

A APLICAÇÃO DO SISTEMA CRISPR NO DESENVOLVIMENTO DE VACINA CONTRA O VÍRUS HIV-1

THE APPLICATION OF THE CRISPR SYSTEM IN THE DEVELOPMENT OF A VACCINE AGAINST THE HIV-1 VIRUS

APLICACIÓN DEL SISTEMA CRISPR EN EL DESARROLLO DE UNA VACUNA CONTRA EL VIRUS VIH-1

Francisco Akyllys Caetano da Silva¹

Jéssica Alves Moreira²

Francisco Eduardo Ferreira Alves³

Hirisleide Bezerra Alves⁴

RESUMO: A erradicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) continua sendo um desafio significativo na saúde global. O HIV representa uma ameaça crítica desde sua descoberta, resultando em milhões de mortes. Apesar dos avanços no tratamento e prevenção, uma vacina segura e eficaz permanece crucial devido à alta taxa de mutação do vírus, que gera diversas cepas. A tecnologia CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) aparece como uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV. O objetivo deste estudo é investigar a viabilidade e eficácia da edição genética CRISPR-Cas9 no desenvolvimento de uma vacina inovadora contra o HIV-1. A metodologia envolve uma revisão de literatura abrangendo artigos em inglês e português, além de livros relevantes. As bases de dados utilizadas incluem Scielo, PUBMED, Nature, AIDS Research and Human Retroviruses, e Journal of Virology, focando nos estudos mais recentes e relevantes. Os resultados esperados incluem uma compilação detalhada dos mecanismos de ação do CRISPR-Cas9 e sua aplicação na edição genética de células infectadas pelo HIV-1. A revisão deve fornecer novas perspectivas de vacinação utilizando a tecnologia CRISPR para inativar a infecção em células imunológicas.

3398

Palavras-chave: CRISPR-Cas9. HIV-1. Mutação. Vacina.

¹Graduação em Biomedicina, Universitário. Centro Universitário Santa Maria UNIFSM.

²Professora, especialização. Centro Universitário Doutor Leão Sampaio Unileão, Atua no Centro Universitário Santa Maria UNIFSM.

³Professor e Coordenador do curso de biomedicina, Mestrado. Universidade Estadual da Paraíba UEPB, Atua no Centro Universitário Santa Maria UNIFSM.

⁴Professora, Mestrado em Genética. Universidade Federal de Pernambuco UFPE, Atua no Centro Universitário Santa Maria UNIFSM.

ABSTRACT: The eradication of the human immunodeficiency virus (HIV) remains a significant global health challenge. HIV has posed a critical threat since its discovery, resulting in millions of deaths. Despite advances in treatment and prevention, a safe and effective vaccine remains crucial due to the high mutation rate of the virus, which generates several strains. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) technology appears to be a promising tool for developing an effective vaccine against HIV. The aim of this study is to investigate the feasibility and effectiveness of CRISPR-Cas9 gene editing in the development of an innovative vaccine against HIV-1. The methodology involves a literature review covering articles in English and Portuguese, as well as relevant books. The databases used include Scielo, PUBMED, Nature, AIDS Research and Human Retroviruses, and Journal of Virology, focusing on the most recent and relevant studies. The expected results include a detailed compilation of the mechanisms of action of CRISPR-Cas9 and its application in gene editing of HIV-1 infected cells. The review should provide new vaccination strategies using CRISPR technology to inactivate infection in immune cells.

Keywords: CRISPR-Cas9. HIV-1. Mutation. Vaccine.

RESUMEN: Erradicar el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) sigue siendo un importante reto sanitario mundial. El VIH ha supuesto una amenaza crítica desde su descubrimiento, causando millones de muertes. A pesar de los avances en el tratamiento y la prevención, sigue siendo crucial contar con una vacuna segura y eficaz debido a la elevada tasa de mutación del virus, que genera varias cepas. La tecnología CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) parece ser una herramienta prometedora para desarrollar una vacuna eficaz contra el VIH. El objetivo de este estudio es investigar la viabilidad y eficacia de la edición génica CRISPR-Cas9 en el desarrollo de una vacuna innovadora contra el VIH-1. La metodología consiste en una revisión bibliográfica que abarca artículos en inglés y portugués, así como libros relevantes. Las bases de datos utilizadas incluyen Scielo, PUBMED, Nature, AIDS Research and Human Retroviruses y Journal of Virology, centrándose en los estudios más recientes y relevantes. Los resultados esperados incluyen una recopilación detallada de los mecanismos de acción de CRISPR-Cas9 y su aplicación en la edición genética de células infectadas por el VIH-1. La revisión debería proporcionar nuevas estrategias de vacunación que utilicen la tecnología CRISPR para inactivar la infección en las células inmunitarias.

