**Edição genética por *prime editing* em células-tronco pluripotentes induzidas: *DEAF1* como modelo**

**Bruna Pereira Marquezini**[1,2] (bpmarquezini@unifesp.br), Mariana Moysés-Oliveira[1,2] (Mariana.Oliveira@afip.com.br), Mayara Pachalidis[1] (mpaschalidis@unifesp.br), Anna K. Kloster[1,2] (anna.kloster@unifesp.br), Monica L. Andersen[1,2] (ml.andersen12@gmail.com), Sergio Tufik[1,2] (sergio.tufik@afip.com.br)

[1]Departamento de Psicobiologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

[2]Sleep Institute, Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa, São Paulo, Brazil.

**Support:** AFIP, FAPESP, CNPq.

**RESUMO**

**Introdução:** Variantes genéticas raras no gene *DEAF1* estão associadas a uma síndrome denominada Transtorno do Neurodesenvolvimento Associado a *DEAF1* (DAND). Entre as características clínicas dessa síndrome estão o atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, comportamentos obsessivos-compulsivos e agressivos, transtorno do espectro autista, comprometimento no desenvolvimento da fala, distúrbios de sono e epilepsia. Sabe-se que existem diferentes mecanismos mutacionais e padrões de herança associados à DAND, englobando tanto variantes de perda de função bialélicas quanto as variantes de sentido trocado *de novo* em heterozigose. **Métodos:** Este estudo objetiva estabelecer modelos isogênicos de células-tronco humanas pluripotentes induzidas com variante de sentido trocado no domínio SAND de *DEAF1* e avaliar a eficiência de edição genética relacionada ao formato de transfecção da maquinaria de CRISPR. Será utilizada a metodologia de *Prime Editing,* uma técnica avançada baseada em CRISPR, para introdução de variante de sentido trocado em SAND específica de pacientes com DAND. A eficiência de edição genética será avaliada considerando-se a contagem de linhagens obtidas e editadas pós-transfecção. **Resultados:** Obtiveram-se linhagens editadas com genótipos diferentes do esperado, contendo variantes do tipo indel no sítio alvo de edição. Observou-se alta taxa de eficiência de edição genética global quando a maquinaria de *Prime Editing*. **Conclusão:** Esse trabalho abre caminho para estudos futuros voltados à avaliação das consequências funcionais das variantes obtidas como modelos de perda de função de *DEAF1*.

## REFERÊNCIAS


1. Nabais Sá, M. J. *et al.* De novo and biallelic DEAF1 variants cause a phenotypic spectrum. *Genetics in Medicine* **21**, 2059–2069 (2019).
2. Veraksa, A., Kennison, J. & McGinnis, W. DEAF-1 function is essential for the early embryonic development of *drosophila*. *genesis* **33**, 67–76 (2002).
3. Hahm, K. *et al.* Defective Neural Tube Closure and Anteroposterior Patterning in Mice Lacking the LIM Protein LMO4 or Its Interacting Partner Deaf-1. *Mol Cell Biol* **24**, 2074–2082 (2004).
4. Vulto-van Silfhout, A. T. *et al.* Mutations Affecting the SAND Domain of DEAF1 Cause Intellectual Disability with Severe Speech Impairment and Behavioral Problems. *The American Journal of Human Genetics* **94**, 649–661 (2014).
5. Rajab, A. *et al.* Recessive *DEAF1* mutation associates with autism, intellectual disability, basal ganglia dysfunction and epilepsy. *J Med Genet* **52**, 607–611 (2015).
6. McGee, S. R. *et al.* Expansion and mechanistic insights into *de novo* DEAF1 variants in *DEAF1* -associated neurodevelopmental disorders. *Hum Mol Genet* **32**, 386–401 (2023).
7. Michael Deans, P. J. & Brennand, K. J. Applying stem cells and CRISPR engineering to uncover the etiology of schizophrenia. *Current Opinion in Neurobiology* vol. 69 193–201 Preprint at https://doi.org/10.1016/j.conb.2021.04.003 (2021).