

PROPOSTA DE TERAPIA GÊNICA PARA TRATAMENTO DE VLCADD

Gabriel Martins Sousa, Júlia Guedes Almeida dos Santos, Lucas Nascimento da Silva, Rômulo Emanuel Rabelo Cruz, Yasmin Barbosa Shimizu

Laboratório Avançado II - Profª Juliana Smetana

Very Long-Chain Acyl-coenzyme A Dehydrogenase Deficiency (VLCADD)

Defeito congênito no gene **ACADVL**, que codifica a **enzima VLCAD** – localizada na membrana mitocondrial e responsável pela β -oxidação de ácidos graxos de cadeia muito longa.

Principais sintomas:

- Rabdomiólise induzida por exercício físico;
- Hepatomegalia;
- Defeitos Cardíacos

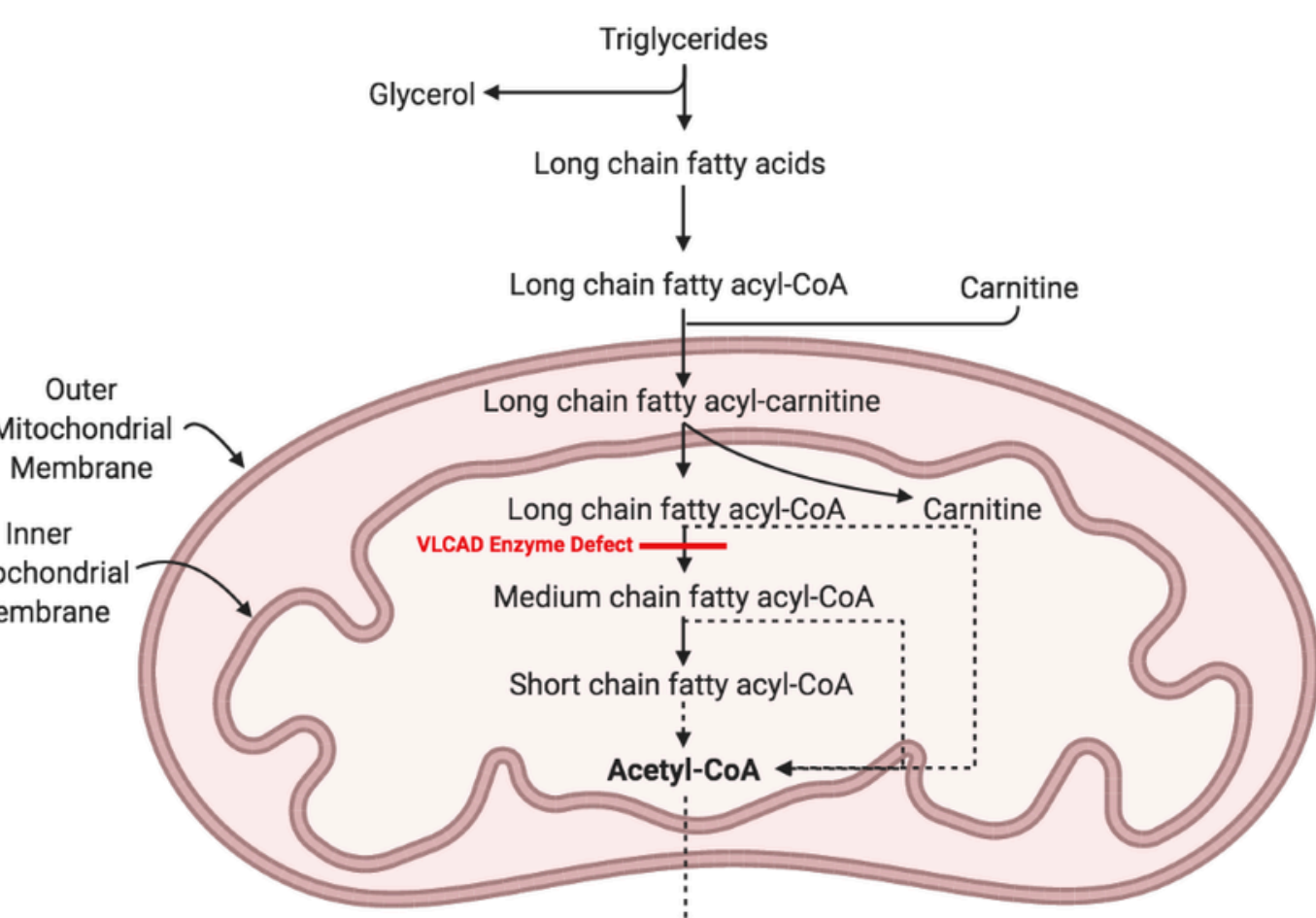


Figura 1 - Representação da β -oxidação mitocondrial de ácidos graxos e o bloqueio causado por deficiência na enzima VLCAD, impedindo a conversão de acil-CoA de cadeia longa em energia.

