



GERAÇÃO E VALIDAÇÃO DE UM ANIMAL ZEBRAFISH NLRP3:GFP E PROCESSOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE OVOS FECUNDADOS

ANDRESSA KNAPIK DA FONTOURA

Introdução: O Inflamassoma é uma das primeiras linhas de defesa do organismo e está presente em patologias inflamatórias e fibróticas. O Inflamassoma NLRP3 possui uma grande importância e pode ser ativado pela proteína fator de crescimento transformador beta (TGF- β), a qual está diretamente relacionada com o desencadeamento da fibrose e com a via inflamatória. Contudo, não se sabe ainda seu modo de ligação com a proteína NLRP3. **Objetivos:** Geração de um animal zebrafish (*Danio rerio*) geneticamente modificado com expressão de GFP (Green Fluorescent Protein) fusionado com a proteína NLRP3. Avaliação da influência do TGF- β com o Inflamassoma NLRP3 através do uso controlado de nigericina e pirfenidona, as quais inibem o transporte iônico e a atividade da mitocôndria e inibem a fibrose, respectivamente. Desenvolvimento de metodologias de criopreservação de ovos fecundados de zebrafish. **Metodologia:** O presente projeto está submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná. A geração do animal NLRP3:GFP será feita por clonagem de DNA utilizando enzimas de restrição e DNA ligase. Para tal, será utilizado um plasmídeo doado pelo grupo do Professor Eicke Latz da University of Bonn. A interação entre TGF- β e Inflamassoma NLRP3 será validada por microscopia de confocal. As metodologias de criopreservação serão desenvolvidas com testes de crioprotetores e de taxas de congelamento, utilizando métodos semelhantes ao modo de funcionamento do container de congelamento Mr. Frosty. **Relatos de casos/Experiência:** O desenvolvimento de um plasmídeo contendo a proteína NLRP3 fusionada a proteína GFP foi plausível com a utilização de enzimas de restrição e DNA ligase. Para a criopreservação, foi observado que etilenoglicol, DMSO e metanol são os crioprotetores mais eficientes em manter a integridade das membranas internas e externas, mas novos experimentos são fundamentais. **Conclusão:** Devido à grande importância do Inflamassoma NLRP3 no contexto de doenças inflamatórias e fibróticas, seu estudo é necessário. Com a geração do plasmídeo NLRP3:GFP, será possível a validação da sua interação com a proteína TGF- β através da proteína fluorescente GFP. Ademais, novos experimentos serão realizados para proporcionar a criopreservação efetiva de embriões de zebrafish.

Palavras-chave: **MODIFICAÇÃO GENÉTICA; FIBROSE; INFLAMASSOMA NLRP3; TGF-B; CRIOPRESERVAÇÃO**