

ASSIGNATURA:	GENOMA HUMÀ I TERÀPIA GÈNICA
MATÈRIA:	BIOTECNOLOGIA
DEPARTAMENT:	CIÈNCIES FISIOLÒGIQUES I
UNITAT:	FISIOLOGIA HUMANA
CRÈDITS TOTALS:	6
COORDINACIÓ:	DR. R. OLIVA I VIRGILI
PROFESSORAT:	DRS. R. OLIVA I VIRGILI I M. INGELMO TORRES

OBJECTIUS GENERALS

- Donar a conèixer l'estratègia seguida en l'anàlisi del genoma humà, i els resultats derivats del projecte Genoma. La informació derivada del projecte Genoma tindrà fortes implicacions per a la prevenció, el diagnòstic, pronòstic i tractament de les malalties. Com a conseqüència d'aquest projecte cal preveure una revolució en medicina sense precedents. Aquest camp està avançant amb una rapidesa extraordinària.
- Per tant, es pretén que es coneguin les eines per poder accedir, consultar i assimilar l'estat actual o futur de coneixements sobre qualsevol aspecte sobre el genoma humà que es pugui plantejar al llarg de la carrera o de l'exercici professional.
- S'espera que aquesta assignatura faciliti l'assimilació dels coneixements derivats del projecte Genoma i la importància que aquests tindran en la pràctica mèdica per a aquells futurs metges no específicament especialitzats en genètica i genoma humà.
- Aconseguir que l'estudiant conegui les principals estratègies disponibles en recerca biomèdica relacionades amb la genètica.
- Es de esperar que en haver cursat la optativa l'estudiant estigui familiaritzat amb les últimes metodologies frontera disponibles pel diagnòstic biomèdic.
- Aconseguir que el futur metge conegui les bases de la teràpia gènica així com les últimes estratègies i metodologies seguides.
- S'espera que un cop superada l'assignatura, els estudiants estiguin capacitats per consultar i assimilar l'estat actual de coneixements sobre qualsevol aspecte o dubte sobre la teràpia gènica que se'ls pugui plantejar al llarg de la carrera o exercici professional futur.

OBJECTIUS ESPECÍFICS

A l'acabar el curs l'estudiant haurà de ser capaç de:

- Diferenciar els diferents nivells als quals pot ser considerat el genoma humà.
- Descriure l'estructura de la seqüència de DNA: elements repetitius, gens.
- Donada la seqüència d'un gen, ser capaç d'identificar elements reguladors, l'inici de la proteïna i alguns dels seus introns i exons.
- Descriure el gen humà típic.
- Discutir les limitacions de la generalització basada en el concepte de gen humà típic.
- Explicar a grans trets l'evolució del genoma humà i d'alguns grups de gens.
- Explicar a nivell teòric les bases metodològiques d'anàlisi del genoma humà.
- Explicar que és el Projecte Genoma.
- Discriminar la diferència entre mapa genètic i mapa físic.

- Explicar la necessitat de la construcció de genoteques de diferents tipus i la seva utilitat.
- Explicar l'estratègia de seqüenciació del DNA pel mètode de Sanger.
- Llegir la seqüència de DNA a partir d'un gel de seqüenciació.
- Establir connexió via internet amb les principals bases de dades del genoma humà.
- Donada una seqüència de DNA incògnita, identificar el gen a la que correspon.
- Buscar informació sobre diverses patologies hereditàries via Internet.
- Explicar els diferents nivells d'alteració del genoma humà que poden donar lloc a patologia.
- Diferenciar entre transferència de gens i teràpia gènica.
- Explicar els avantatges, inconvenients i aplicacions de les teràpies *in vivo* i *ex vivo*, respectivament.
- Explicar els avantatges, inconvenients i aplicacions dels diferents vectors utilitzats en teràpia gènica i de les diferents vies d'administració.
- Donat un article de recerca original sobre teràpia gènica, fer un resum del protocol, i entendre i explicar les principals conclusions aconseguides.
- Explicar el mecanisme patogènic de qualsevol de les malalties explicades en el curs i raonar els detalls dels protocols de teràpia gènica en marxa.
- Diferenciar entre teràpia gènica de malalties hereditàries i de malalties adquirides.
- Seleccionar una malaltia hereditària en base al text de Scriver et al. (1995) i proposar un possible protocol de teràpia gènica, raonant cadascun dels detalls proposats.
- Explicar les diferents opcions de transferència de gens en la generació de models de malalties.
- Explicar les directrius bàsiques bio-ètiques i jurídiques en matèria de diagnòstic genètic, recerca i teràpia.

TEMARI

1. Composició del genoma humà.

Definició. Nombre estimat i distribució dels gens. Seqüències repetitives; distribució i funció. Variació als nivells cromosòmic, cel·lular, de l'organisme i mundial.

