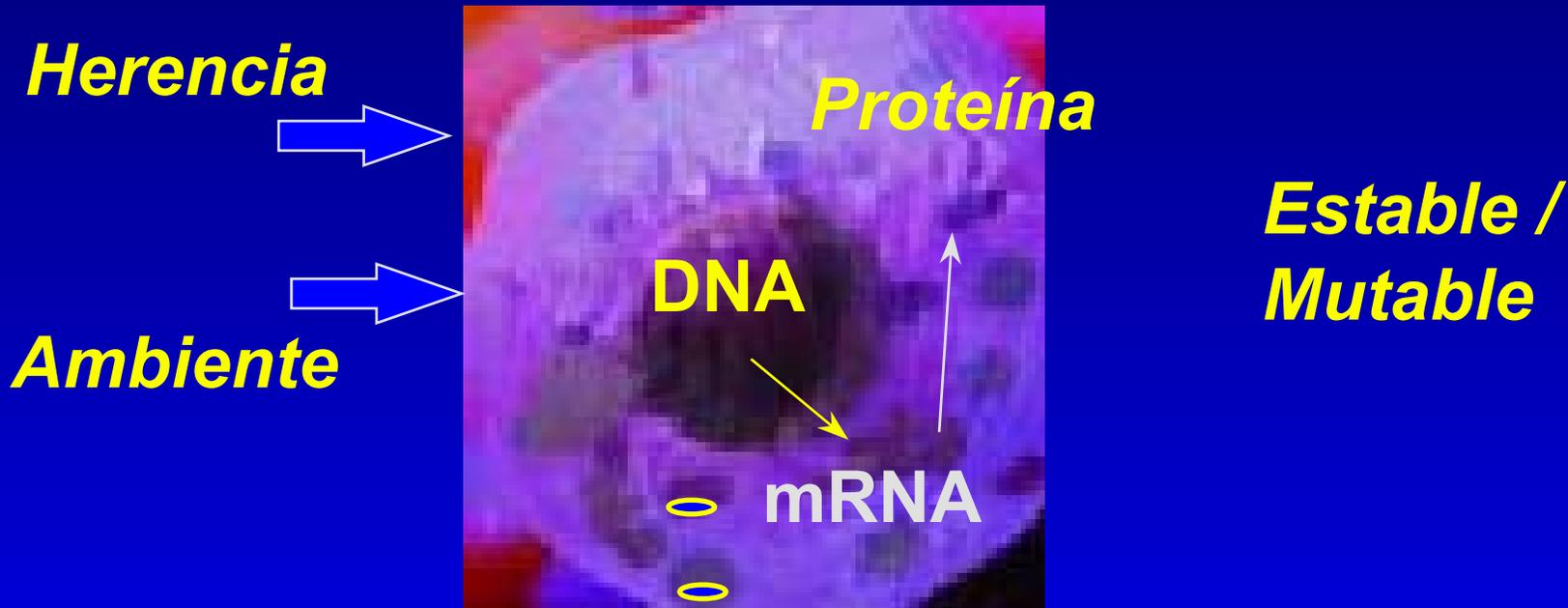


Flujo de información



*~100 millones de millones de células
en nuestro organismo*

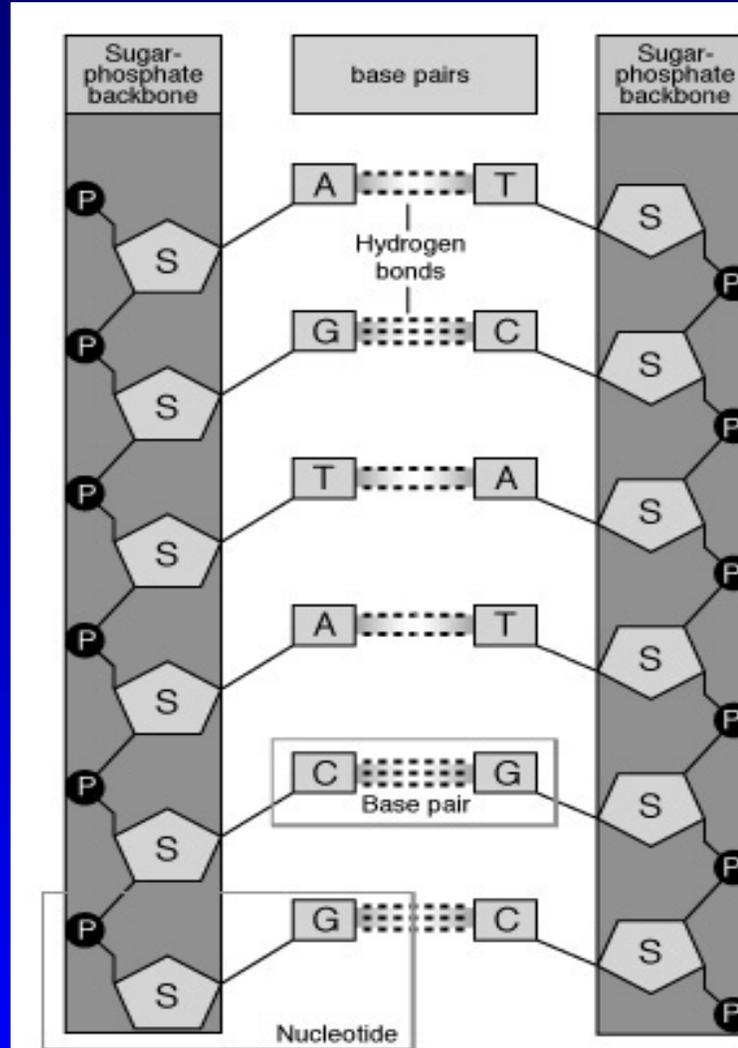
- **células germinales**
- **células somáticas**

Nucleo

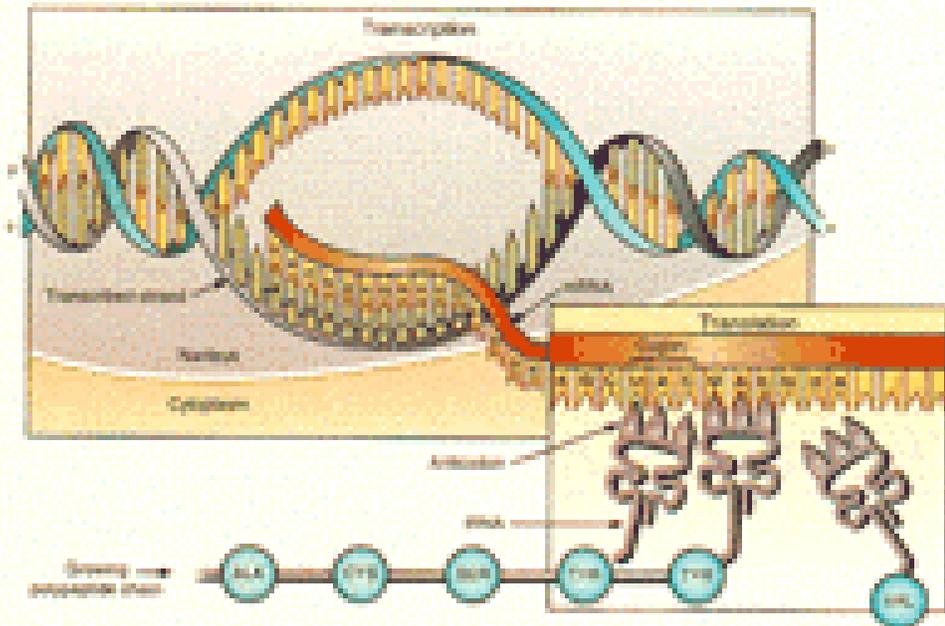
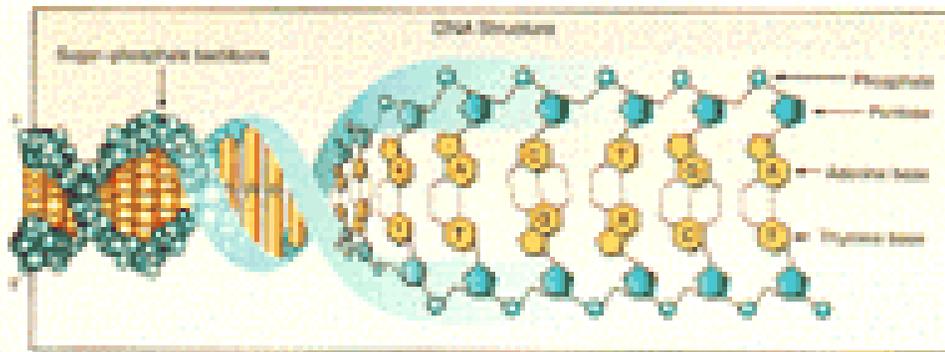
GENOMA

CROMOSOMA

DNA



Replicacion, Transcripcion, Traducccion





Objetivos:

- identificar los ~ 30,000 genes del DNA humano
- determinar la secuencia de los ~ 3000 millones nucleotidos del DNA
- almacenar y mantener la informacion en bases de datos
- crear y mejorar herramientas informaticas de analisis de datos
- estudiar los problemas eticos, legales y sociales (ELSI) relacionados con el conocimiento del genoma humano

Hitos:

- 1990: Lanzamiento del HGP promovido por NIH y DOE
- Junio 2000: Primer borrador completo del genoma humano
- Febrero 2001: Publicacion de los primeros analisis del genoma humano
- Abril 2003: La secuenciacion del genoma humano esta completa

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Human Genome Project



Algunos Numeros

- genome humano: 3000 millones nucleotidos (A, C, T y G).
- tamaño medio: 3000 bases / gen, pero es muy variable... hasta 2.4M (distrofina)
- número total de genes: ~ 30,000 –muy inferior a predicciones (80-140,000)
- 99.9% nucleotidos son iguales entre dos humanos cualquiera
- la función de ~ 50% de los genes no se conoce bien

Distribucion

- el genoma humano tiene regiones ricas en genes, donde predominan G/Cs (suelen ser bandas claras en cariotipo) y ‘desiertos’ pobres en genes, de predominio A/T (suelen ser bandas oscuras)
- las concentraciones de genes en el genoma humano no se distribuyen homogéneamente y hay grandes extensiones de DNA no codificante entre ellas (a diferencia de otros genomas)
- áreas de repeticiones C y G de hasta 30,000 a menudo flanquean zonas ricas en genes, separandolas de áreas pobres en genes. Posible función en regulación genica
- Cromosoma 1, el mas grande (2968 genes), y el Y, el mas pequeño (231 genes).



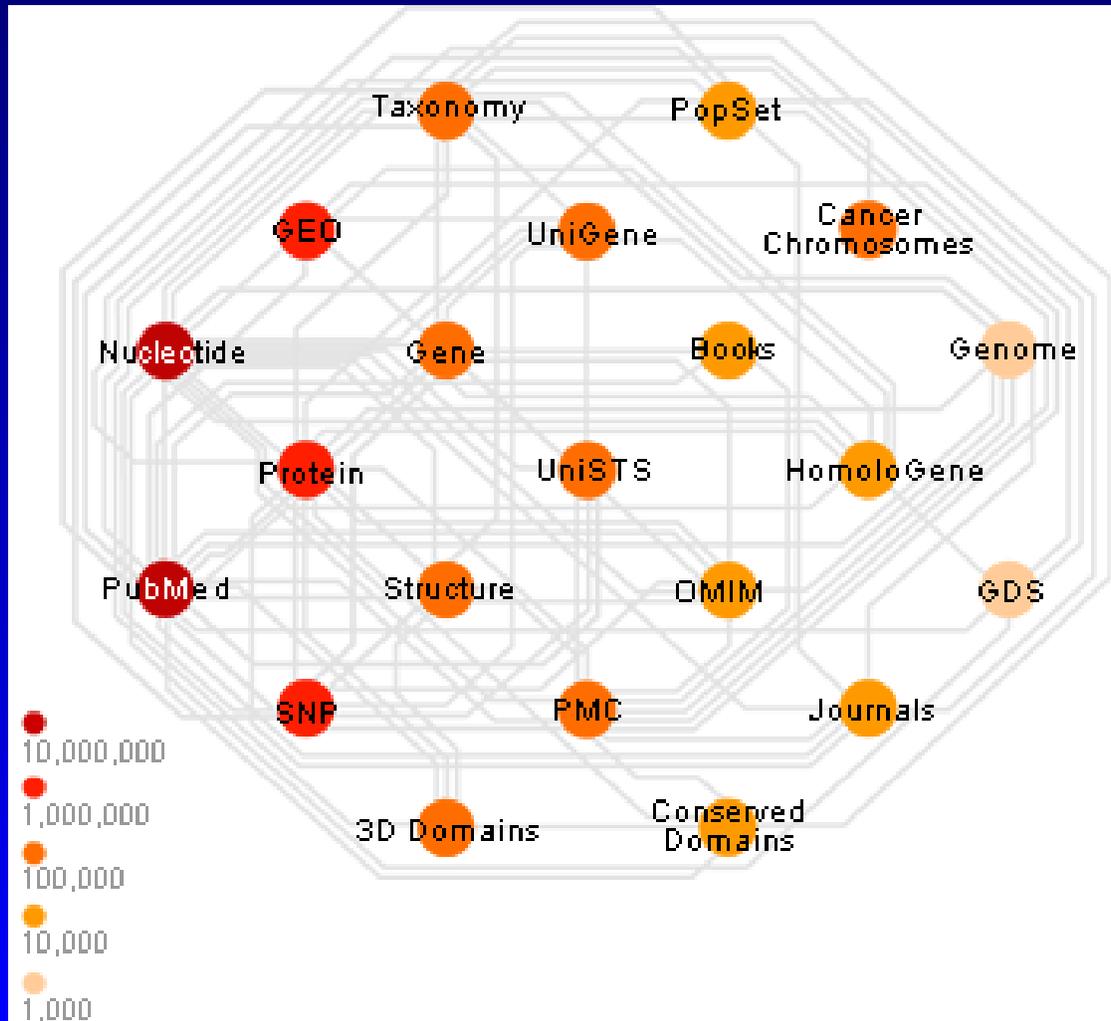
...el grano de la paja!

- menos del 2% del genoma codifica proteínas
- mas del 50% del genoma consiste en secuencias repetitivas no codificantes ("junk DNA") (mucho mas que otras especies: 7% C.elegans, 3% D.melanogaster)

H.sapiens	3.000 millones bp	30.000 genes
M.musculus	2.600 millones bp	30.000 genes
D.melanogaster	137 millones bp	13.000 genes
S.cerevisiae	12.1 millones bp	6.000 genes

- El genoma humano tiene la mayoría de las familias genicas similares a otras especies, pero el numero de MIEMBROS de las familias ha aumentado mucho, sobre todo en genes del desarrollo y la inmunidad.
- Los humanos tienen unas tres veces mas diversidad de proteínas que D.melanogaster o C.elegans, fundamentalmente porque hay mas variabilidad en 'splicing' alternativo y modificaciones postraduccionales de proteínas: un mismo gen puede dar una variedad de formas proteicas.
- El genoma humano parece haber dejado de acumular repeticiones de DNA hace mas de 50 millones años (no ocurre asi en roedores, con tamaño de genoma similar)

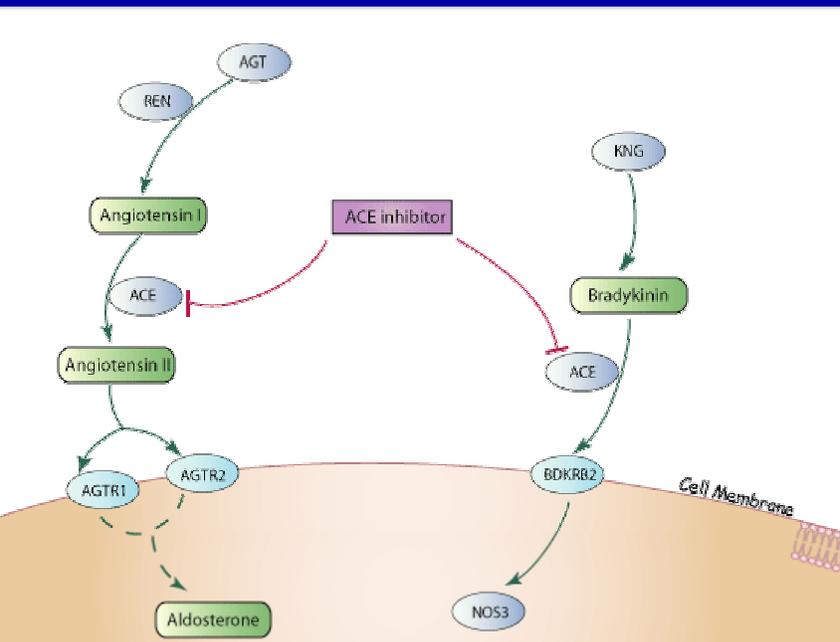
Bases de datos: NCBI





...variabilidad en nuestro genoma:

- 1 de cada 1000 bases es diferente entre dos individuos
- unos 3 millones de cambios de base catalogados (SNPs)
- cambios de secuencia mas frecuentes durante espermatogenesis que oogenesis (2:1), probablemente por mayor numero de divisiones celulares



cuales son las implicaciones de estos polimorfismos en la fisiologia, el origen de las enfermedades y la respuesta a medicamentos?