ANÁLISE DO GENE ACADVL

- Localizado no cromossomo 17p13.1 e com comprimento de 5,4kb
- 4 isoformas conhecidas experimentalmente
- Isoforma precursora é a isoforma 1, que contém 20 éxons e 19 introns

Isoforma	Transcrito	Tamanho do transcrito (nt)	Proteína	Tamanho da proteína (aa)	Quantidade de éxons
1	NM_000018.4	2184	NP_000009.1	655	20
2	NM_001033859.3	2118	NP_001029031.1	633	19
3	NM_001270447.2	2227	NP_001257376.1	678	21
4	NM_001270448.2	2259	NP_001257377.1	579	18

Tabela 1 - Informações sobre as isoformas comprovadas experimentalmente do gene ACADVL

ANÁLISE DA PROTEÍNA

- Análise da isoforma 1, partindo do PDB 7S7G, com 615 aminoácidos

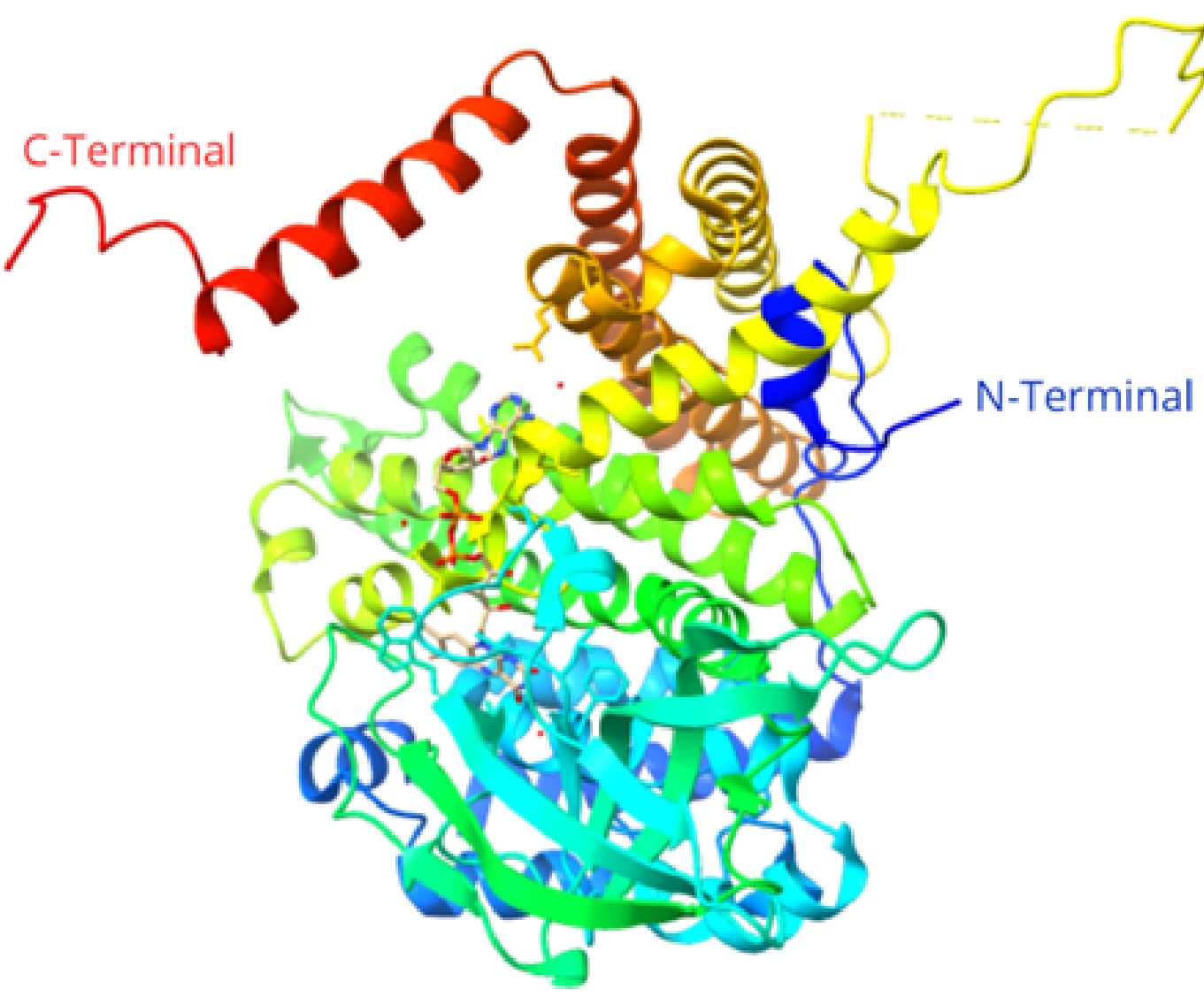


Figura 2 – Estrutura tridimensional da proteína VLCAD (7S7G), obtida a partir do PDB e tratado no ChimeraX.