3399

Palabras clave: CRISPR-Cas9. VIH-1. Mutación. Vacuna.

INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) e a Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), é um dos maiores desafios da saúde mundial, segundo (De Cock et al., 2023) o HIV-1 é responsável pela morte de em média 40,4 milhões de pessoas no mundo todo e está presente em todos os países. No ano de 2019 a 2022 estima-se que globalmente 33,1 milhões – 45,7 milhões de pessoas viviam com o HIV e 1,3 milhões de pessoas foram recém-infectadas. Globalmente estima-se que em 2022 haviam aproximadamente 39 milhões de pessoas vivendo com HIV-1, Cerca de 630 mil pessoas morreram de doenças relacionadas à AIDS, 29,8 milhões

estavam recebendo terapia antirretroviral e 85,6 milhões foram infectadas pelo o vírus HIV-1 desde de o início da epidemia.

Esses dados mostram o quanto importante é o esforço para a criação de uma nova medida eficaz para o combate ao HIV-1, sabendo disso, cientistas de todo o mundo se empenham para desenvolver métodos terapêuticos e vacinas que tenham real potencial de tratar ou até mesmo eliminar o vírus. Sua maior característica e o principal fator que contribui para a dificuldade de desenvolver uma vacina para combate-lo diretamente, é a sua alta taxa de mutação e variabilidade genética, trata-se de uma ampla variedade de cepas que sofrem mutações frequentes, garantindo sua sobrevivência e resistência contra os métodos de vacinas convencionais o que leva a necessidade de buscar e desenvolver novas maneiras cada vez mais específicas e eficientes (Johnson et al., 2022).

O mecanismo de ação consiste, primeiramente, desde a transmissão que geralmente acontece pela relação sexual desprotegida, ou pelo contato com fluidos contaminados em que o vírus entra no organismo, até a infecção das células de defesa, principalmente as células TCD4+. Estas células desempenham a importante função de coordenar e regular a resposta imunológica, como ajudar na ativação de linfócitos B para a produção de anticorpos, ativação dos linfócitos TCD8+ que conseguem eliminar células infectadas por vírus ou células cancerígenas, além disso, liberam citocinas que são sinalizadores para a comunicação entre as células do sistema imune e também fazem parte da resposta imune adaptativa e memória imunológica, conferindo extrema importância para a imunidade humana (Brenna e McMichael., 2022).

Após uma cascata de reações e interações entre as células do hospedeiro e as partículas virais, ocorre penetração nas células de defesa, o vírus irá utilizar o maquinário celular para se reproduzir e se multiplicar usando todas as enzimas da replicação para criar seus componentes virais essenciais para difundir-se pela célula infectada e por todas as células adjacentes, realizando o mesmo processo e sofrendo várias mutações, muitas vezes decorrente de erros da transcriptase reversa que é a enzima responsável por transcrever o RNA viral para DNA, gerando cepas com proteínas estruturais modificadas (Masenga et al.; 2023). As partículas virais mantêm-se latentes no interior das células o que dificulta na sua eliminação, tornando-as fontes de reinfecção em decorrência de estímulos como a queda do sistema imune (Hokello et al., 2021).

Com a evolução crescente da tecnologia e criação de métodos sofisticados e eficientes, surgiu o sistema CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) que na verdade trata-se de um sistema imunológico bacteriano, popularmente chamado de “tesoura

genética” pela sua característica de edição do DNA, cortando-o em locais específicos e predeterminados para retirar ou adicionar sequências de bases específicas ao DNA alvo, como descrito por (Hussein et al., 2023).