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://snp.cshl.org/>

<http://www.pharmgkb.org>

<http://geneticassociationdb.nih.gov/>

<http://www.genome.utah.edu/genesnps/>



Orígenes de las mutaciones

Endógeno:

- deterioro @ 37C
- error replicación
- error recombinación
- metilación/deaminación

Exógeno:

- tabaco, aflatoxina ...
- antineoplásicos
- radiaciones ioniz.
- UV

Interacción:

- metabolización tóxicos
ej. CYP1A1 y tabaco

Mecanismos de reparación DNA



Reparación del DNA

El DNA necesita reparación continuamente

- ▶ aprox. 10000 bases/célula día deterioro @ 37 C °
- ▶ replicación 6000 millones bp /división celular
- ▶ recombinación / meiosis
- ▶ ambientales :
 - tabaco: BPDE G → T →
 - UV: dímeros pirimidinas
 - radiación ionizante: delección



Reparación del DNA

A. Reparación de BASES MAL APAREADAS

ORIGEN del “mal-apareo” (mismatch):

1. Lesión del DNA: ej. deaminación (espontáneo o por carcinógenos) de mC = T
2. Incorporación defectuosa de nucleotido
3. Resbalón de la cadena durante replicación
4. heteroduplex durante recombinación

B. Reparación mediante EXCISION de nucleótidos:

1. Alteraciones más abultadas en la molécula de DNA: ej. dimeros por UV
2. Reparación compleja: “cortar por lo sano”
 - mediada por más genes (>12)
 - acoplada a la TRANSCRIPCIÓN

C. Reparación mediante EXCISION de BASE:

eliminación de bases oxidadas y reposición de nuevas:
-parte del complejo de replicación (DNApol beta...)



Reparación del DNA

D. Reparación mediante RECOMBINACION HOMOLOGA

1. rupturas del DNA, doble cadena (DSB): ej. radiación
2. importante en meiosis

E. Reparación mediante UNION NO HOMOLOGA (NHEJ):

1. rupturas del DNA, doble cadena (DSB): ej. radiación
2. importante en maduración linfocitaria



Reparación del DNA

- ▶ R. de bases MAL-APAREADAS (Mismatch)
 - lesión DNA (deaminación...) mC → T
 - incorporación defectuosa
 - resbalón de cadena
 - heteroduplex durante recombinación
- ▶ Problema: bases mal apareadas, bucles
- ▶ Reparación: - hMSH2 (Mut S) @ 2p16; 60% HNPCC
 - hMLH1 (Mut L) @ 3p21; 30% HNPCC
 - hPMS1 @ 2q31
 - hPMS2 @ 7p22

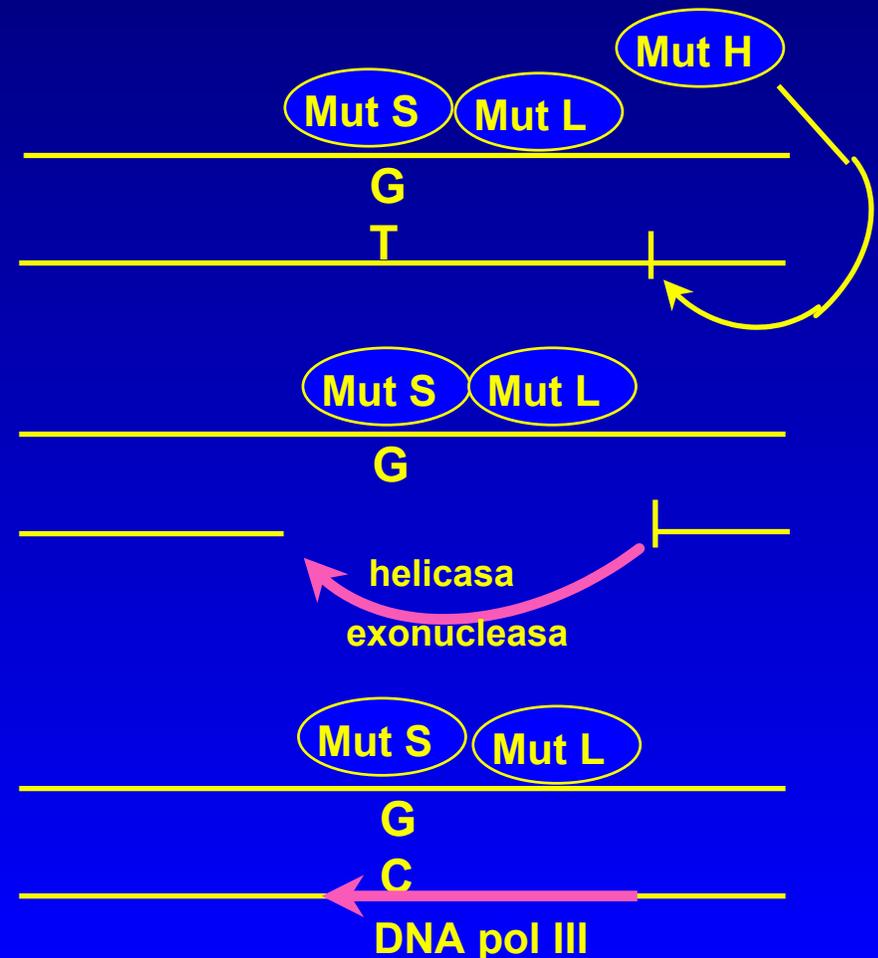
Reparación de BASES MAL APAREADAS

¿Cómo lo soluciona E. Coli?

Cáncer con inestabilidad en repeticiones simples -dinucleotidos- (microsatelites)

Cancer de colon hereditario sin poliposis "Sind. Lynch" (HNPCC)
1:2000 individuos (15% de todos Ca. colon)
1:200 portadores de la mutación

*hMSH2: (MutS) @ 2p16; 60% HNPCC
*hMLH1: (Mut L) @ 3p21; 30% HNPCC
*hPMS1@ 2q31, hPMS2 @ 7p22



Tipos de mutaciones

TM Cambios de base

- alt. transcripción
- sentido erróneo
- sin sentido
- alt. splicing

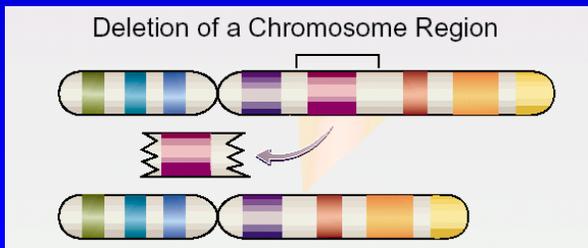
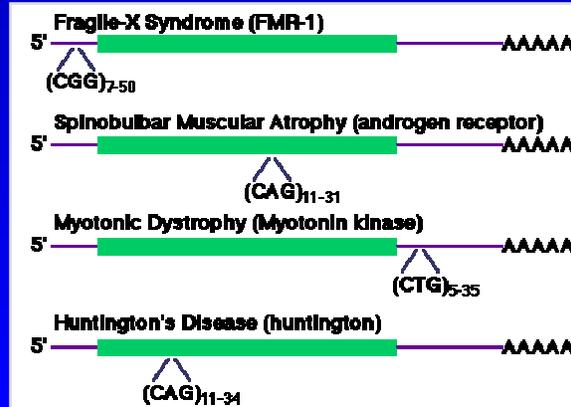
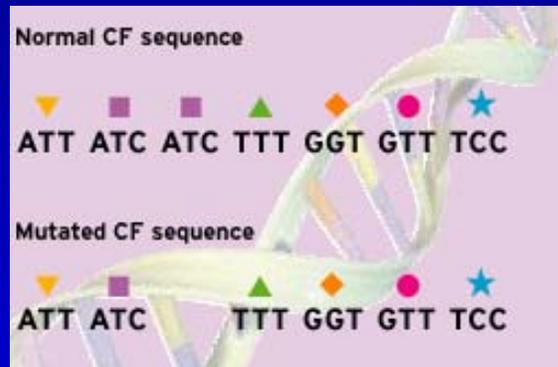
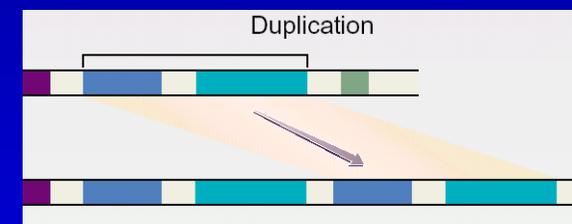
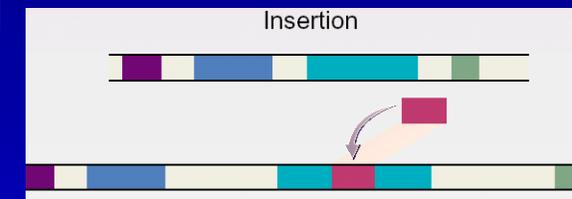
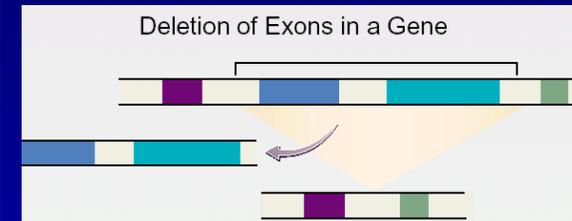
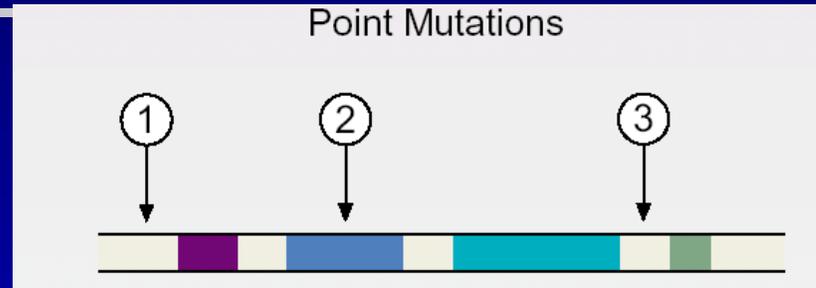
TM Delección /Inserción

- con / sin cambio ORF

TM DNA inestable

TM Cambios epigeneticos

TM Reordenaciones cr.





Epidemiología molecular

los detalles de la mutación producida informan sobre su origen:

- tabaco: BP.. BPDE ... G / T

- aflatoxina: G / T

-UV: C / T dímeros pirimid.

Consecuencias: mutación vs. polimorfismo

- TM Pérdida Fx.
- TM Ganancia Fx.
- TM Fx. nueva
- TM Ninguna
- TM Variante (?)

Enf. Monogénica (mendeliana)

- cada mutación es rara
- origen reciente (< 2000 a)
- determinante de fenotipo



Enf. Multifactorial (poligénica)

- variantes alélicas comunes
- origen antiguo (> 10.000 a)
- influye en fenotipo



Amplio Espectro, segun repercusion Mutacion causal Polimorfismo neutro

- **mutacion causal** (enf.mendeliana)
determinante de fenotipo
 - genes modificadores
- **polimorfismo patologico** (enf.multifactorial),
predisponente, riesgo
 - sinergismo polimorfismo-mutacion
- **polimorfismo neutro**
 - en condiciones ambientales probadas



Historia natural

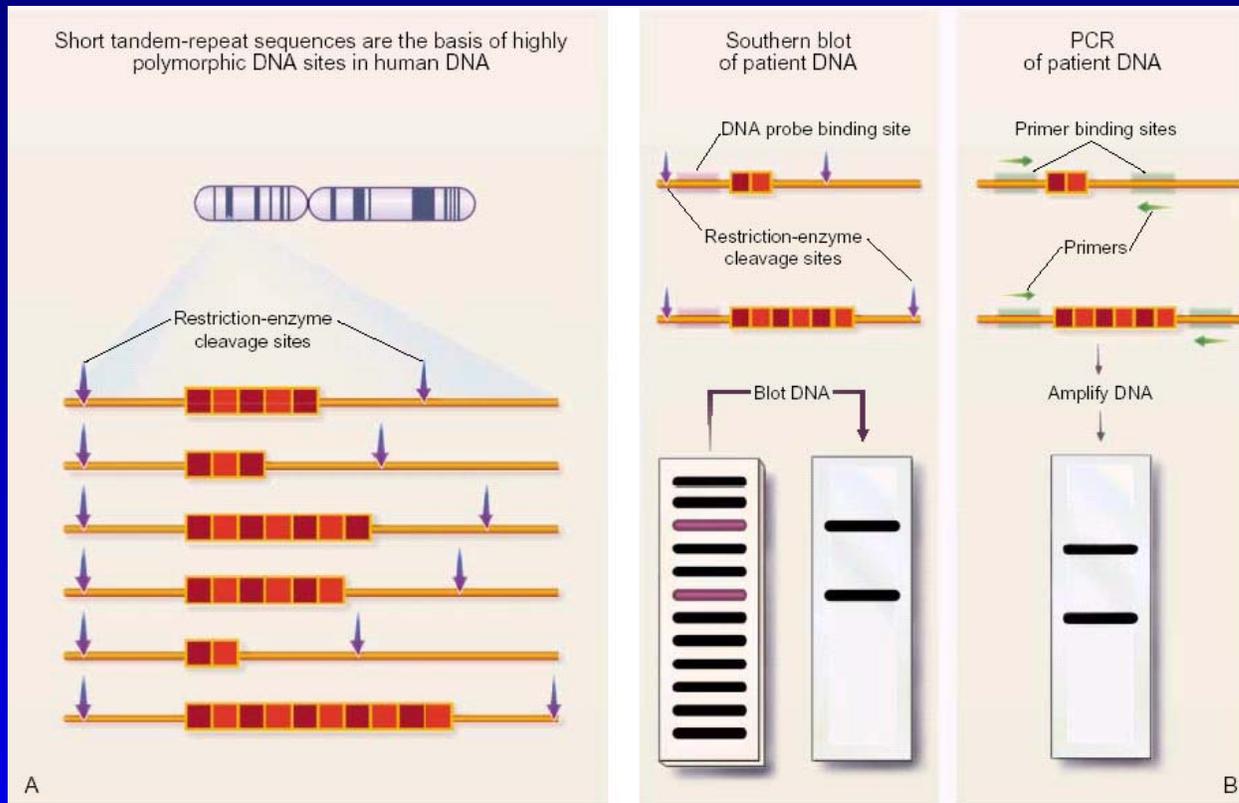
- TM Islas Galápagos, pinzones, Darwin...**
- TM Teoría neutra / selección natural**
 - 10^{-4} - 10^{-8} cambios / gen / generación
 - grado diversidad depende de tamaño población
 - adaptación: 10-50 generaciones, según especie
 - en humanos: 200-2000 a. / historia: 100.000 a.
- TM Grupos humanos: no confundir, peligro de racismo!**
 - genéticos (demes)
 - sociales
- TM Proyecto Diversidad de Genoma Humano**



Polimorfismos balanceados

- TM variante alélica > 1%: ventaja selectiva?**
 - dieta
 - resistencia a patógenos
 - supervivencia prenatal / postnatal
 - heterocigoto favorecido a costa de homocigoto
- TM anemia falciforme / paludismo**
- TM déf. G6PD / paludismo**
- TM hemocromatosis / ferropenia**
- TM fibrosis quística / cólera**
- TM hiperplasia adrenal congénita / H.influenza B**