2. Estructura dels gens.

Què és un gen? Estructura del gen humà típic. Tamany. Còpies. Elements reguladors.

3. Evolució i polimorfisme del genoma humà.

Origen dels genomes nuclear i mitocondrial. Evolució dels cromosomes i tamany del genoma. Duplicació gènica i divergència. Polimorfisme.

4. Bases metodològiques d'anàlisi del genoma humà.

Enzims de restricció. Recombinants. Electroforesis. Síntesi de oligonucleòtids. Hibridació. PCR. Southern. Northern.

5. El Projecte Genoma.

Inici del projecte Genoma. Objectius i estratègies pròpies del projecte Genoma. Cronologia. Mapes físics. Mapes genètics. Mapes de Contig (genoteques ordenades). Diferències entre els diferents tipus de mapes del genoma. Integració de mapes. Seqüenciació i identificació de gens. Importància dels models i estat de mapeig i seqüenciació de diversos models. Humà, ratolí, *D. melanogaster*, *C. elegans*, *S. cerevisiae*, i altres projectes Genoma. Coordinació internacional. Beneficis esperats del Projecte Genoma

6. Mapes genètics.

Seqüències repetitives i polimorfismes. Contingut informatiu dels polimorfismes. Anàlisi de lligament. Interpretació de LOD scores.

7. Mapes físics.

Tipus de mapes físics i tècniques disponibles per a la seva construcció. Electroforesi de camp polsant. Estratègies per a la construcció de mapes físics. Últims mapes físics disponibles.

8. Genoteques, còntigs i identificació de gens.

Tipus de genoteques; genoteques de cDNA i genoteques genòmiques en YAC, P1, còsmid, fag o plasmidi. Línies cel·lulars híbrides. Disponibilitat actual de genoteques.

9. Seqüenciació del genoma humà.

Mètodes disponibles de seqüenciació del DNA en el projecte Genoma. Estratègies en desenvolupament. Seqüenciació directa del DNA. Tècniques d'identificació de gens.

10. Fonts de documentació, bancs de dades i anàlisi de seqüències.

Bibliografia i estratègies de documentació. Bancs de dades: GenBank, European Molecular Biology Library (EMBL), On Line Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Genome DataBase (GDB), Integrated Genome Database (IGD). Programes d'anàlisi de seqüències disponibles en la xarxa.

11. Expressió i funció dels gens.

Predicció de l'estructura secundària de proteïnes, identificació de dominis funcionals. Expressió dels gens, localització dels productes gènics. Control de l'expressió.

12. Alteracions del genoma humà i recerca.

Exemples recents d'aplicació de les tècniques d'anàlisi del genoma a la recerca de gens i mutacions causants de malalties. Malaltia d'Alzheimer. Síndrome de Down.

13. Teràpia gènica: concepte i generalitats.

Transferència de gens a humans. Transferència natural o espontània i transferència premeditada. Diferències entre transferència amb propòsits mèdics preventius, de recerca, o bé terapèutics (teràpia gènica). Història de la teràpia gènica. Teràpia gènica de malalties heretades i teràpia de malalties adquirides. Bibliografia.

14. Estratègies de teràpia gènica.

Enfocs terapèutics (estratègies antisentit, correcció del defecte, canvis metabòlics, inducció de mort cel·lular). Teràpia ex vivo i teràpia in vivo. Cèl·lules diana. Portes d'entrada en la cèl·lula. Destí intracel·lular del gen transferit. Teràpia gènica amb integració del gen transferit en el genoma i teràpia gènica sense integració del gen transferit.

15. Vectors virals utilitzats en teràpia gènica.

Vector ideal. Adenovirus. Virus adeno-associats. Retrovirus. Herpes-Virus. Estratègies de reconeixement i d'entrada cel·lular en els vectors vírics.

16. Vectors no virals utilitzats en teràpia gènica.

Mètodes de transferència fisicoquímica: microinjecció, canó de gens, electroporació. Complexes plàsmid liposoma. Complexes DNA-proteïna. Cromosomes artificials. Avantatges i desavantatges dels diferents tipus de vectors virals i no virals.

17. Aplicacions terapèutiques de les estratègies antisentit.

Dianes intracel·lulars dels oligos. Modificacions químiques dels oligos que augmenten la seva estabilitat intracel·lular. Estratègies d'introducció dels oligos en la cèl·lula. Exemples de protocols de teràpia gènica fent servir estratègies antisentit.