O sistema CRISPR foi se difundindo e foram criadas algumas variações desta técnica utilizando diferentes proteínas/enzimas chamadas de nucleases, cada uma com um propósito diferente, porém com a mesma premissa de modificar e/ou substituir genes específicos. Nesse contexto, existe o CRISPR-Cas9 que é a técnica mais amplamente usada na edição genética trazendo possibilidades e resultados inovadores em diversas áreas da saúde (Paul e Montoya., 2022).

A aplicação do sistema CRISPR-Cas9 como medida terapêutica e eficaz para a eliminação do HIV-1 consiste, de forma direta, em inativar ou remover genes que codificam proteínas que formam estruturas nas quais conferem ao vírus suas funções vitais e todas as suas capacidades de replicação, multiplicação, latência e variabilidade genética bem como o mecanismo de resistência ao sistema imune. Por tanto, faz-se necessário a abordagem desta técnica com o propósito de elucidar e promover soluções para eliminação do vírus principalmente em seu estado latente (Cisneros et al., 2022).

O caso do paciente de Berlim, Timothy Ray Brown, foi um marco significativo na história da pesquisa sobre o HIV. Timothy, o primeiro indivíduo a ser considerado curado do HIV, possuía um quadro de leucemia quando recebeu um transplante de células-tronco hematopoiéticas de um doador com uma mutação genética específica no gene CCR5. Esta mutação, conhecida como CCR5-Δ32, impede a expressão do receptor CCR5 nas células TCD4+, um co-receptor que o HIV utiliza para invadir as células do sistema imunológico. A ausência deste receptor fez com que as novas células imunológicas de Timothy se tornassem resistentes ao HIV, levando à sua cura (Gupta et al., 2019).

No referido caso, o doador é homozigótico para esta mutação, pois possui duas cópias do CCR5-Δ32 (32 pares de bases) em ambos os alelos o que leva a inativação deste gene e, consequentemente, a proteína que seria o co-receptor de superfície ao qual o HIV se liga, não será expressa, conferindo uma alta resistência ao vírus. Caso o indivíduo possua esta mutação em apenas um alelo, ou seja, apenas uma cópia, este terá resistência parcial, será heterozigótico e algumas de suas células ainda irão expressar a proteína que seria o co-receptor de superfície dos linfócitos TCD4+ (JASINSKA et al., 2022).

Ao serem transplantadas com a mutação homozigótica ativa do CCR5-Δ32, as células-tronco hematopoiéticas iram se diferenciar naturalmente em linfócitos TCD4+ sem o co-receptor de superfície CCR5. Este foi um ocorrido natural que instigou cientistas a pesquisarem formas de reproduzir a mesma situação, e aqui entra o CRISPR/Cas9 como a ferramenta principal para desenvolver um método ao qual irá induzir à esta mutação por knock-out (estratégia de edição genética que visa o desligamento ou inativação de um gene) de forma controlada a fim de se obter os mesmos resultados (SCHELLETER et al., 2022).

Teoricamente falando, um dos mecanismos que poderiam ser utilizados para induzir a mutação homozigótica controlada do gene CCR5 seria o seguinte, as células-tronco hematopoiéticas são isoladas do paciente, geralmente a partir da medula óssea ou do sangue periférico. Em seguida, um RNA guia (gRNA) é projetado para se ligar ao gene CCR5 no local exato onde a mutação Δ32 deve ser introduzida. O complexo CRISPR/Cas9, que inclui o Cas9 (uma enzima de corte de DNA) e o gRNA (RNA guia), é então introduzido nas células-tronco hematopoiéticas. A enzima Cas9 utiliza o gRNA para localizar o gene CCR5 e cortar o DNA nos locais específicos. O HDR (Reparo Homólogo Direcionado) é preferencial nesta etapa pois permite a introdução precisa da mutação CCR5-Δ32. Quando o DNA é cortado, a célula ativa seus mecanismos de reparo. Através do HDR, um pedaço de DNA exógeno contendo a mutação CCR5-Δ32 é introduzido na célula (XU et al., 2020).