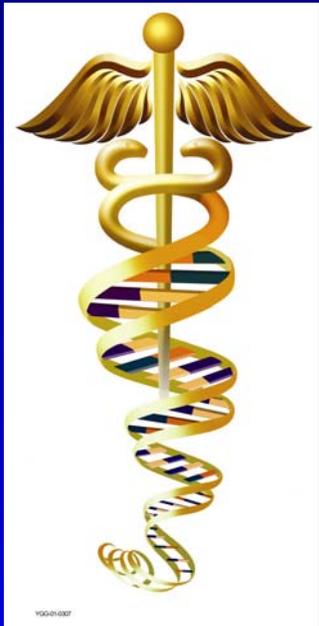
Polimorfismos como MARCADORES del genoma



RFLP:
variacion de secuencia en dian
de restriccion

VNTR (minisatelites)
SSR, CA-rep (microsatelites)

Medicina genómica



- TM “diátesis no es más que individualidad química” (A. Garrod)**
- TM el conocimiento de la individualidad genética del paciente mejora la calidad de la asistencia sanitaria**
- TM estratificación / subclasificación de individuos y riesgo de enfermedad**
- TM adecuación de recursos terapéuticos a pacientes que se pueden beneficiar**



Enf. multifactoriales

- TM** **Mayoría de enfermedades: hipertensión, arteriosclerosis, diabetes, osteoporosis, neurodegenerativas, cáncer...**
- TM** **la susceptibilidad genética depende de variantes frecuentes (polimorfismos) de varios genes**
- TM** **búsqueda de genes de susceptibilidad:**
 - análisis de genes candidato**
 - análisis de ligamiento**
 - análisis de expresión génica**

Analisis del GEN ↔ PRODUCTO

DNA

Toda célula nucleada

- Indirecto:
 - * anal. Ligamiento (polimorfismos)
- Directo
 - * mutación frecuente
 - * mutación “privada”

mRNA

Expresión: ubicua / específica - tiempo, espacio

- In situ
- En filtro
 - Northern
 - Dot / Slot
- En solución
 - RPA
- RT - PCR

Proteína

- Anticuerpos
 - * Inmunoblot (Western)
 - * Inmunocitoquimia
 - * Elisa, RIA ...
- Afinidad (Binding)
- Actividad Ez



Análisis de DNA vs. mRNA

TM DNA:

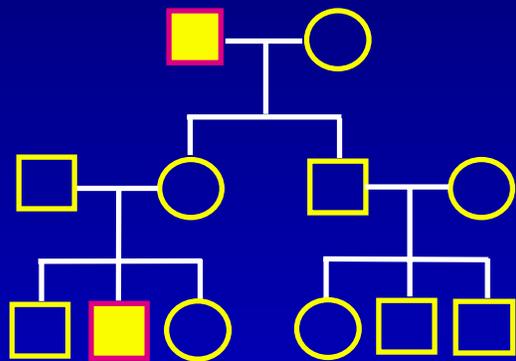
- selección de genes candidatos (fisiopatología)
- análisis de ligamiento (población, familias)
- sensibilidad: requiere variantes frecuentes, con efecto sustancial
- escapan fenómenos epigenéticos, tejido específicos, mutaciones somáticas...

TM mRNA (cDNA):

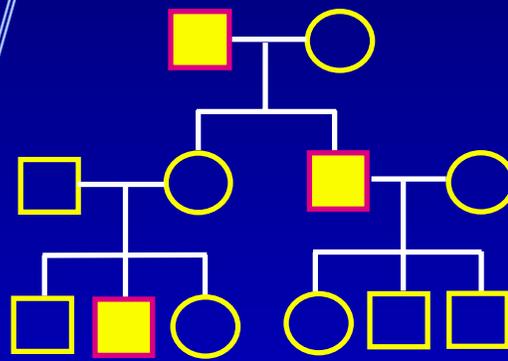
- limitada disponibilidad, acceso a células cuya expresión interesa
- selección de tejido / momento desarrollo

Estudio Pedigree

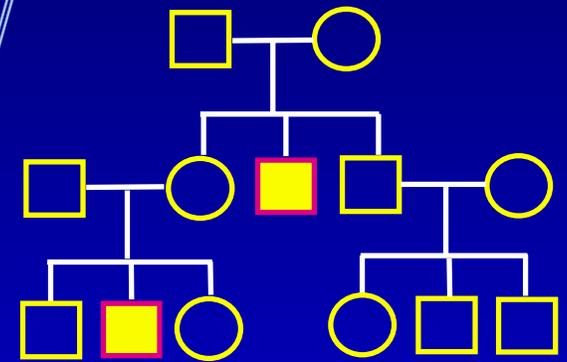
diabetes insipida nefrogénica



X



- no X -



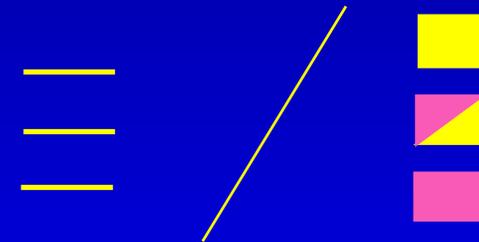
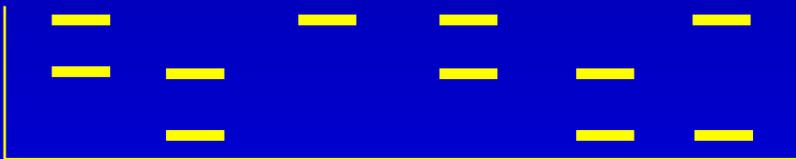
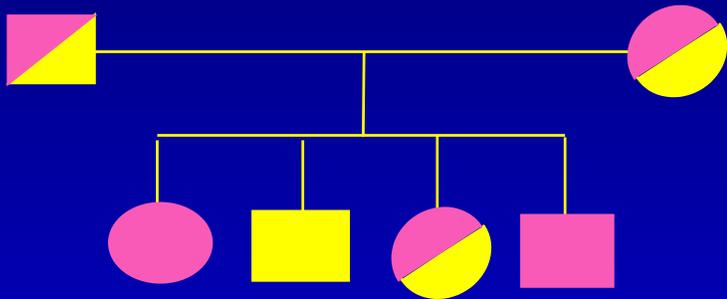
- AR -

Heterogeneidad Genética : - V2R @ Xq28
- AQP2 @ 12q13

DIN no-hereditaria: - enf. renal
- medicamentos

Diagnóstico Molecular de Enfermedades Hereditarias:

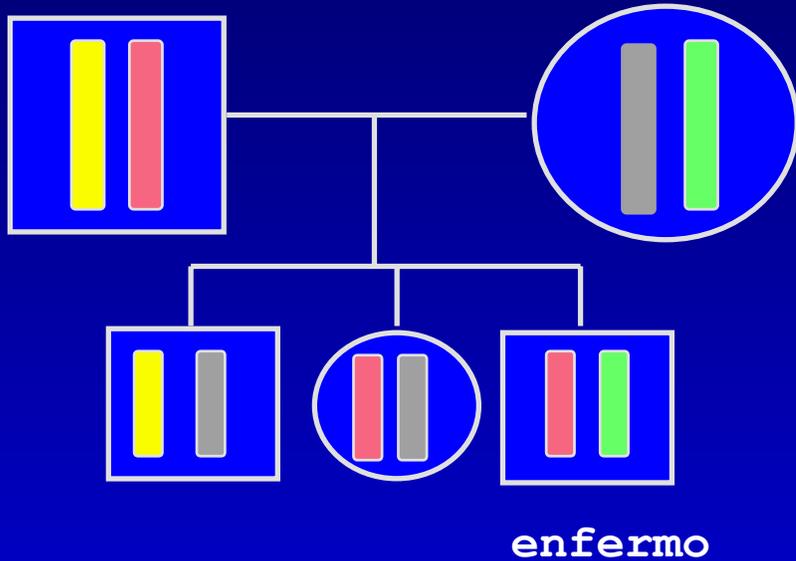
INDIRECTOS: ANALISIS DE LIGAMIENTO



Polimorfismo

1. RFLP
2. VNTR
3. MICROSATELITES (CA)_n

Ligamiento genético



- * Polimorfismo
- * Fase
- * Patrón de herencia



MEIOSIS

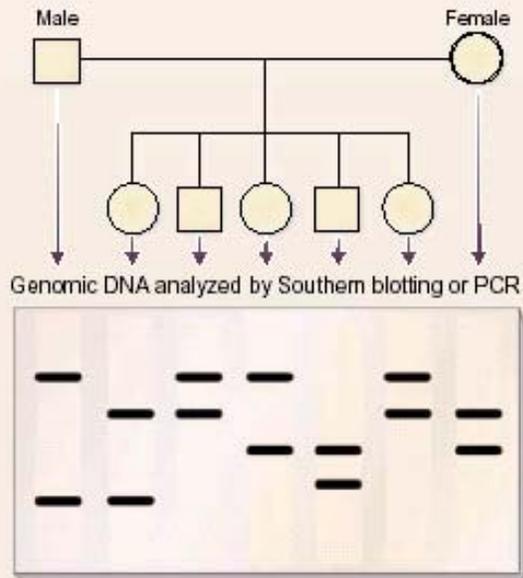


recombinante

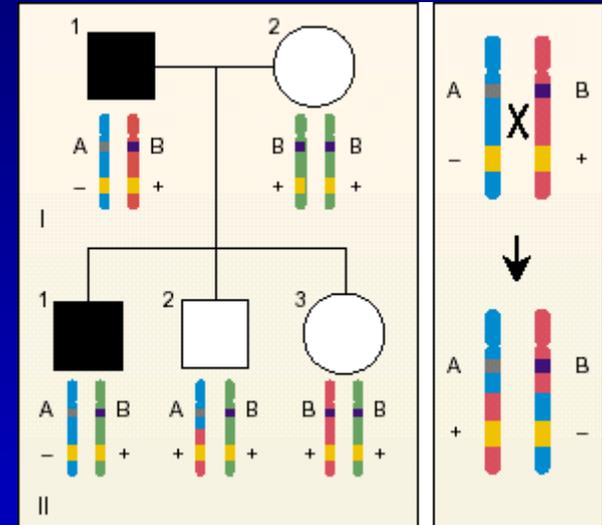
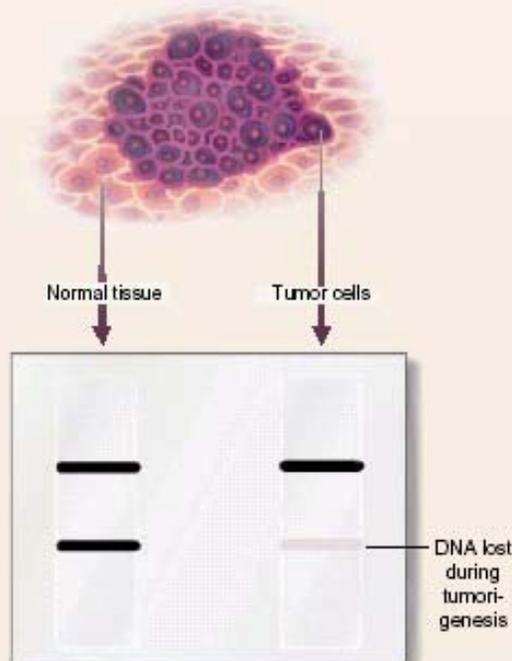
% recombinación es
función de la distancia
1 cM = 1% recombinantes
~ 1 Mb

Dx. Indirecto

Genetic transmission of a polymorphic DNA site in a family



Using a DNA polymorphism to trace loss of a chromosomal region in a tumor





Diagnóstico Molecular de Enfermedades Hereditarias:

DIRECTOS: GEN CLONADO

Mutación conocida:

- * reordenación / translocación
- * DNA inestable
- * deleciones / inserciones > 5 kb

- * deleciones / inserciones < 5 kb
- * cambios de base

1. Southern

2. PCR:

simple

+ restricción

+ hibridación oligo

alelo-específica



Diagnóstico Molecular de Enfermedades Hereditarias:

DIRECTOS: GEN CLONADO

PCR + :

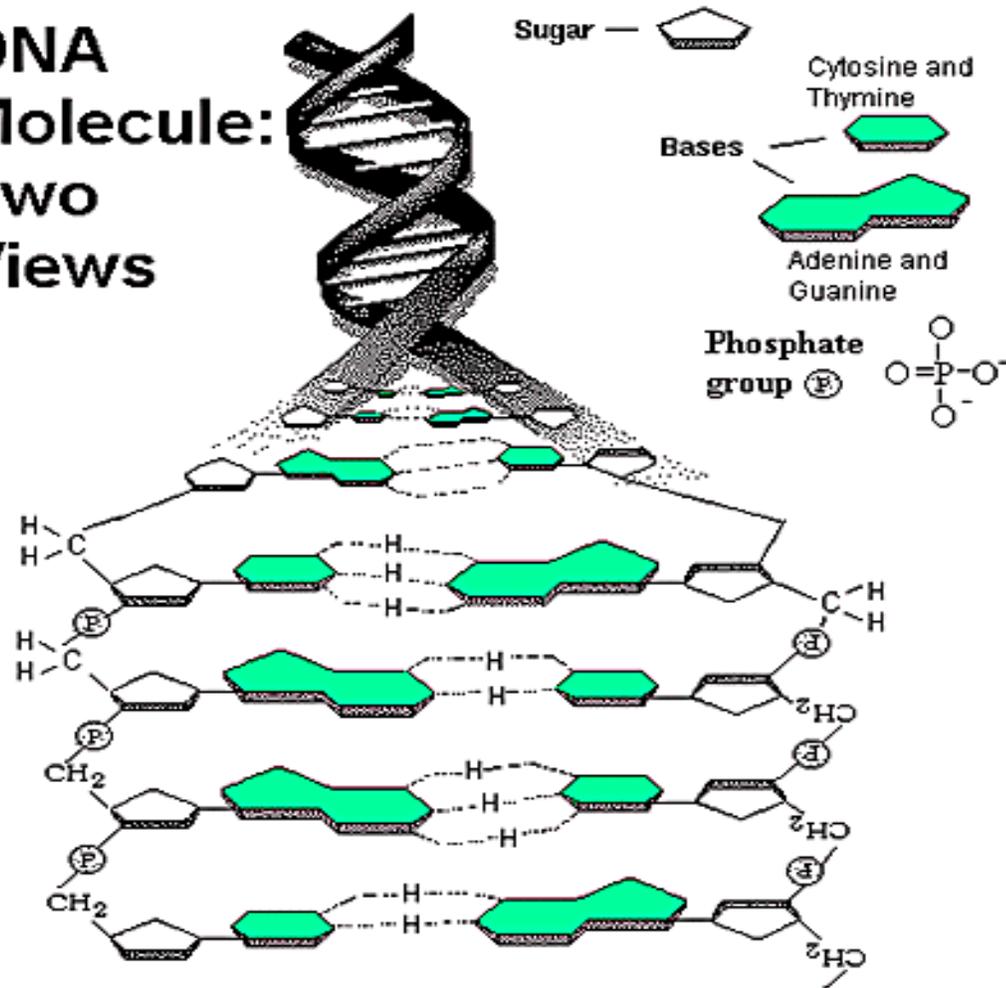
Mutación desconocida:

- * cambios de base
- * deleciones / inserciones pequeñas
- * (deleciones / inserciones grandes)

1. Polim. Conform. (SSCP)
2. Analisis heteroduplex (HA)
3. Corte químico (CMC)
4. Protección Rnasa (RPA)
5. Gradiente desnaturalizane (DGGE)
6. Secuenciación directa

