos piores prognósticos entre os linfomas não Hodgkin, com baixa sobrevida associada (< 1 ano). Os tratamentos são baseados em poliquimioterapia, terapia antirretroviral, transplante de medula óssea e uso de terapia-alvo com anticorpos monoclonais. Apesar de reduzirem o agravamento da doença, eles não eliminam o HTLV- 1 do organismo infectado.

**Objetivo (s):** Realizar um estudo de prova de princípio para avaliar se o sistema de edição genômica CRISPR-Cas9 é capaz de excisar o genoma proviral do HTLV-1 e eliminar seus efeitos indutores proliferativos na linhagem celular da ATLL, MT2.

**Material e Métodos:** Estabelecimento da LTR, que flanqueia as extremidades 5' e 3' do genoma do HTLV-1, como região alvo para estratégia de edição, de forma que um RNA guia (gRNA) direcionando a enzima Cas-9 para a LTR promova um evento de clivagem dupla. Desenho de gRNAs para a LTR utilizando a ferramenta web CHOPCHOP e determinação dos gRNAs para controle positivo (sgRPL6) e negativo (sgAAVS1) da edição gênica. Utilização de um sistema de expressão lentiviral de segunda geração para entrega do complexo Cas9-gRNA às células alvo, MT2. Produção de partículas lentivirais recombinantes por lipofecção do sistema lentiviral em células HEK293T. Titulação das



partículas para a transdução das MT2, com um MOI de 10, por espinoculação. Seleção das MT2 transduzidas com puromicina. A edição está sendo avaliada molecularmente pelo ensaio Surveyor (T7 endonuclease) e pelo sequenciamento de Sanger, a fim de caracterizar a região da cicatriz esperada pela clivagem da LTR. A capacidade infecciosa será analisada pela quantificação da carga proviral por qPCR.

**Resultados e Conclusão:** As construções contendo os gRNAs propostos foram confirmadas por sequenciamento de Sanger. A concentração das partículas virais foi quantificada em aproximadamente  $1 \times 10^6$  TU/mL. Os resultados preliminares da viabilidade das MT2 demonstraram a eficiência da transdução, verificada pela resistência à puromicina conferida às células. Através desse estudo, estão sendo desenvolvidos a base e o conhecimento necessários para futuros ensaios clínicos, abrindo perspectivas para interromper a oncogênese associada ao HTLV-1.

**Palavras-chave:** edição genômica, LTR, MT2

**Agradecimentos:** FAPESB, Fiotec

**Palavras Chave:**