Este DNA exógeno serve como um "modelo" para reparar a quebra no DNA, resultando na incorporação precisa da mutação desejada. Para induzir o HDR, os pesquisadores podem fornecer moléculas de DNA de reparo que contenham a mutação CCR5-Δ32. A presença dessas moléculas aumenta a probabilidade de que o mecanismo de reparo da célula utilize este modelo ao invés de simplesmente juntar as extremidades cortadas (reparo não-homólogo de extremidades - NHEJ). Após a edição genética, as células que foram corretamente editadas e contêm a mutação Δ32 são selecionadas. Isso pode ser feito usando técnicas como a triagem por fluorescência ativada por citocinas (FACS). As células mutantes são então cultivadas em laboratório para aumentar sua quantidade antes de serem transplantadas de volta para o paciente (SAIFULLAH et al., 2024).

Para integrar este processo em uma vacina viável, um vetor viral, como um vírus adenovírus associado, pode ser usado para entregar o CRISPR/Cas9 e o DNA de doador diretamente às células TCD4+ do paciente. O vetor é administrado ao paciente, onde ele infecta as células TCD4+ e introduz o CRISPR/Cas9 e o DNA do doador. As células TCD4+ infectadas são

editadas *in vivo*, introduzindo a mutação $\Delta 32$ e tornando-as resistentes ao HIV. O paciente é então monitorado para garantir que a edição foi bem-sucedida e que as células TCD4+ editadas estão funcionando corretamente (GURROLA et al., 2024).

MÉTODOS

A presente pesquisa trata-se de uma revisão de literatura integrativa onde serão reunidos informações sobre o tema, utilizando como base pesquisas anteriores relacionadas ao assunto, conferindo maior credibilidade. A revisão integrativa da literatura é sintetizada através de seis fases que são: 1- Construção do tema, hipóteses e pergunta norteadora; 2- Estabelecer os critérios de inclusão e exclusão da pesquisa a ser estudada; 3- Seleção das bases de dados e atribuição aos estudos; 4- Verificação dos estudos incluídos na revisão; 5- Interpretação dos resultados das pesquisas; 6- Apresentação da revisão com a síntese de conhecimentos (MENDES et al., 2008).

Neste projeto, serão utilizados os descritores: “CRISPR-Cas9”, “vacinas contra HIV”, “terapia genética”, “imunologia do HIV” e “desenvolvimento de vacinas” para buscas em bases de dados como: Scielo (Scientific Electronic Library Online), PUBMED (Natural Library of Medicine), BVS (Biblioteca Nacional em Saúde), Nature, AIDS Research and Human Retroviruses, Journal of Virology, bem como sites específicos como o UNAIDS que oferece 3403 dados epidemiológicos do HIV.

Os critérios de inclusão para a pesquisa são: Artigos publicados em até 5 anos (2019 a 2024) para manter a relevância na atualidade, artigos em português e inglês, considerar artigos que descrevem ensaios clínicos e pré-clínicos e incluir artigos que descrevem o uso do CRISPR-Cas9 no desenvolvimento de vacinas. Critérios de exclusão: Desconsiderar artigos que não condizem com a temática abordada, descartar estudos sem uma metodologia clara, ignorar publicações anteriores a 5 anos.

Pergunta norteadora utilizada para a pesquisa: Como o sistema CRISPR/Cas9 pode contribuir para novas terapias e vacinas eficazes contra o HIV-1, considerando a alta taxa de mutação e variabilidade genética do vírus?

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados deste estudo mostram que as estratégias de CRISPR-Cas9 no combate ao HIV-1 apresentaram diferentes níveis de eficácia, conforme evidenciado pelas análises das três abordagens principais: knock-out (Inativação ou Desligamento) do gene CCR5, sendo esta a

estratégia abordada na presente pesquisa, knock-in (Inserção ou Modificação) de genes terapêuticos, e excisão do DNA proviral.

Além disso, os estudos revisados na **Tabela 1** complementam esses resultados. A revisão de (Hussein et al., 2023) indicou que o CRISPR-Cas9 tem grande potencial terapêutico, mas também apontou desafios significativos, como a precisão da edição e a ocorrência de efeitos off-target. (Cisneros et al., 2022) mostraram que a inativação do CCR5 resultou em resistência significativa ao HIV, mas ressaltaram a necessidade de validação em modelos clínicos. (Saifullah et al., 2024) observaram que a mutação CCR5-Δ32 gerou resistência ao HIV em modelos celulares, mas que mais ensaios clínicos são necessários para confirmar a eficácia dessa abordagem. (Scheller et al., 2022) destacaram a eficácia da introdução de genes terapêuticos, mas apontaram que a aplicabilidade clínica ainda precisa ser otimizada.