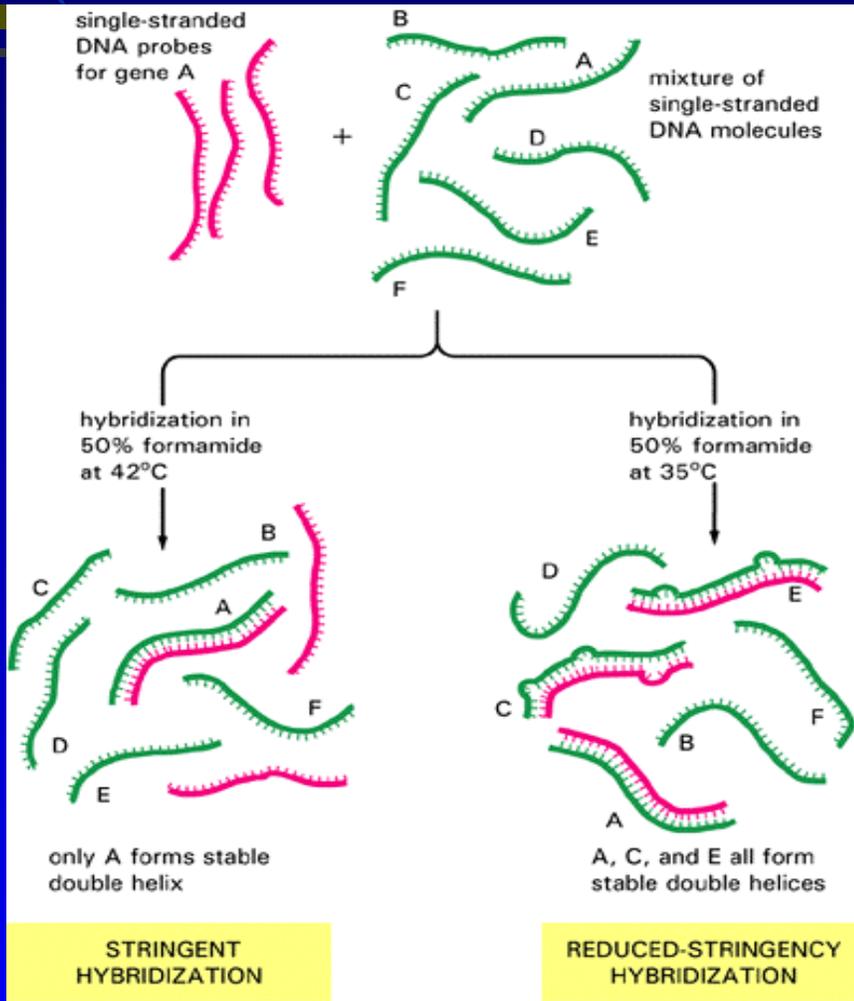
Aislamiento DNA y RNA

DNA Molecule: Two Views

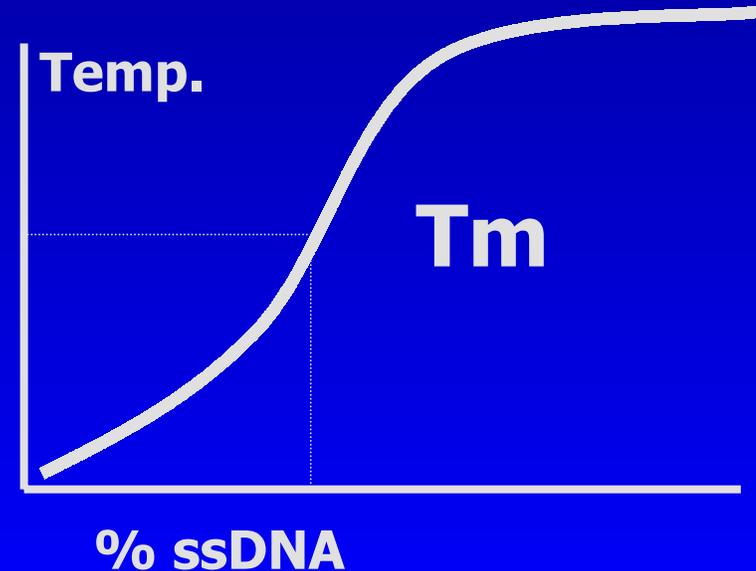


- *eliminacion de proteinas*
- *polimeros: precipitan con alcoholes*
- *afinidad por matrices de silice a alta [sales]*

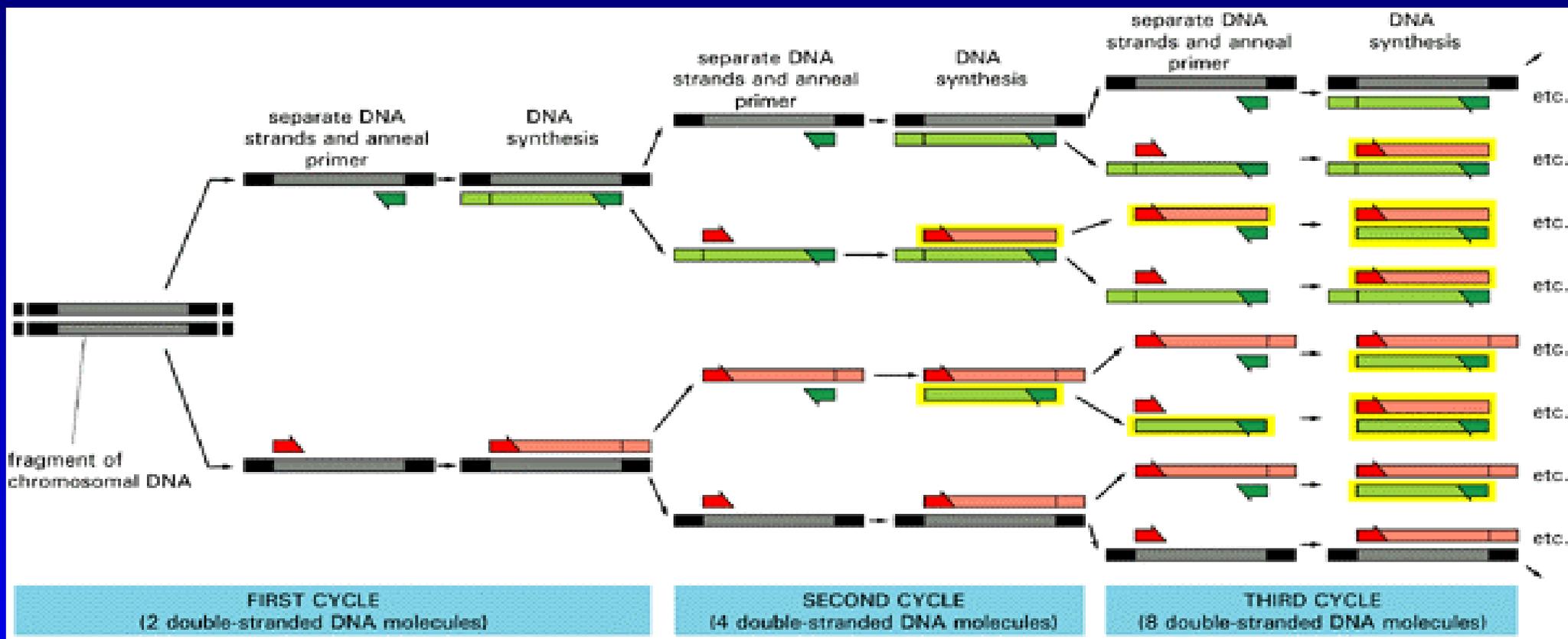
Hibridación ácidos nucleicos



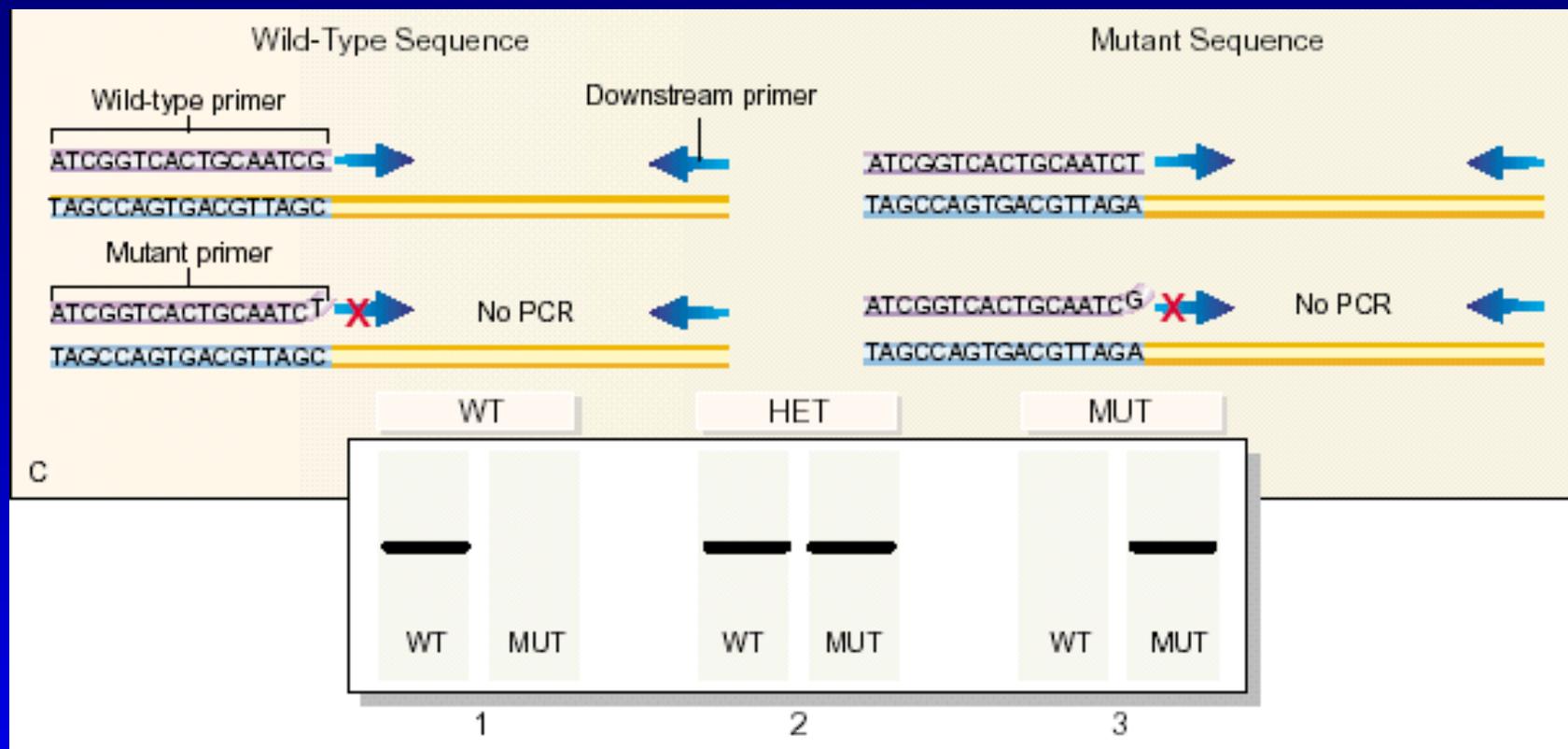
- temperatura
- conc. NaCl
- conc. Formamida
- longitud



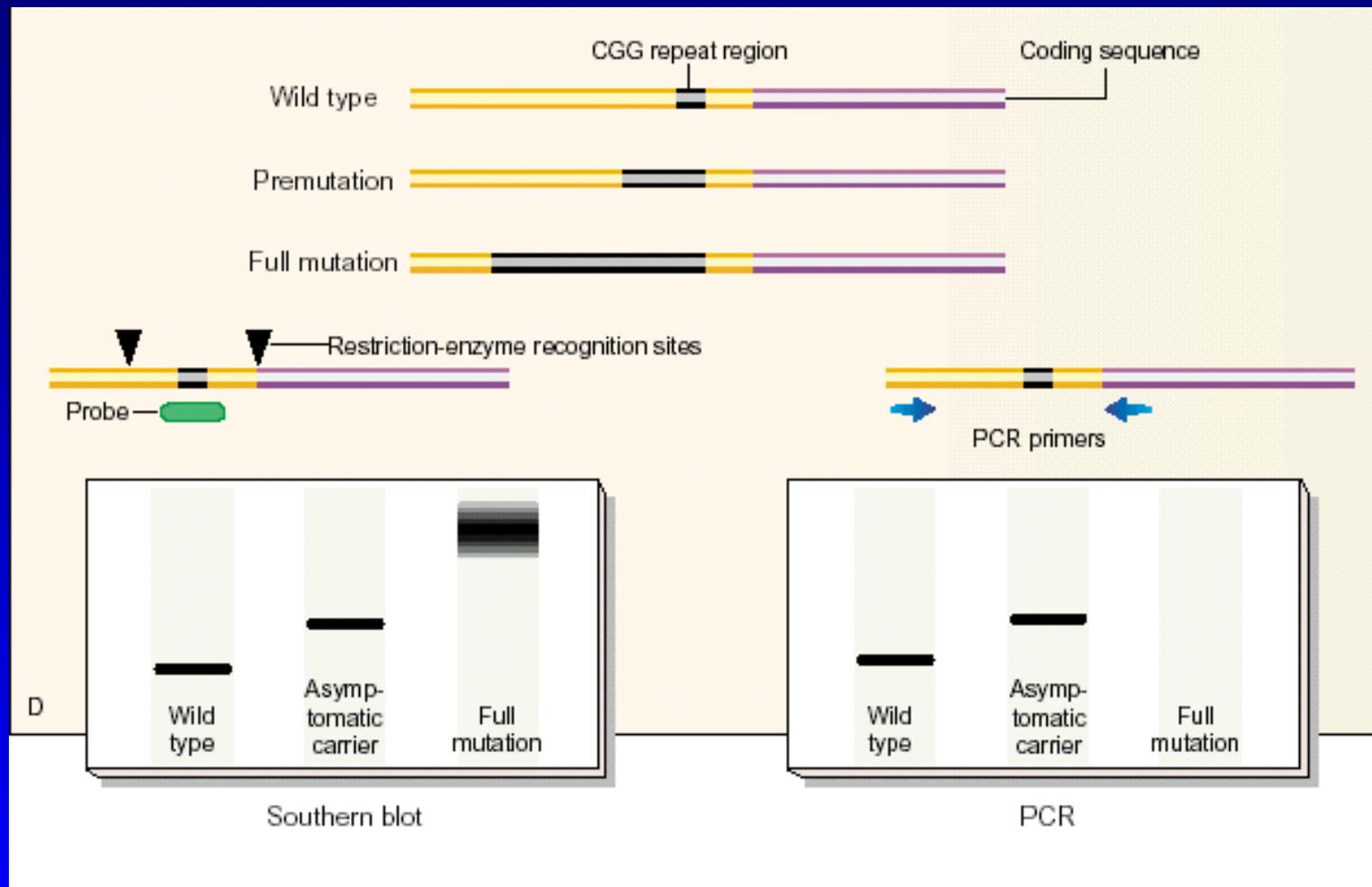
Amplificación DNA y RNA: PCR, RT-PCR



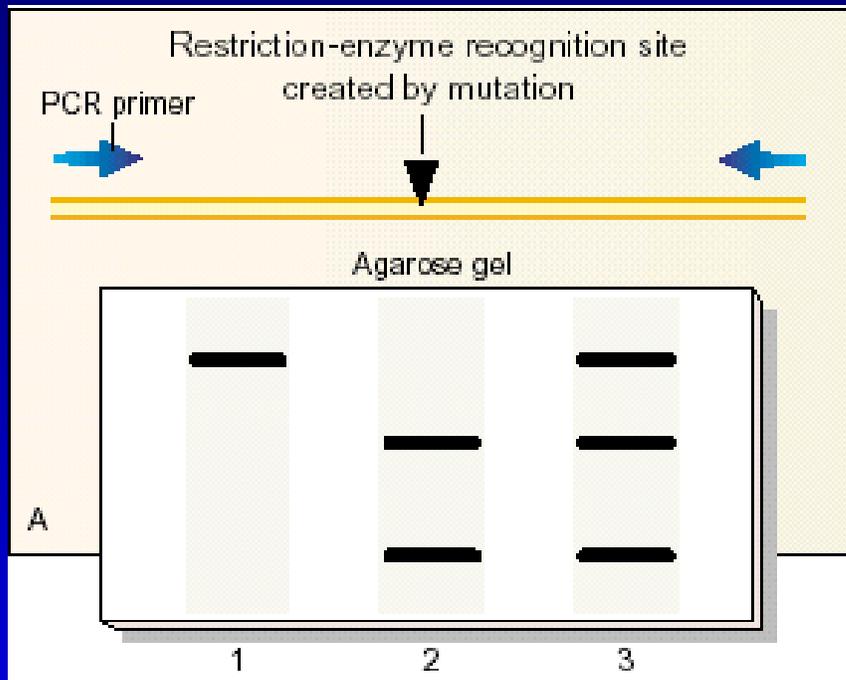
PCR alelo-especifica (SS-PCR)



PCR simple o PCR-Southern



PCR+RFLP



Hemocromatosis Mutación His63Asp



HLA-H-5: ACT TCT TGC ACT ACC TCT TC Tm: 60°
HLA-H-4: GCC ACA TCT GGC TTG AAA TT Tm: 58°

Condiciones de PCR: 95°, 5 min.....