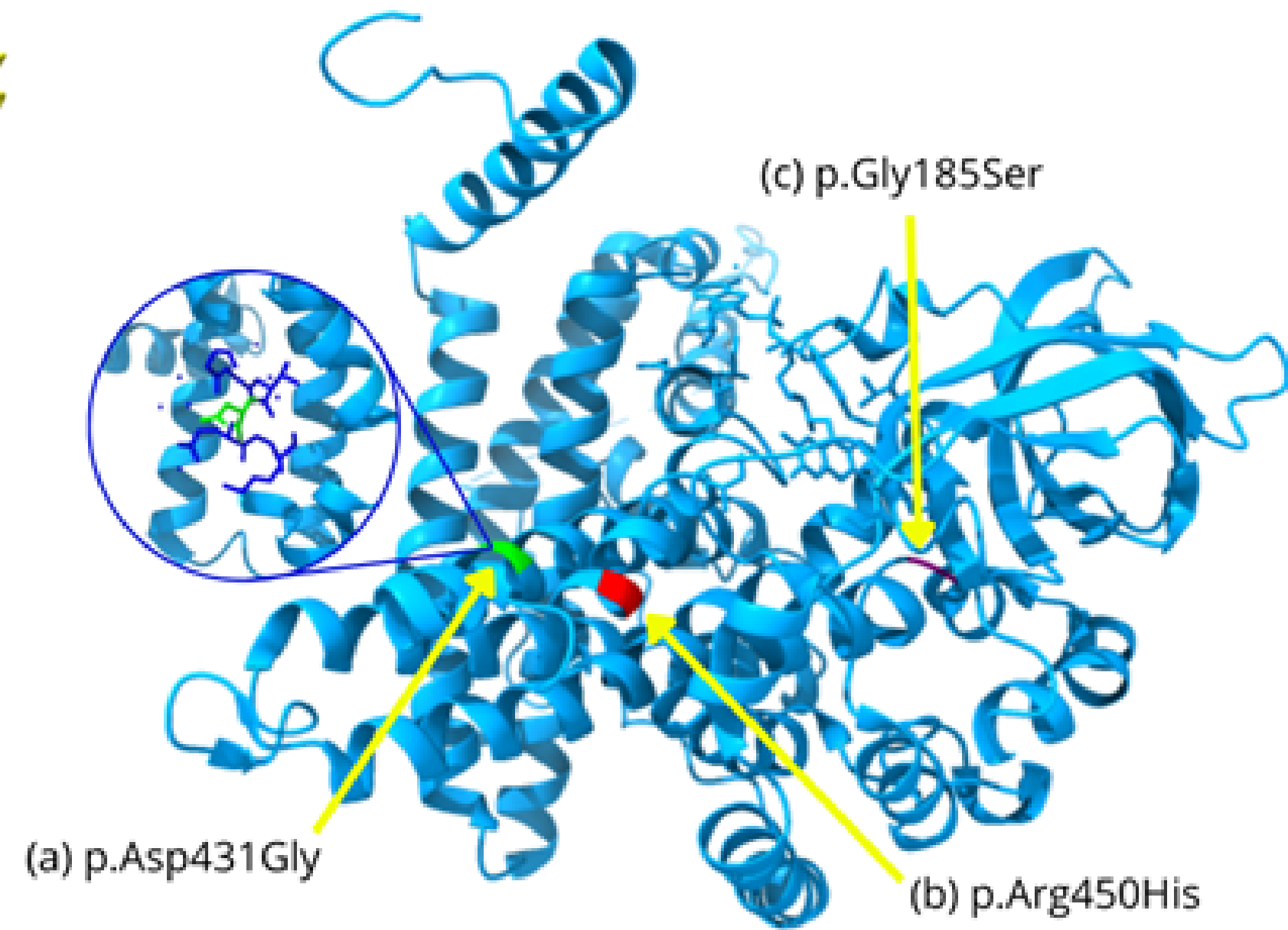


Figura 3 – Estrutura tridimensional da proteína VLCAD (7S7G) com as 3 mutações localizadas, e aproximação na região da mutação de interesse

ESCOLHA DA MUTAÇÃO

- O banco de dados do OMIM localizou 14 mutações no gene ACADVL responsáveis pela aparição da VLCAD. A escolhida para a terapia gênica foi a **c.1292A>G (p.Asp 431Gly)**.
- Localizada no éxon 13, ocasiona o tipo mais grave da doença, com aparição em recém-nascidos e podendo levar à morte.