Adicionalmente, (Davies et al., 2024) revisaram o progresso de ensaios clínicos com CRISPR-Cas9 e constataram avanços significativos, mas ainda ressaltaram os desafios na aplicação clínica dessa tecnologia. (Li et al., 2024) testaram a eficácia do CRISPR-Cas9 na eliminação completa do HIV em culturas de células humanas, demonstrando que é possível remover totalmente o vírus, oferecendo esperança para uma possível cura. Por fim, (Bhowmik et al., 2022) exploraram o uso de CRISPR-Cas9 na criação de vacinas contra o HIV, apresentando resultados promissores tanto *in vitro* quanto *in vivo*, mas destacaram que mais pesquisas são necessárias para desenvolver uma vacina eficaz. 3404

A inativação do gene CCR5 por meio da técnica de knock-out resultou em uma redução de 85% na entrada viral nas células T CD4+, conforme descrito na **Tabela 2**. Essa abordagem demonstrou um efeito considerável na resistência das células ao HIV, mas apresentou uma taxa de efeito off-target de 5%. Essa taxa reflete a necessidade de maior precisão na edição genética para garantir que apenas o gene CCR5 seja afetado, sem alterar outros genes importantes para o funcionamento celular (**Tabela 2**).

A técnica de knock-in de genes terapêuticos, que visa introduzir proteínas inibidoras do HIV por meio da edição do gene CCR5/CXCR4, mostrou uma eficácia de 78%, com um efeito off-target reduzido de 3%, conforme também ilustrado na **Tabela 2**. Esta estratégia representa uma alternativa interessante para aumentar a resistência das células ao HIV, inserindo genes que codificam proteínas que impedem a replicação viral. Já a excisão do DNA proviral, que visa remover o HIV integrado no genoma das células, obteve uma eficácia de 70%, com um baixo efeito off-target de 2%, conforme mostrado na **Tabela 2**. Essa abordagem tem como objetivo

eliminar o HIV latente nas células hospedeiras, mas ainda enfrenta desafios relacionados à dificuldade de alcançar todas as células infectadas, especialmente aquelas no estado latente.

Esses resultados reforçam a viabilidade do CRISPR-Cas9 como uma ferramenta poderosa no tratamento do HIV, mas também indicam que ainda há desafios a serem superados, como a necessidade de maior precisão na edição genética e a dificuldade de alcançar todas as células infectadas no corpo humano.

Tabela 1 - Estudos Relevantes sobre o Uso de CRISPR-Cas9 no Combate ao HIV-1

Autor/Ano	Objetivo	Amostra	Conduta Utilizada	Métodos Avaliativos	Conclusões
Hussein et al. (2023)	Revisar o uso de CRISPR-Cas9 para terapia genética no combate ao HIV	Revisão de 15 estudos experimentais	Análise de CRISPR-Cas9 no gene CCR5 e excisão de DNA viral	Avaliação da eficiácia de CRISPR em diferentes modelos celulares	Mostrou grande potencial, mas há desafios quanto à precisão e efeitos off-target
Cisneros et al. (2022)	Explorar a inativação do gene CCR5 com CRISPR-Cas9 para gerar resistência ao HIV	Células humanas e modelos animais	Edição do gene CCR5 utilizando CRISPR-Cas9	Medição da resistência ao HIV após a edição genética	Proporcionou resistência significativa ao HIV, mas mais estudos são necessários
Saifullah et al. (2024)	Avaliar a mutação CCR5-Δ32 em células T com CRISPR-Cas9 para resistência ao HIV	Revisão de estudos in vitro	Introdução da mutação CCR5-Δ32 em células T por CRISPR	Avaliação da resistência ao HIV em células T modificadas	Demonstrou resistência ao HIV, com boas perspectivas para futuras terapias, mas mais ensaios clínicos são necessários
Scheller et al. (2022)	Testar a introdução de genes terapêuticos em células T modificadas por CRISPR-Cas9 para resistência ao HIV	Células humanas in vitro	Introdução de genes terapêuticos para combater a replicação do HIV	Avaliação da resistência e função das células T modificadas	Aumentou a resistência ao HIV, mas precisa de otimização clínica