(94°/54°/72°) 1 min cada x 30 ciclos



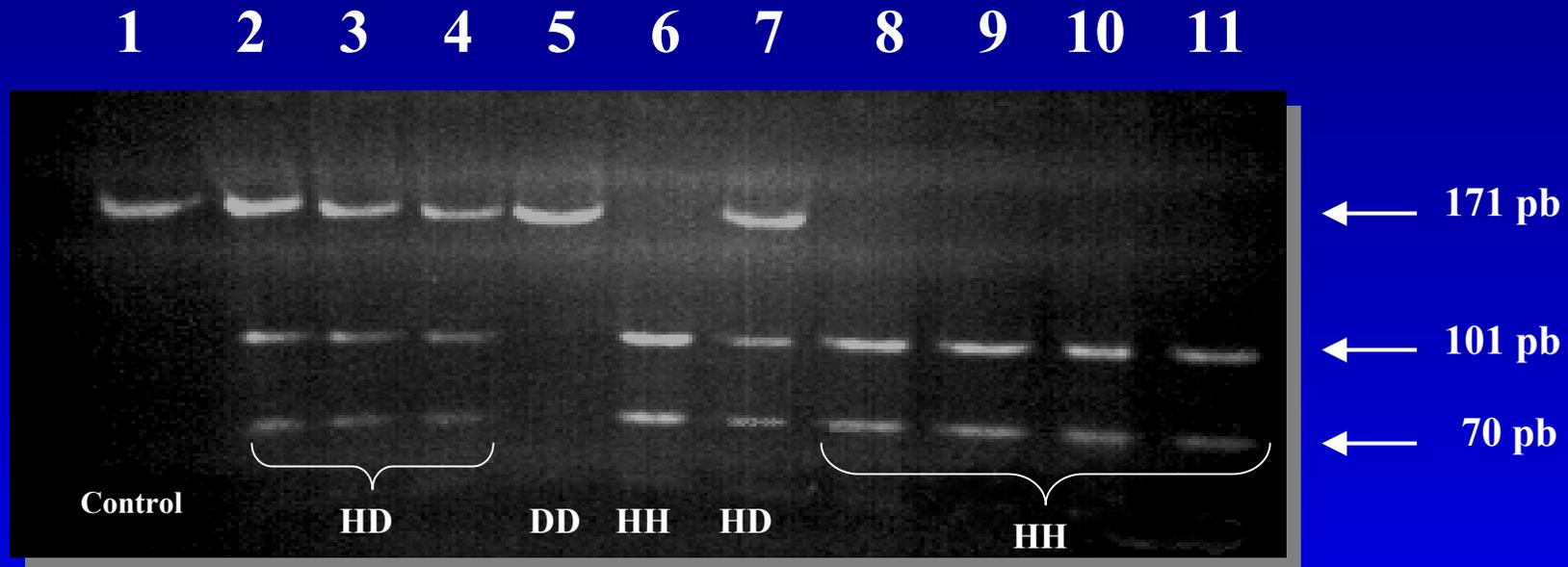
digerir Producto PCR con DpnII (GATC[▽])
@ 37° toda la noche



Electroforesis Acrilamida 5%

Alelo H: 101 + 71 pb
Alelo D: 171 pb

Electroforesis gel de Acrilamida. His63Asp



Hemocromatosis

Mutación Cys282Tyr



HLAH-1: TGG CAA GGG TAA ACA GAT CC Tm: 60°
HLAH-2: CTC AGG CAC TCC TCT CAA CC Tm: 64°

Condiciones de PCR: 95°, 5 min.....
(94°/60°/72°) 1 min cada x 30 ciclos



digerir Producto PCR con **RsaI** @ 37° toda la noche

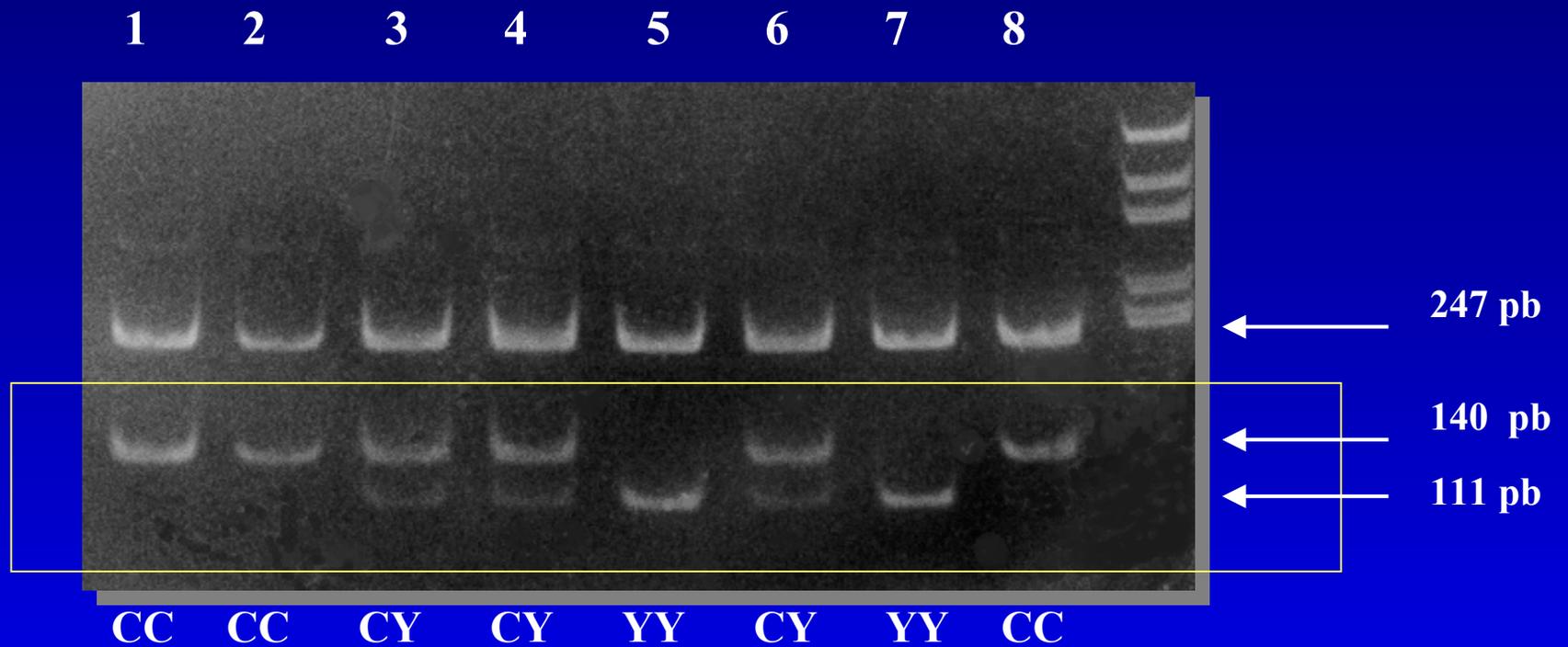


Electroforesis Acrilamida 5%

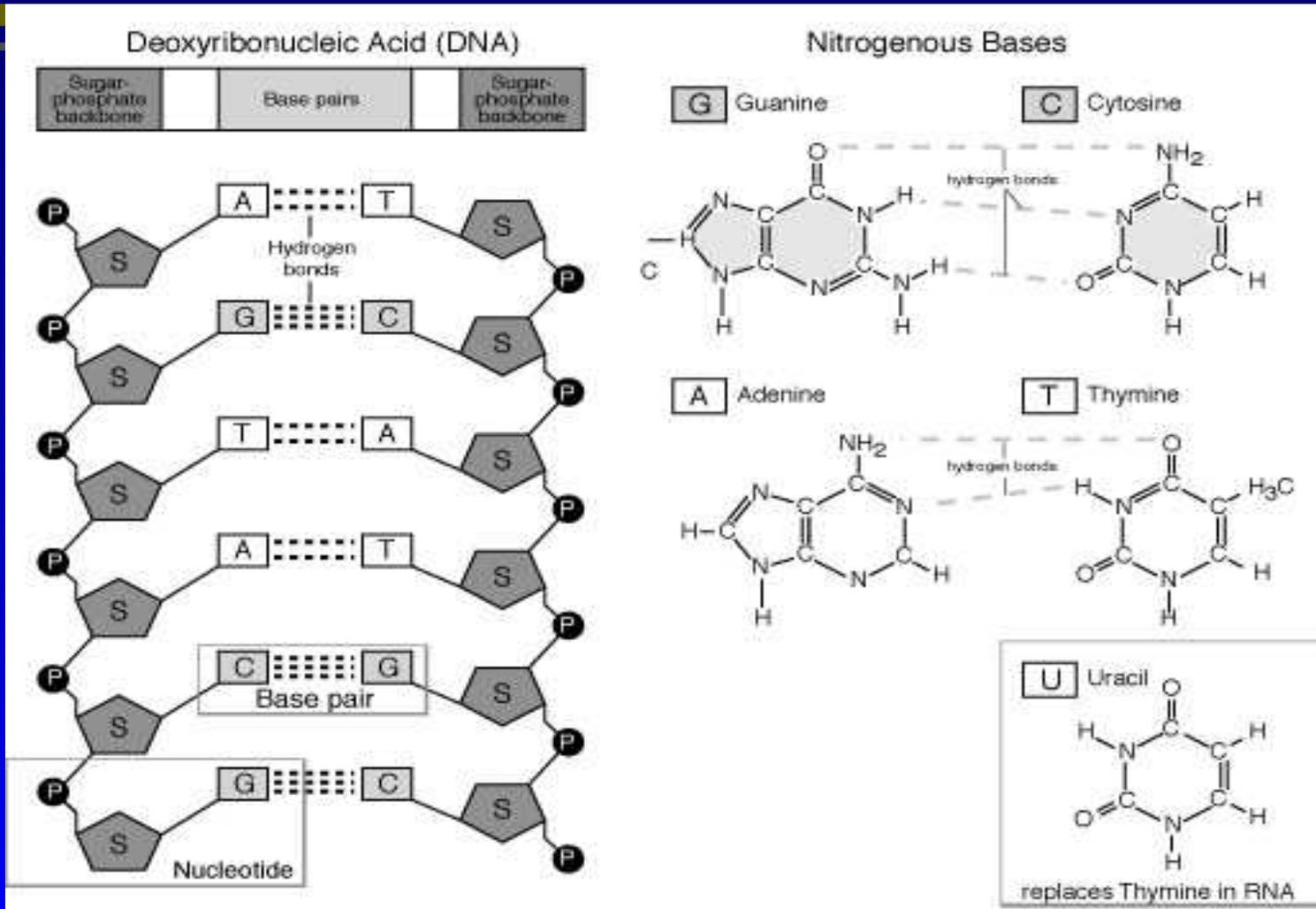
Alelo C (Normal): 247 pb + 140 pb

Alelo Y (Patológico): 247 pb + 111 pb + 29 pb

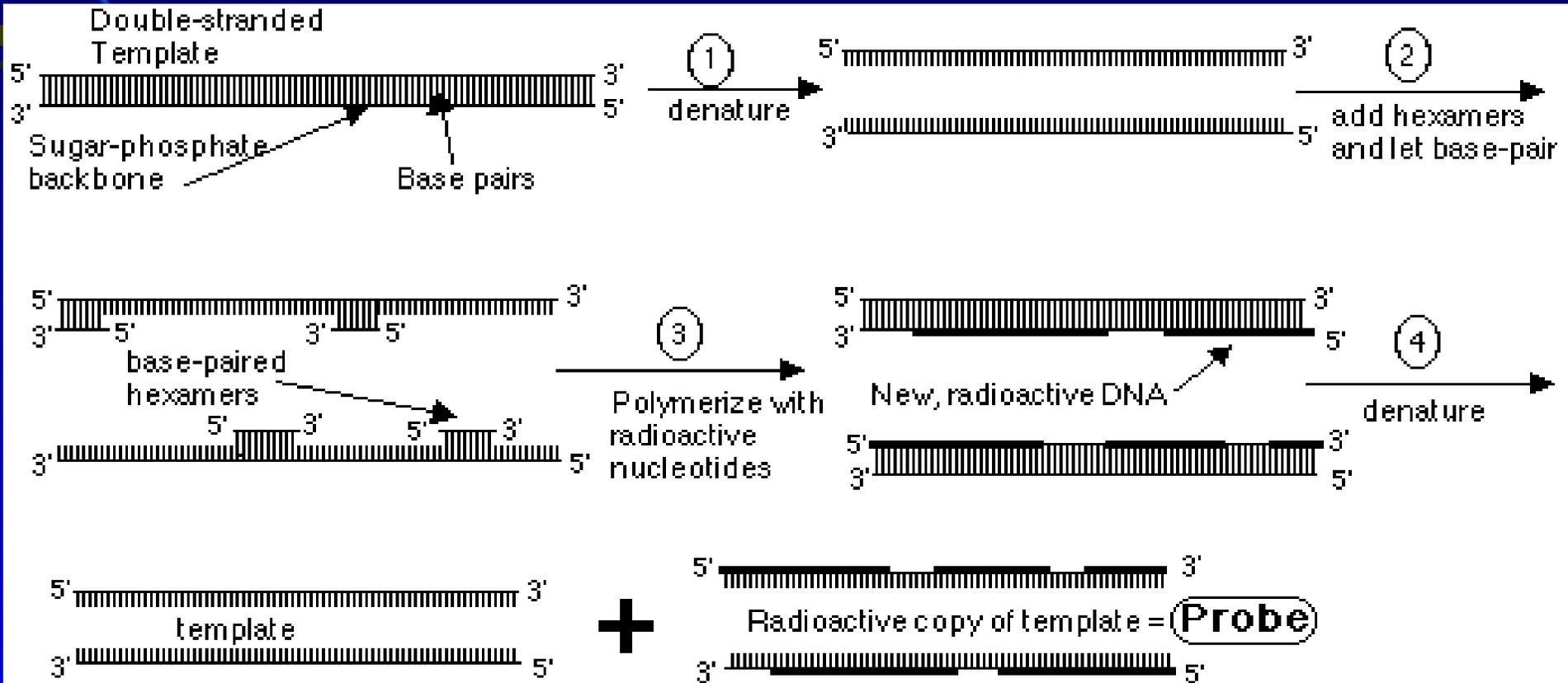
Electroforesis gel de Acrilamida Cys282Tyr



