

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

Anna K. Kloster^{1,2} (anna.kloster@unifesp.br), Mariana Moysés-Oliveira^{1,2}
(mariana.oliveira@afip.com.br), Lais A. Souza-Cunha²
(amanda.lais@unifesp.br), Bruna Pereira Marquezini^{1,2}
(bpmarquezini@unifesp.br), Monica L. Andersen^{1,2}
(ml.andersen12@gmail.com), Sergio Tufik^{1,2} (sergio.tufik@afip.com.br)

¹Departamento de Psicobiologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil

²Instituto do Sono, Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa, São Paulo, Brasil.

Suporte: AFIP, FAPESP, CNPq.

Palavras-chave: *POGZ*, edição genética, *prime editing*, neurodesenvolvimento.

RESUMO

Introdução: Variantes genéticas raras *de novo* de perda de função (*LoF*) em genes que codificam reguladores da expressão gênica constituem fatores de risco comumente associados às doenças do neurodesenvolvimento (NDD). *Pogo Transposable Element Derived with ZNF Domain (POGZ)* representa um modelo relevante dentro dessa classe de genes, de forma que variantes raras nesse gene estão associadas à síndrome de White-Sutton (WHSUS). **Métodos:** Este estudo objetiva estabelecer modelos isogênicos de células-tronco humanas pluripotentes induzidas (hiPSC) com uma variante de *LoF* em *POGZ* e avaliar as taxas de eficiência de edição gênica da introdução dessa variante. A metodologia de engenharia genômica de *prime editing*, com base em CRISPR/Cas9, foi utilizada para a introdução, em hiPSC, de uma variante de *nonsense* específica de pacientes com WHSUS. A eficiência de edição genética foi avaliada comparando diferentes modalidades de transfecção para o *delivery* da maquinaria de *prime editing*. **Resultados:** A taxa de eficiência de edição foi de 33,34% e a cotransfecção do plasmídeo de *prime editing* com o transcrito de GFP mostrou melhores indicadores metodológicos. **Conclusão:** Os resultados mostram que a cotransfecção do plasmídeo de *prime editing* com o transcrito de GFP apresentou alta taxa de edição genética e baixa morte celular, se mostrando adequada para a padronização de *prime editing* em células-tronco humanas.

REFERÊNCIAS

- 1 Deng L, Mojica-Perez SP, Azaria RD, Schultz M, Parent JM, Niu W. Loss of POGZ alters neural differentiation of human embryonic stem cells. *Molecular and Cellular Neuroscience* 2022; **120**. doi:10.1016/j.mcn.2022.103727.
- 2 Markenscoff-Papadimitriou E, Binyameen F, Whalen S, Price J, Lim K, Ypsilanti AR *et al.* Autism risk gene POGZ promotes chromatin accessibility and expression of clustered synaptic genes. *Cell Rep* 2021; **37**. doi:10.1016/j.celrep.2021.110089.
- 3 Sun X, Cheng L, Sun Y. Autism-associated protein POGZ controls ESCs and ESC neural induction by association with esBAF. *Mol Autism* 2022; **13**. doi:10.1186/s13229-022-00502-9.
- 4 Matsumura K, Seiriki K, Okada S, Nagase M, Ayabe S, Yamada I *et al.* Pathogenic POGZ mutation causes impaired cortical development and reversible autism-like phenotypes. *Nat Commun* 2020; **11**. doi:10.1038/s41467-020-14697-z.
- 5 Wang T, Guo H, Xiong B, Stessman HAF, Wu H, Coe BP *et al.* De novo genic mutations among a Chinese autism spectrum disorder cohort. *Nat Commun* 2016; **7**. doi:10.1038/ncomms13316.
- 6 Moyses-Oliveira M, Yadav R, Erdin S, Talkowski ME. New gene discoveries highlight functional convergence in autism and related neurodevelopmental disorders. 2020www.sciencedirect.com.
- 7 Potapova NA. Nonsense Mutations in Eukaryotes. *Biochemistry (Moscow)*. 2022; **87**: 400–412.
- 8 Anzalone A V., Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM *et al.* Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature* 2019; **576**: 149–157.
- 9 Doench JG, Fusi N, Sullender M, Hegde M, Vaimberg EW, Donovan KF *et al.* Optimized sgRNA design to maximize activity and minimize off-target effects of CRISPR-Cas9. *Nat Biotechnol* 2016; **34**: 184–191.