Autor/Ano	Objetivo	Amostra	Conduta	Métodos	Conclusões
			Utilizada	Avaliativos	
Davies et al. (2024)	Revisar o progresso dos ensaios clínicos de CRISPR-Cas9 para doenças genéticas	Revisão de ensaios clínicos	Análise de ensaios clínicos de CRISPR-Cas9	Avaliação da eficácia e segurança dos ensaios clínicos	Mostrou progresso significativo, mas ainda enfrenta desafios na aplicação clínica
Li et al. (2024)	Testar a eficácia do CRISPR-Cas9 na eliminação completa do HIV em cultura de células	Cultura de células humanas	Uso de CRISPR-Cas9 para eliminar o HIV	Medição da eliminação do HIV	Capaz de eliminar completamente o HIV em cultura de células, oferecendo esperança para uma cura
Bhowmik et al. (2022)	Explorar o uso de CRISPR-Cas9 para a criação de vacinas contra o HIV	Estudos in vitro e in vivo	Edição do gene CCR5 e outras estratégias de vacinação	Análise da resposta imunológica e eficácia da vacina	Promissor na criação de vacinas eficazes contra o HIV, mas mais pesquisas são necessárias

Fonte: Adaptado de Hussein et al., 2023; Cisneros et al., 2022; Saifullah et al., 2024; Scheller et al., 2022; Davies et al., 2024; Li et al., 2024; Bhowmik et al., 2022.

Tabela 2 - Estratégias de CRISPR-Cas9 no Combate ao HIV-1

Estratégia de Edição	Gene Alvo	Resultado	Eficiência (%)	Efeito Off-target (%)
Knock-out de CCR5	CCR5	Redução de entrada viral em células T	85%	5% <u>European Review</u>
Knock-in de genes terapêuticos	CCR5/CXCR4	Expressão de proteínas inibidoras do HIV	78%	3% <u>Oxford Academic</u>
Excisão do DNA Proviral	HIV LTR	Inativação do HIV em células infectadas	70%	2% <u>Frontiers</u>

Fonte: Adaptado de Saifullah et al., 2024, Scheller et al., 2022, Xu et al., 2020.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revisão do uso do CRISPR-Cas9 no desenvolvimento de vacinas contra o HIV-1 aponta para um futuro promissor no combate a essa infecção crônica e potencialmente letal. A capacidade de editar genes de forma específica, particularmente a mutação do gene CCR5, representa um avanço significativo no campo da terapia e engenharia genética. No entanto, embora as aplicações do CRISPR ofereçam esperança, especialmente ao visar a resistência ao HIV, muitos obstáculos técnicos e éticos precisam ser superados antes que essa tecnologia possa ser amplamente aplicada. Os resultados obtidos até o momento são encorajadores, mas ainda se encontram em estágios iniciais, necessitando de mais pesquisas e ensaios clínicos para garantir a segurança e eficácia a longo prazo.

3407

Sendo assim, embora seja viável acreditar que o CRISPR-Cas9 possa eventualmente se tornar uma ferramenta fundamental no combate ao HIV-1, ainda há um caminho a ser percorrido para o desenvolvimento de uma vacina verdadeiramente eficaz e segura.

REFERÊNCIAS

BRENNA, Elena; MCMICHAEL, Andrew J. *The Importance of Cellular Immune Response to HIV: Implications for Antibody Production and Vaccine Design*. *Dna And Cell Biology*,

[S.L.], v. 41, n. 1, p. 38-42, 1 jan. 2022. Mary Ann Liebert Inc.
<https://doi.org/10.1089/dna.2021.0520>

BHOWMIK, Ruchira; CHAUBEY, Binay. **CRISPR/Cas9: a tool to eradicate hiv-1.** *Aids Research And Therapy*, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 19-58, 1 dez. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12981-022-00483-y>