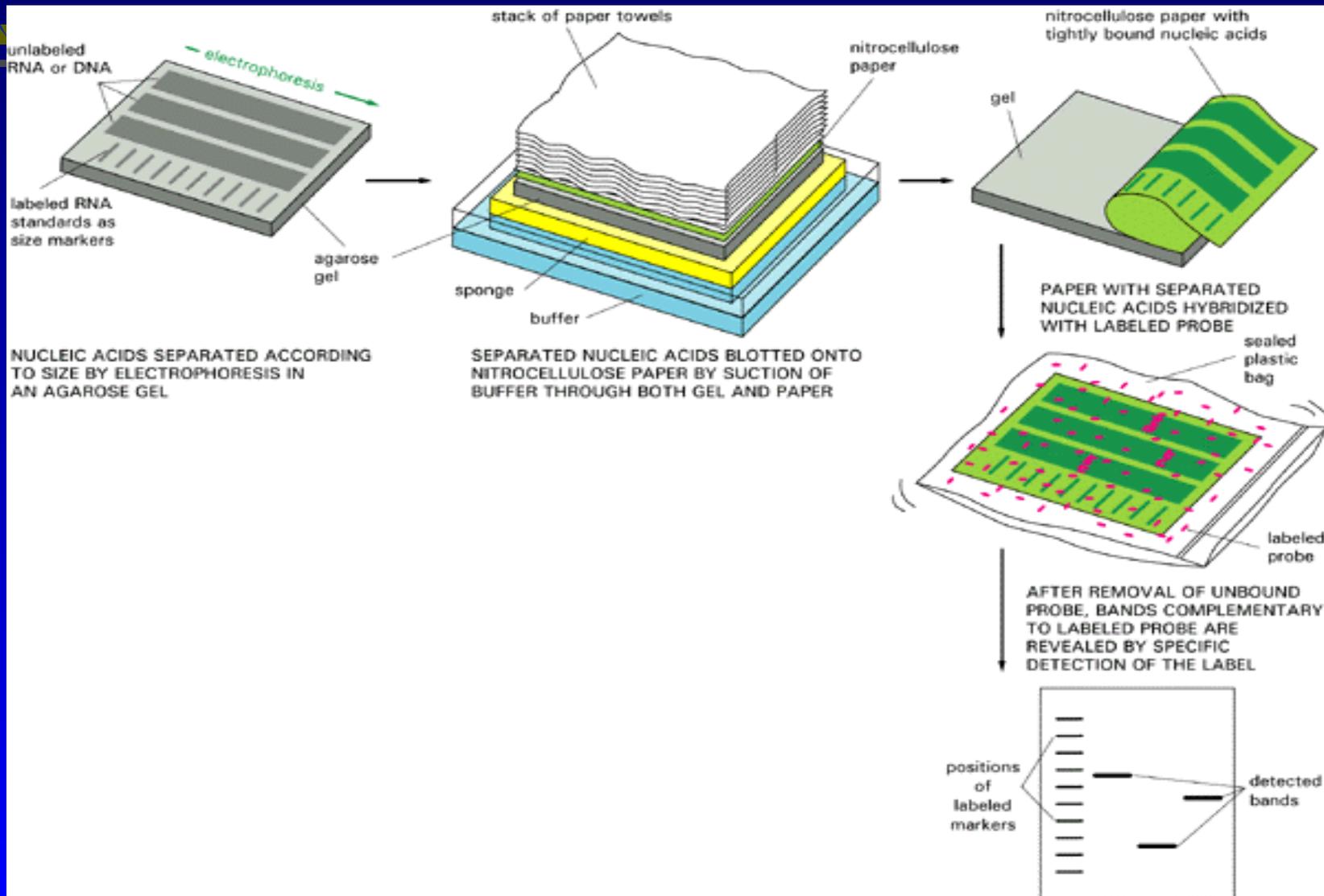
Hibridación: sondas moleculares



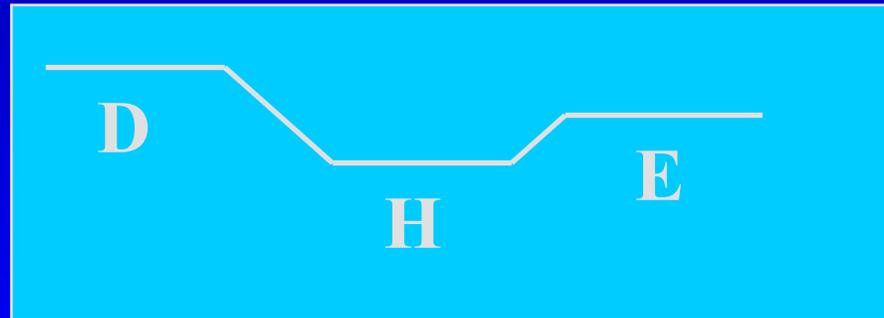
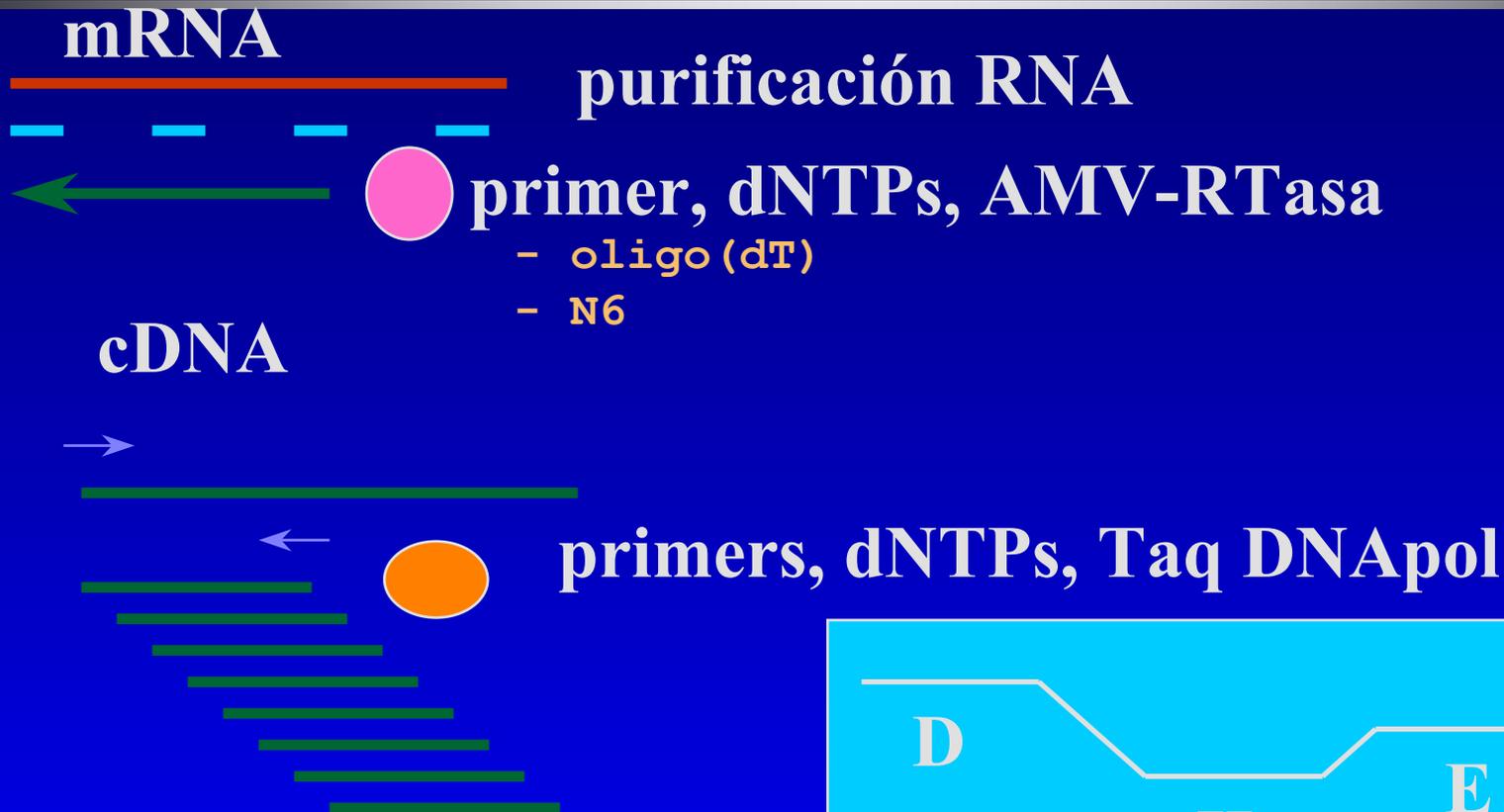
Marcado de sondas DNA: random primer



Southern, Northern:

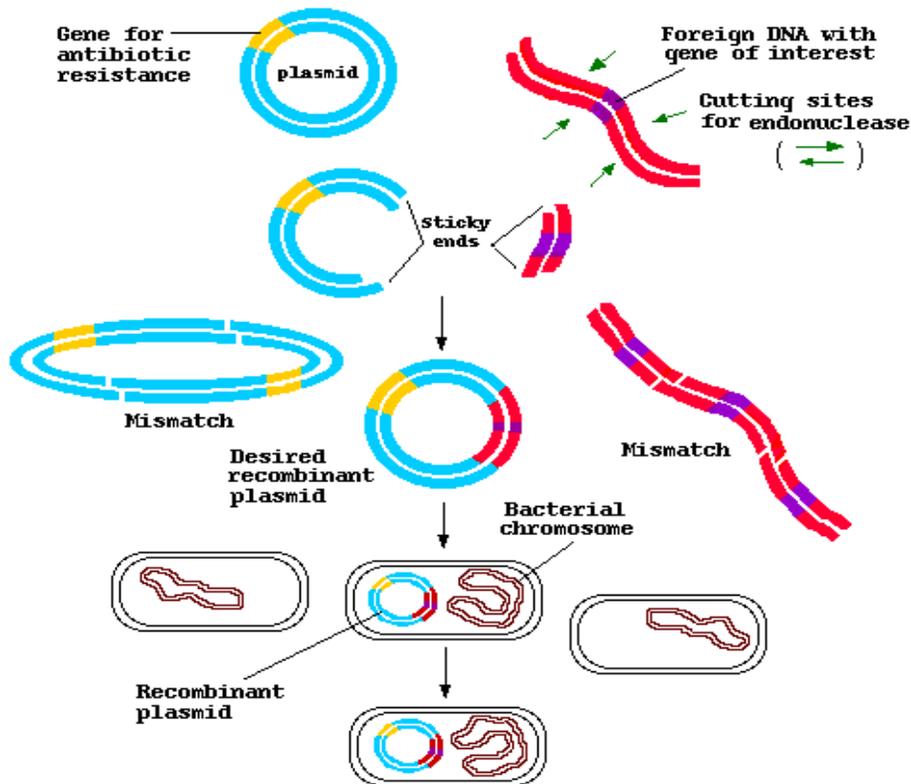


RT-PCR con RTasa + Taq DNAPol



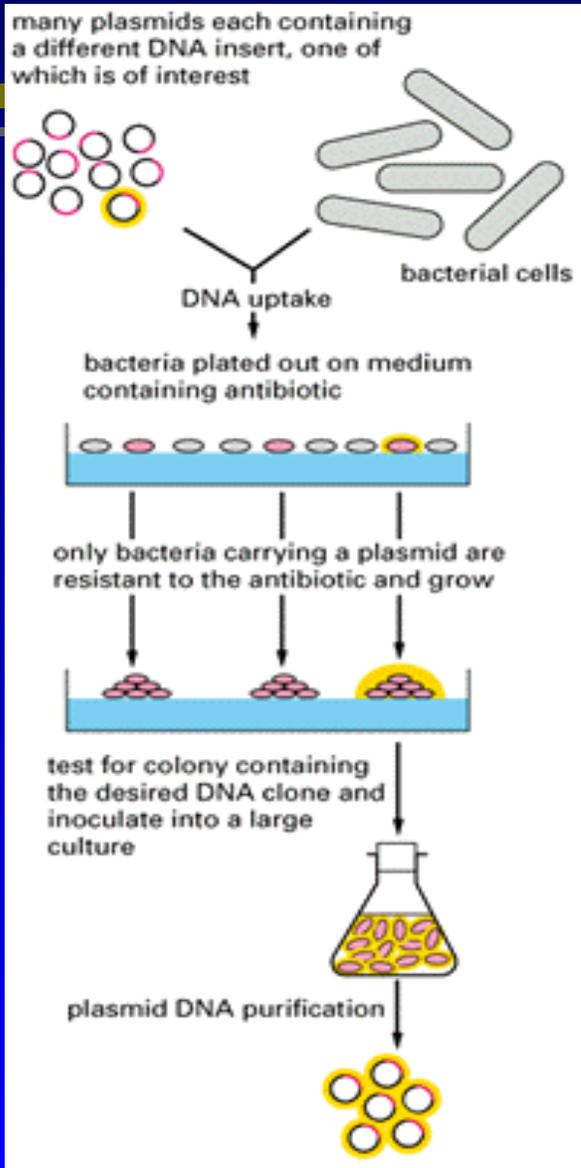
Clonaje molecular

Plasmid Insertion

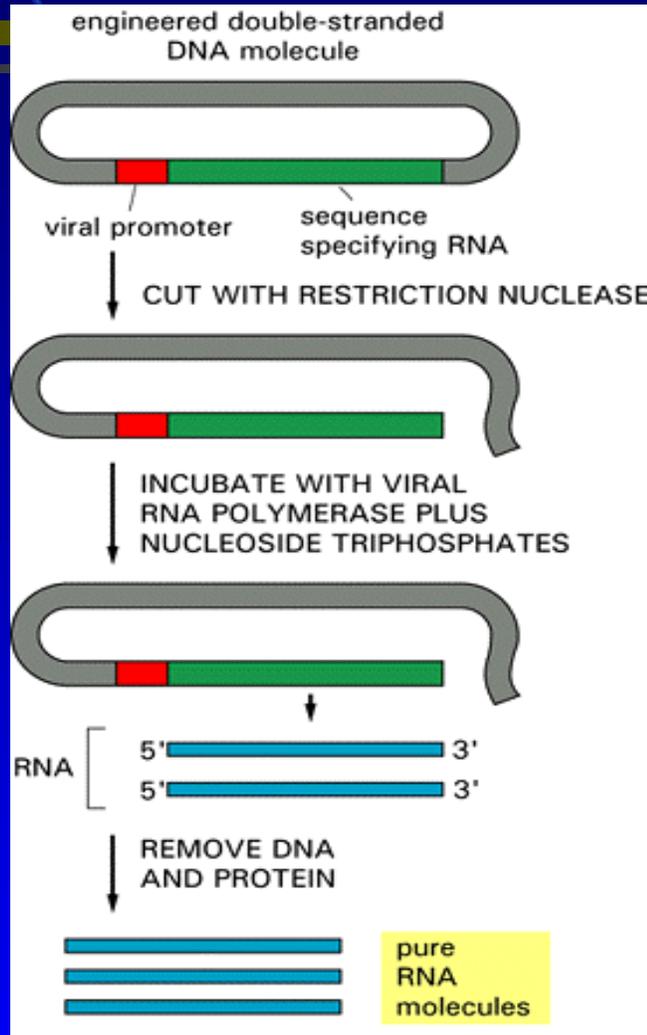


vectores
enzimas restricción
ligasa
transformación

Transformación



Sondas de cRNA: transcripción in vitro



RNA polimerasas:

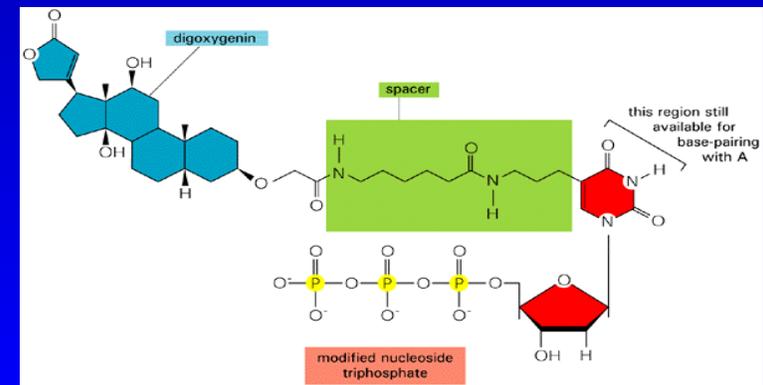
- especificidad por promotor
- T3, T7, SP6

Sense / Antisense:

