

REGULAÇÃO POSITIVA DO GENE “S” POR VETORES RAAV MEDIADOS POR CRISPR NA SÍNDROME DE DRAVET

MONTEIRO, P. M. S.^{#1}; PEREIRA, J. P. F.¹; DUBOIS, R. C.²; CHEN, Y.¹; SILVA, H. P.³; SILVA, T. F.¹; OLIVEIRA, A. C. P.¹; RIBAS, V. T.¹.

1 Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

2 Pontifícia Universidade Católica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

3 Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, Brasil

#paulomsmonteiro@proton.me

A síndrome de Dravet (SD) é uma encefalopatia epiléptica rara e severa que surge nos primeiros anos de vida, marcada por crises convulsivas de difícil controle, prejuízos cognitivos e alto risco de morte súbita. Em cerca de 80% dos casos, a causa está em mutações heterozigóticas com perda de função no gene “S”, responsável pela subunidade de um canal de sódio voltagem-dependente, o que resulta em haploinsuficiência. Evidências experimentais indicam que a disfunção dos interneurônios inibitórios GABAérgicos é um dos principais mecanismos envolvidos na patogênese da doença. As terapias atuais oferecem controle limitado das crises e pouca melhora clínica, o que reforça a urgência por alternativas inovadoras. Nesse contexto, a regulação gênica surge como uma estratégia promissora, especialmente porque os pacientes mantêm uma cópia funcional do gene “S”. O presente estudo propõe o desenvolvimento de um vetor voltado à ativação seletiva do “S” endógeno, utilizando o sistema CRISPR/dCas9 acoplado a domínios ativadores transcricionais (CRISPRa v2 VPR). Uma análise bioinformática detalhada foi conduzida para identificar regiões regulatórias do gene, como promotores e modificações epigenéticas associadas à sua expressão. Com base nisso, foram projetados cinco RNAs guias (gRNAs) direcionados a regiões promotoras distintas. O vetor foi construído por clonagem molecular do sistema dCas9-VPR junto aos gRNAs em bactéria *E. coli* DH5α. Para os testes iniciais, os construtos foram transfectados em neurônios corticais embrionários de camundongos (E15) por meio de nanopartículas lipídicas. A eficiência de ativação gênica foi avaliada por qRT-PCR, revelando aumento da expressão do gene “S” em um dos três gRNAs testados. Os próximos passos incluem a análise dos gRNAs restantes e a produção de vetores rAAV2 otimizados para transdução neuronal. O sucesso deste projeto pode representar um avanço significativo na terapia da SD, abrindo caminho para abordagens mais seguras e eficazes.

Apoio Financeiro: FAPEMIG, FINEP, CNPq.

Palavras-chave: Síndrome de Dravet; rAAV; Vetores virais; Regulação gênica; CRISPR/dCas9.