PROPOSTA DE TERAPIA GÊNICA

Correção de um dos alelos para restaurar parcialmente a atividade funcional da enzima, promovendo melhora clínica significativa nos casos mais graves.

5' **GUCCACUUACGUAGGUUUAGUGUUUUAGAGCUAGAAUAG**
CAAGUUAUUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAG
UGGCACCGAGUCGGUGCUUUU 3'

Figura 4 - Estrutura de um sgRNA (RNA guia simples), formada pela fusão do crRNA (em laranja), responsável pelo reconhecimento da sequência alvo, e do tracrRNA (em azul), que fornece a estrutura necessária para a ligação à proteína Cas9.

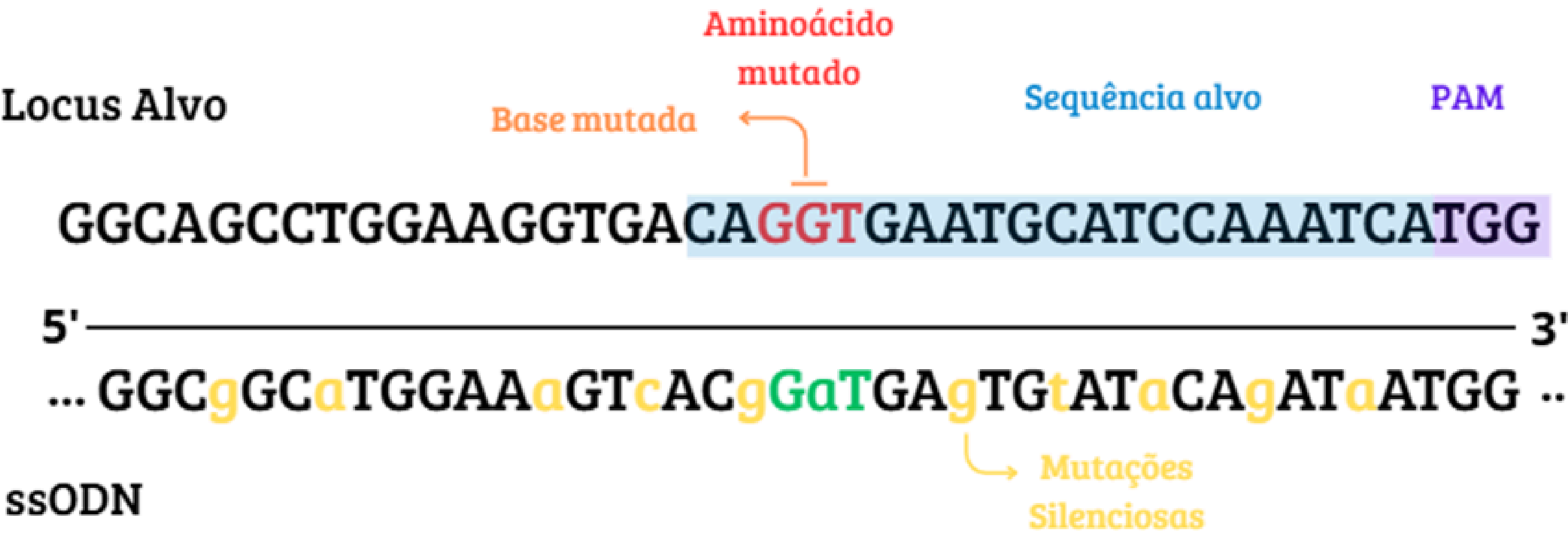


Figura 5 - Na parte superior, destaca-se o aminoácido mutado (em vermelho), acompanhado da sequência alvo reconhecida pelo sgRNA (em azul) e da sequência PAM necessária para o corte pela Cas9 (em roxo). Na parte inferior, apresenta-se o trecho central do ssODN, contendo a correção da mutação (em verde) e mutações silenciosas adicionais (em amarelo).

A terapia consistirá na inserção do material genético desejado, através de **lentivírus**, em **células-tronco ex vivo**, e posterior **reinserção** dessas células modificadas nas regiões de tecido-alvo, como os tecidos cardíacos, musculares e hepáticos.

CONCLUSÃO

Em síntese, a proposta consiste na **terapia gênica** da VLCADD, através do **método de Crispr/Cas9** para a edição gênica e de **vetores virais** para a entrega do material genético no genoma dos tecidos-alvos. Espera-se que após o tratamento com a terapia, a expressão da enzima VLCAD seja normalizada e os sintomas da doença sejam atenuados ou extirpados.

REFERÊNCIAS & SITE!

Para conferir os artigos, estruturas de proteínas, e outros sites utilizados como referência neste trabalho, acesse o site do projeto QRCode ao lado!



ilum escola de ciência

CNPq
Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
UNIÃO E RECONSTRUÇÃO