

# PADRONIZAÇÃO DO PROCESSO DE TRANSFEÇÃO PLASMIDIAL PARA PRODUÇÃO DE AAVS

DUBOIS, R. C.<sup>#1</sup>; MONTEIRO, P. M. S.<sup>2</sup>; PEREIRA, J. P. F.<sup>2</sup>; CHEN, Y.<sup>2</sup>; SILVA, T. F.<sup>2</sup>; RIBAS, V. T.<sup>2</sup>.

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

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

#E-mail: dubs.rafa04@gmail.com

A produção de vírus adeno-associados recombinantes (rAAV) depende da eficiência da transfeção plasmidial, etapa determinante para alcançar altos títulos virais e reprodutibilidade experimental. As células HEK293 são amplamente utilizadas nesse processo devido à sua elevada capacidade de expressão e compatibilidade com vetores derivados de adenovírus. Contudo, fatores como proporção de plasmídeos, densidade celular, tipo de reagente e condições de cultivo podem afetar significativamente o rendimento e a qualidade das partículas virais. Assim, a padronização do processo de transfeção é fundamental para garantir consistência e escalabilidade na produção de vetores destinados à pesquisa e aplicações em terapia gênica. Este projeto tem como objetivo otimizar e validar um protocolo de transfeção plasmidial em células HEK293 para produção de rAAVs. Foram avaliadas diferentes proporções de plasmídeo e concentrações de soro fetal bovino (SFB) no meio de cultura. O plasmídeo utilizado codifica a proteína EGFP sob controle do promotor hSyn, permitindo a visualização da eficiência de expressão. Células HEK293 ( $1 \times 10^6$  por poço) foram cultivadas em meio DMEM-HG com 10% de SFB e, após 24 horas, submetidas à transfeção com 5, 7,5 ou 10  $\mu\text{g}$  de plasmídeo em solução de  $\text{CaCl}_2$  e HBSS, variando a concentração de SFB (2% ou 10%). Após 72 horas, observou-se maior eficiência de transfeção nas condições com 2% de SFB, com cerca de 50% das células expressando EGFP em 24h e aumento progressivo da fluorescência ao longo do tempo. Já nas culturas com 10% de SFB, a expressão foi inferior a 20%. A variação na quantidade de DNA influenciou apenas a intensidade da fluorescência, não o número de células transfectadas. Esses resultados permitem definir condições experimentais que maximizem a eficiência de produção e a qualidade das partículas geradas, criando uma plataforma reprodutível e escalonável para uso em estudos translacionais de terapia gênica. Apoio Financeiro: FAPEMIG, FINEP, CNPq.

Palavras-Chaves: Transfeção plasmidial; HEK293; Terapia gênica; Otimização de produção; Vetores Virais.