18. Exemples recents de protocols de teràpia gènica i resultats obtinguts.

Fisio-patologia de la immuno-deficiència combinada severa (SCID) deguda a dèficit de adenosin desaminasa (ADA). Mutacions responsables. Tipus de protocols en marxa. Evaluació i seguiment de la intervenció: detecció del gen transferit, detecció de l'expressió del gen transferit, i detecció de la funció dels gens transferits. Respostes terapèutiques assolides. Teràpia gènica en la hipercolesterolemia familiar. Teràpia gènica del càncer.

19. La transferència gènica com a mètode d'estudi i de generació de models de malalties.

Generació de ratolins transgènics. Micro-injecció d'oòcits. Caracterització d'animals transgènics. Desenvolupament de models de diabetis i perspectives possibles de teràpia gènica.

20. Ètica i legislació en genoma humà i teràpia gènica.

Requisits que té que complir una malaltia per ser tractada per teràpia gènica. Directrius de la UNESCO. Legislació als Estats Units. Legislació Europea. Legislació Espanyola. Passos a seguir per posar en marxa un protocol de teràpia gènica.

AVALUACIÓ

Procediment i criteris de qualificació

L'avaluació del progrés aconseguit per l'estudiant es basarà en:

- Un examen final de l'assignatura que contribuirà en un 70% a la nota final. Aquest exam inclourà un test d'elecció múltiple (50%) i dos temes a desenvolupar (20%).
- El treball pràctic desenvolupat durant el curs que contribuirà en un 30% a la nota final. Aquest treball es valorarà amb l'assistència a la pràctica i el lliurament de la pràctica complimentada (10%) i en el lliurament d'un treball a desenvolupar durant el curs (20%). El treball consisteix en escollir un article científic en anglès publicat en l'últim any, que tracti de qualsevol aspecte relacionat amb la optativa, i comentar-lo en una extensió de 6 a 12 pàgines.

RECURSOS D'APRENTATGE I METODOLOGIA DOCENT

Classes teòriques

Classes d'activitats d'aplicació. En aquestes es discutiran a classe les activitats d'aplicació realitzades en treball individual o bé altres treballs realitzats individualment.

Classes pràctiques. Les pràctiques inclouran diferents anàlisis de seqüències de DNA i la recerca d'informació per mitjà de xarxes internacionals. Al final de la pràctica es donarà als estudiants un disquet amb una sèrie de seqüències problemes i tindran que identificar-les a base de realitzar comparacions a través d' Internet amb banc de dades internacionals per tal de identificar-les.

L'estudiant tindrà que ser capaç de obtenir informació actualitzada (màxim 8 setmanes d'antiguitat) sobre una patologia hereditària concreta i descriure l'estat de coneixements sobre el gen responsable (mapes físics, genètics, seqüències disponibles del gen, funció), les mutacions responsables, els mètodes de diagnòstic molecular, i les possibles estratègies terapèutiques.

Bibliografia

Fonts de consulta que poden trobar-se a les biblioteques:

LEMOINE NR AND COOPER DN (1996) *Gene Therapy*. BIOS, Oxford.

OLIVA, R (1996). *Genoma Humano*. Masson, Barcelona.

SCRIVER, C. R.; BEAUDET, A. L.; SLY, W. S.; VALLE, D. (ed.). *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. Nova York: McGraw Hill, 1996.

STRACHAN T and READ A (1996) *Human Molecular Genetics*. BIOS. Oxford.

THOMPSON and THOMPSON (1996) *Genética Médica*. Masson, Barcelona.

VICTOR, A.; McKUSSICK, Jhons. *Hopkins Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Autosomal Dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes*. Baltimore; Londres: University Press, 1986, 1989. També existeix una versió "on line" (OMIM: On Line Mendelian Inheritance in Man) consultable via internet a la següent adreça: <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM/>

Revistes

Revistes especialitzades de publicació d'articles originals:

Genomics, Nature Genetics, Human Molecular Genetics, Nucleic Acids Research, Cell, American Journal of Human Genetics, American Journal of Medical Genetics, FASEB Journal, Gene, Human Genetics, Human Gene Therapy (es la principal revista sobre teràpia gènica i porta informació sobre tots els protocols de teràpia gènica en marxa).

Revistes multidisciplinàries on apareixen alguns articles importants relacionats amb el projecte genoma: *Nature, Science, Proceedings of the National Academy of Sciences USA*.

Revistes de divulgació i de revisió:

Trends in Genetics, Scientific American, Annual Review of Genetics.

REQUISITS D'APRENTATGE

Els coneixements corresponents a les assignatures de Principis de Bioquímica, Biologia Cel·lular, i Biologia del Desenvolupament, i Genètica Mèdica, amb especial referència al llenguatge i als coneixements sobre l'estructura dels gens i dels processos de transcripció gènica, mitosi i meiosi.

Coneixements d'anglès suficients per llegir i entendre articles científics publicats en anglès en revistes internacionals i per comprendre la informació de les bases de dades internacionals accessibles via Internet.