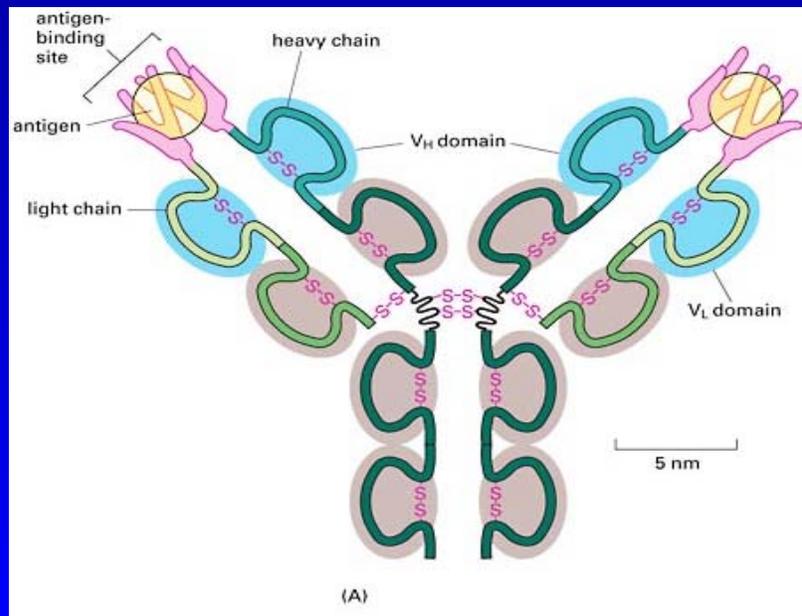
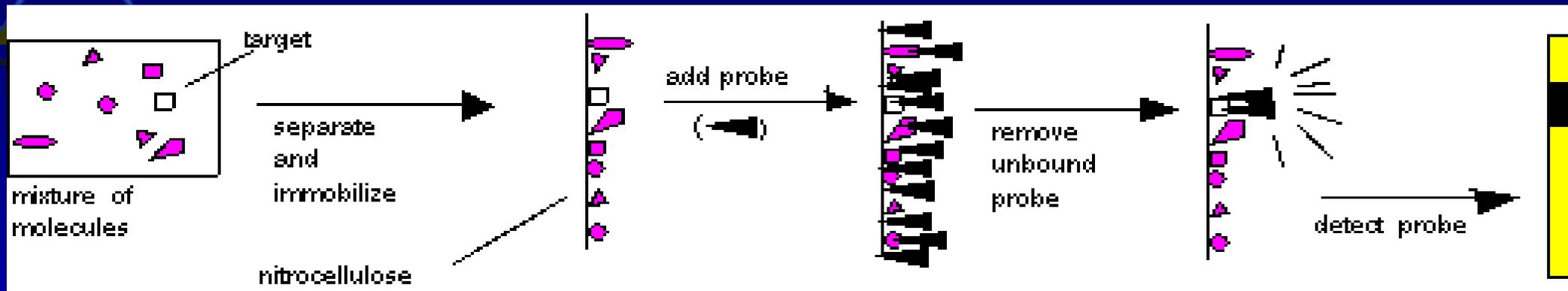
- mRNA (sense)
- cRNA (antisense)

Marcado:

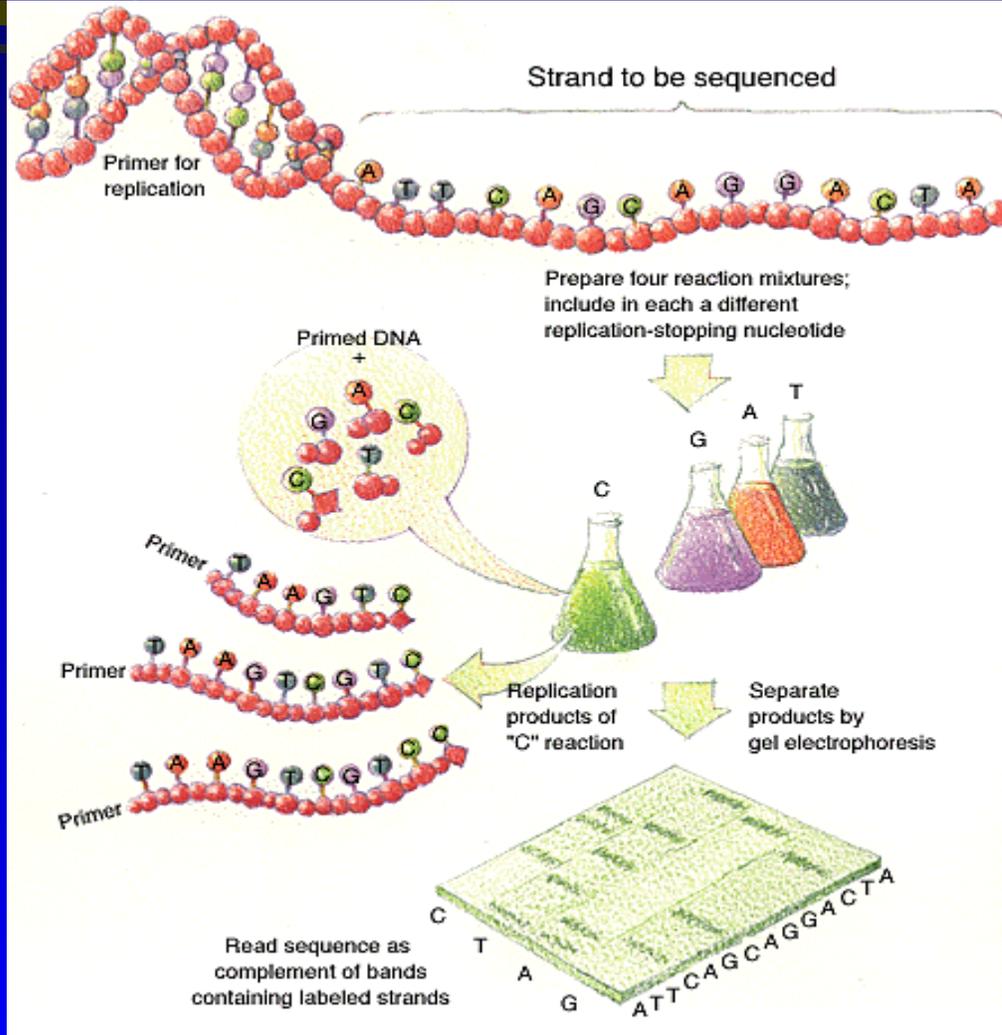
- radiactivo
- no-radiactivo



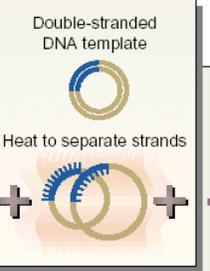
Western:



Búsqueda de mutaciones:



- SSCP
- secuenciación



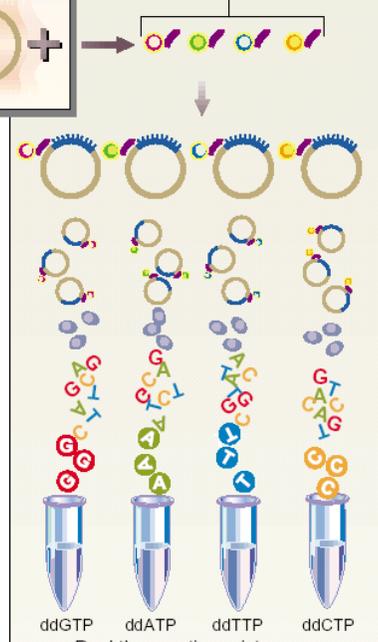
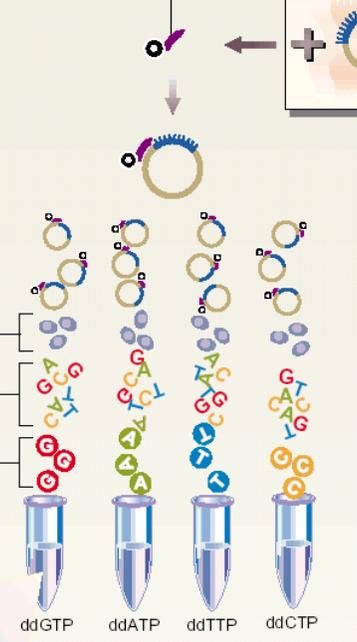
Manual DNA Sequencing

Automated DNA Sequencing

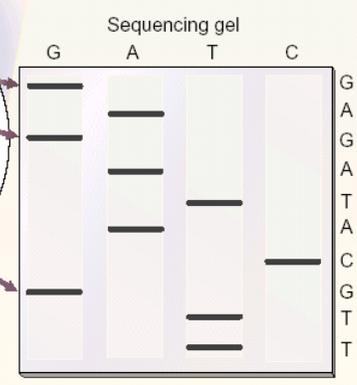
Radioactive primer

Fluorescent primers

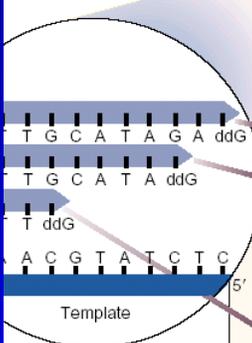
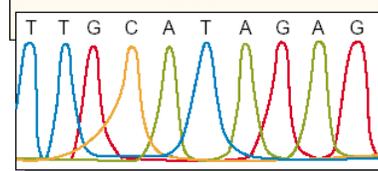
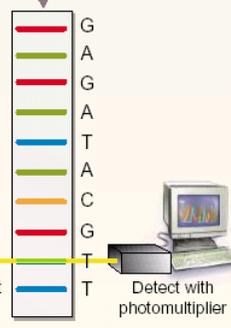
DNA polymerase
Nucleotides
Dideoxynucleotides



Pool the reaction mixtures



Longer strands
Shorter strands



mutacion o polimorfismo?

analisis funcional de las variantes DNA

- prediccion teorica
- analisis de dominios funcionales
- conservacion evolutiva
- bioinformatica: "modeling"
- estructura 3D

experimentacion

<http://www.bork.embl-heidelberg.de/>

<http://swissmodel.expasy.org/SWISS-MODEL.html>

<http://www.mutdb.org/AnnoSNP>





Principales grupos de patología

1. Patología de proteínas enzimáticas
2. Patología de canales, transportadores y receptores de membrana
3. Patología de proteínas estructurales
4. Enfermedades conformacionales
5. Enfermedad DNA mitocondrial
6. Enfermedades complejas
7. Patología del desarrollo
8. Patología del ciclo celular
9. Patología infecciosa



Enf. Aut.Rec. principales

- Nervioso:** atrofias neuromusculares, atrofia muscular espinal, ataxia Friedreich
- Hematopoyetico:** falciforme, talasemias
- Esqueletico:** Ehlers-Danlos (algunos)
- Endocrino:** Hiperplasia adrenogenital
- Metabolismo:** Fenilcetonuria, Hiperoxaluria, Galactosemia, Homocistinuria, enf.acum. lisosomal, Glucogenosis, Def. Alfa-1-antitripsina, hemocromatosis, enf. Wilson
- **Respiratorio:** Fibrosis quistica

Mecanismos moleculares

-perdida Fx.

tipos mutaciones

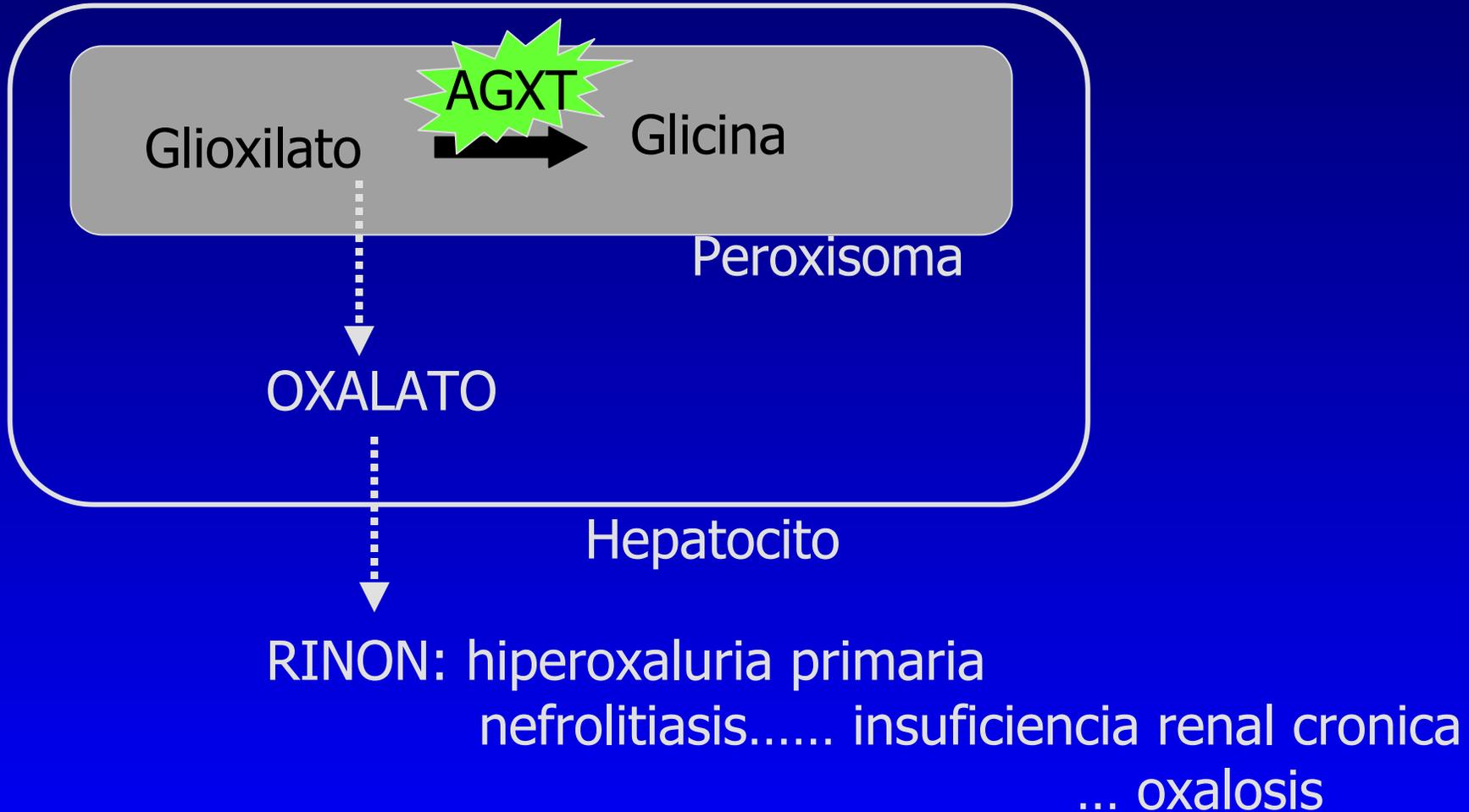
ENZIMAS: niveles \ll 50%, casi nulos



TRANSPORTADORES:

Heterogeneidad alelica

Alanina:Glioxilato Aminotransferasa (AGXT)



Hiperoxaluria Primaria t.1 en Canarias

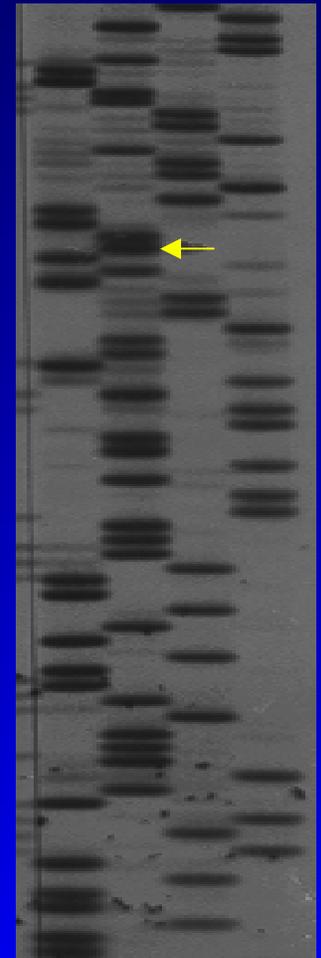
- Analisis de ligamiento y rastreo SSCP



+/+ +/+ +/- +/+ +/+ -/- -/- -/- -/-

- Secuenciacion directa productos PCR
 - 26 / 28 PH1 cr. (93%):
I244T (e7, T853C)
 - mismo haplotipo: “**efecto fundador**”
Pro11Leu, i1ins., C386T, Ile340Met