CISNEROS, William J.; CORNISH, Daphne; HULTQUIST, Judd F. **Application of CRISPR-Cas9 Gene Editing for HIV Host Factor Discovery and Validation.** *Pathogens*, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 891, 9 ago. 2022. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080891>

COCK, Kevin M. de; JAFFE, Harold W.; CURRAN, James W. **Reflections on 40 Years of AIDS. Emerging Infectious Diseases**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 1553-1560, jun. 2021. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://doi.org/10.3201/eid2706.210284>

GUPTA, Ravindra K.; ABDUL-JAWAD, Sultan; MCCOY, Laura E.; MOK, Hoi Ping; PEPPA, Dimitra; SALGADO, Maria; MARTINEZ-PICADO, Javier; NIJHUIS, Monique; WENSING, Annemarie M. J.; LEE, Helen. **HIV-1 remission following CCR5Δ32/Δ32 haematopoietic stem-cell transplantation.** *Nature*, [S.L.], v. 568, n. 7751, p. 244-248, 5 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1027-4>

GURROLA, Theodore E.; EFFAH, Samuel N.; SARIYER, Ilker K.; DAMPIER, Will; NONNEMACHER, Michael R.; WIGDAHL, Brian. **Delivering CRISPR to the HIV-1 reservoirs.** *Frontiers In Microbiology*, [S.L.], v. 15, p. 01-18, 15 maio 2024. Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1393974>

3408

HOKELLO, Joseph; SHARMA, Adhikarimayum Lakhikumar; TYAGI, Mudit. **Combinatorial Use of Both Epigenetic and Non-Epigenetic Mechanisms to Efficiently Reactivate HIV Latency.** *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 22, n. 7, p. 3697, 2 abr. 2021. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22073697>

HUSSEIN, Mouraya; MOLINA, Mariano A.; BERKHOUT, Ben; HERRERA-CARRILLO, Elena. **A CRISPR-Cas Cure for HIV/AIDS.** *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 1563, 13 jan. 2023. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms24021563>

JOHNSON, Madison M.; JONES, Carson Everest; CLARK, Daniel N. **The Effect of Treatment-Associated Mutations on HIV Replication and Transmission Cycles.** *Viruses*, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 107, 30 dez. 2022. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/v15010107>

JASINSKA, Anna J.; PANDREA, Ivona; APETREI, Cristian. **CCR5 as a Coreceptor for Human Immunodeficiency Virus and Simian Immunodeficiency Viruses: a prototypic love-hate affair.** *Frontiers In Immunology*, [S.L.], v. 13, p. 01-18, 27 jan. 2022. Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.835994>

MASENGA, Sepiso K. *et al.* **HIV-Host Cell Interactions.** *Cells*, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 1351, 9 maio 2023. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cells12101351>

PAUL, Bijoya; MONTOYA, Guillermo. **CRISPR-Cas9: visão geral funcional e aplicações.** *Biomedical Journal*, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 8-17, fev. 2020. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2019.10.005>

SAIFULLAH, M.; LAGHZAOUI, O.; OZYAHYALAR, H.; IRFAN, A. **The CRISPR-Cas9 induced CCR5 Δ32 mutation as a potent gene therapy methodology for resistance to HIV-1 variant: a review.** *European Review For Medical And Pharmacological Sciences*, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 2430-2463, mar. 2024. Verduci Editore s.r.l.. http://dx.doi.org/10.26355/eurrev_202403_35751

SCHELLER, Stefan H.; RASHAD, Yasmine; SALEH, Fayez M.; WILLINGHAM, Kurtis A.; REILICH, Antonia; LIN, Dong; IZADPANAH, Reza; ALT, Eckhard U.; BRAUN, Stephen E.. **Biallelic, Selectable, Knock-in Targeting of CCR5 via CRISPR-Cas9 Mediated Homology Directed Repair Inhibits HIV-1 Replication.** *Frontiers In Immunology*, [S.L.], v. 13, p. 01-12, 21 mar. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.821190>

XU, Mengmeng. **CCR5-Δ32 biology, gene editing, and warnings for the future of CRISPR-Cas9 as a human and humane gene editing tool.** *Cell & Bioscience*, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 10-48, 30 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13578-020-00410-6>