

Edição do gene PDE6 β com CRISPR/Cas9 como estratégia terapêutica para a retinose pigmentar: prova de conceito *in vitro*

Périco, B.¹; Móvio, M. I.¹; Lima-Vasconcellos, T. H.¹; Kihara, A. H.¹.

¹Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, SP, Brasil.

Introdução: A retinose pigmentar (RP) autossômica recessiva está frequentemente associada a polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) no gene PDE6 β , levando à degeneração de fotorreceptores e cegueira. A tecnologia CRISPR/Cas9 surge como uma abordagem promissora para a correção gênica, visando desenvolver terapias curativas para esta doença sem tratamentos eficazes atualmente.

Metodologia: Foram construídos um vetor guia (CRISPR/backbone peSpCas9) direcionado à região do SNP no gene PDE6 β do modelo animal Rd1 e um plasmídeo doador contendo a sequência gênica saudável. A eficiência do sistema foi avaliada *in vitro* por transfecção lipídica em fibroblastos, com análise da expressão de PDE6 β por western blotting. Realizou-se também o encapsulamento do sistema em vírus adeno-associados (AAV) para futuras aplicações mais eficazes. O projeto foi aprovado pela CEUA-UFABC (protocolo 9432030818).

Resultados: O vetor guia foi confirmado por sequenciamento. A análise por western blotting em culturas de fibroblastos (n=12) revelou uma redução significativa ($p < 0,001$) na expressão de PDE6 β quando comparada ao controle não transfectado, demonstrando a atividade do sistema CRISPR/Cas9. O encapsulamento em AAV foi bem-sucedido, com titulação viral confirmada em linhagem HEK-293. A clonagem final do plasmídeo doador com a sequência corrigida de PDE6 β ainda está em andamento.

Conclusão: Os dados validam a funcionalidade do sistema CRISPR/Cas9 projetado para edição do gene PDE6 β , capaz de reduzir sua expressão *in vitro*. A produção de vetores virais e os resultados preliminares estabelecem uma base sólida para testes futuros em culturas de retina e modelos *in vivo*, avançando no desenvolvimento de uma terapia gênica para a RP.

Palavras-chave: CRISPR/Cas9, retinose pigmentar, terapia gênica, PDE6 β , edição genômica.