A C G T



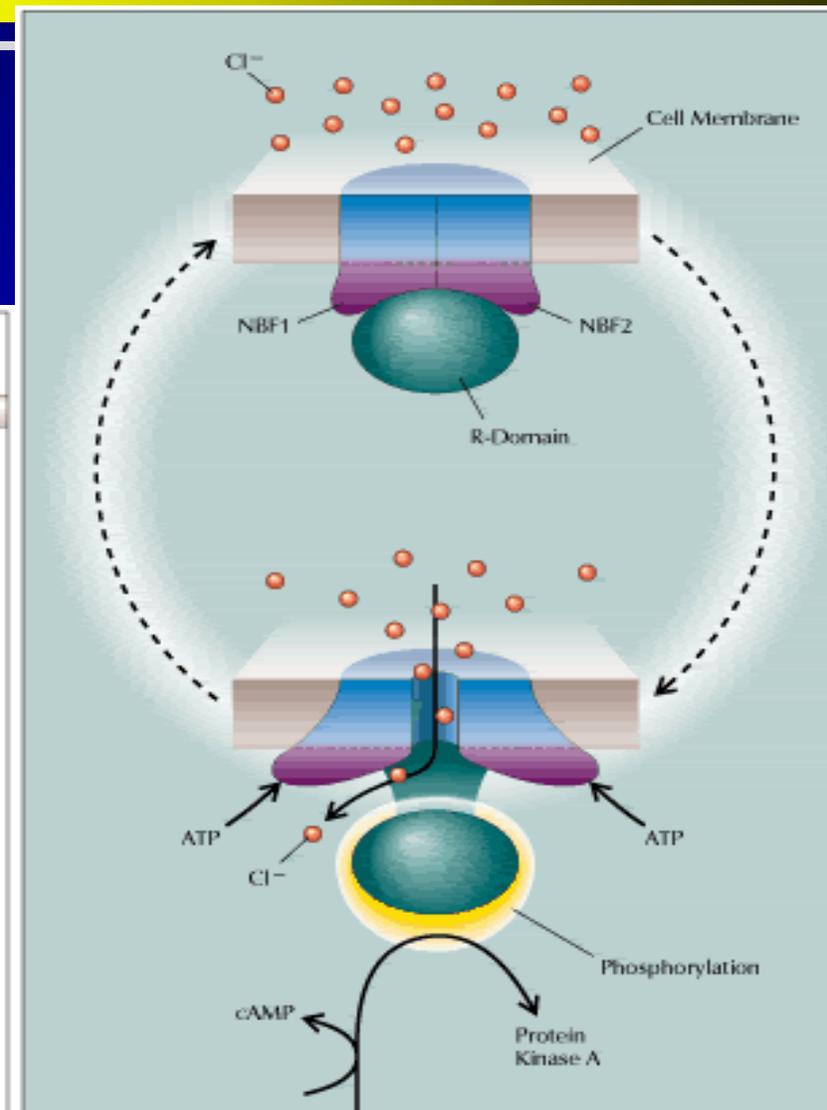
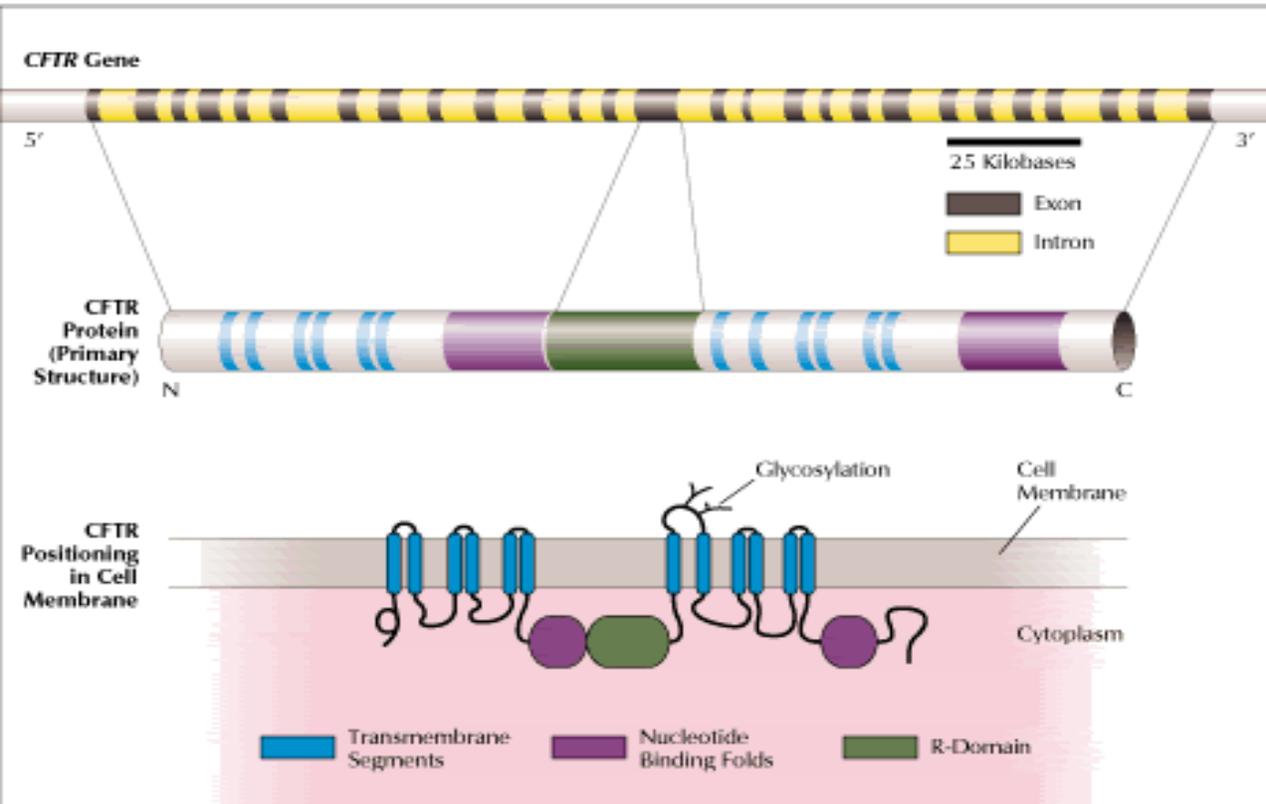
Polimorfismos comunes (alelos minor): Pro11Leu, i1ins., C386T, Ile340Met

Fibrosis Quistica

1:3,000

Transportador Cl, reg. ATP

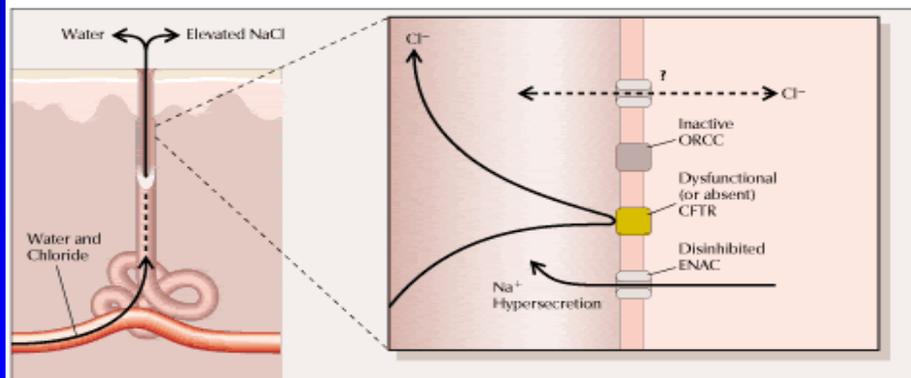
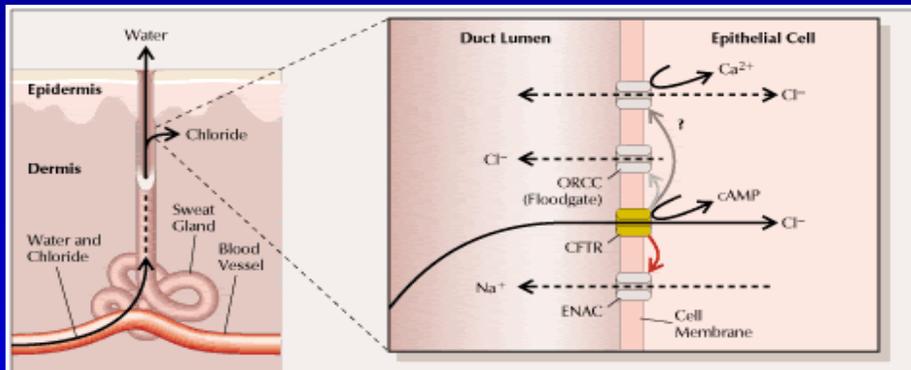
- glandulas epit.respiratorio
- conductos pancreaticos
- gl. sudoriparas



Segun el epitelio, CFTR media absorcion o excrecion

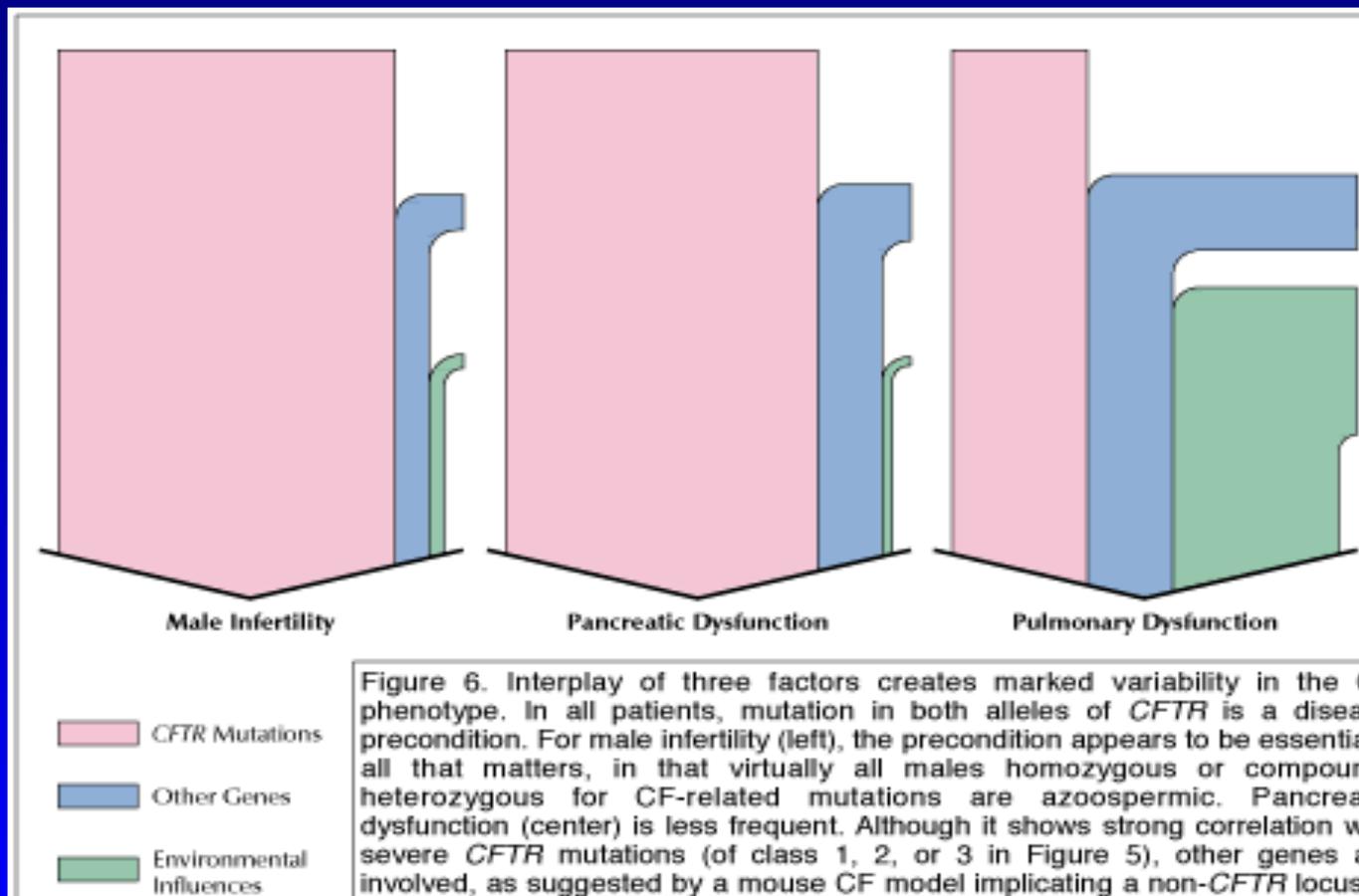
Gl.sudoripara:
(CFTR: absorcion)
FQ: sudor > Cl, Na

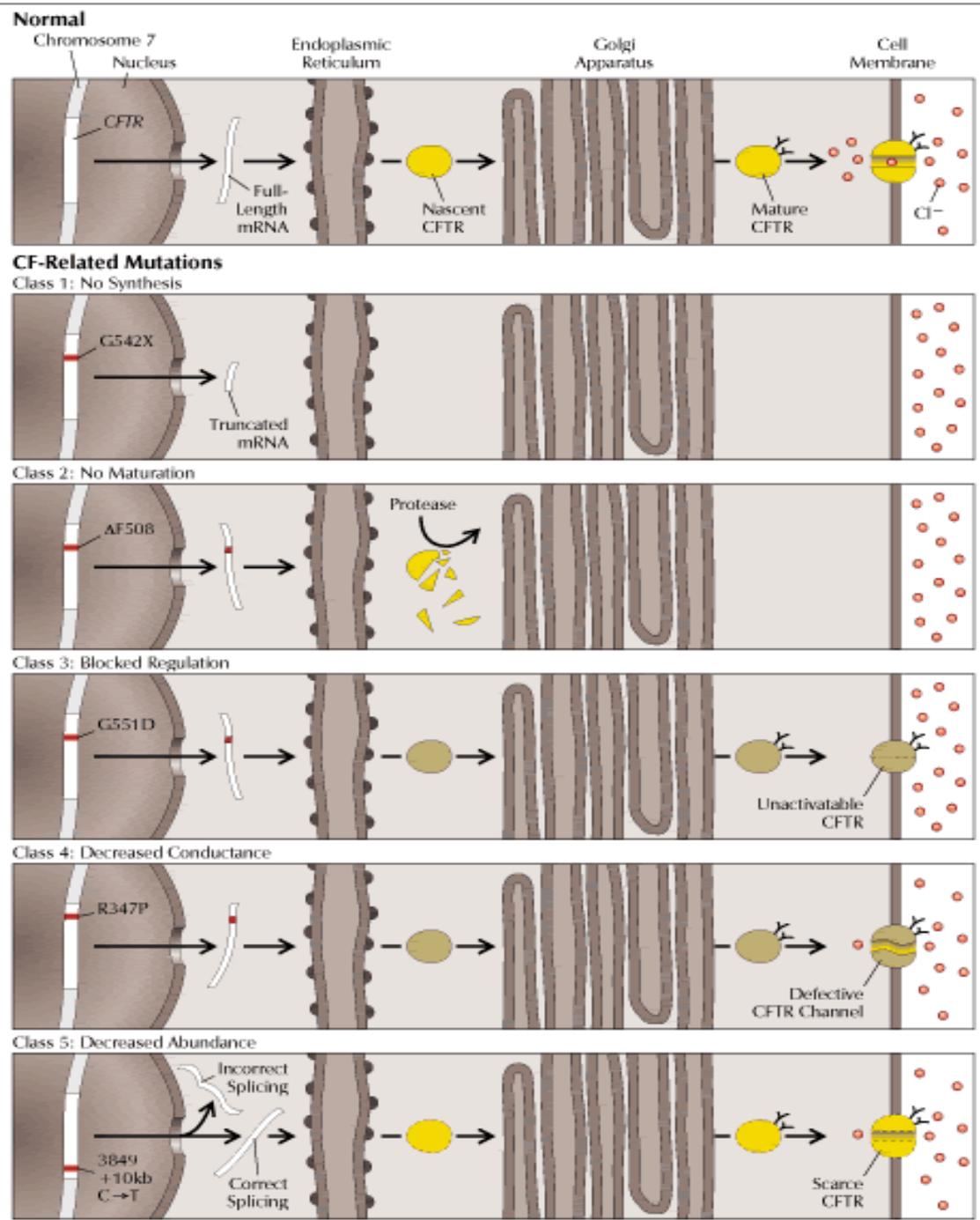
Gl.respiratoria, conductos:
(CFTR: excrecion)
FQ: no sale Cl, entra Na y H2O... deshidratacion de secreciones



Mendeliana no significa sin efecto ambiental

- enf. Pulmonar
- enf. Pancreatica
- Esterilidad
- Ileo meconial





Cientos de mutaciones diferentes

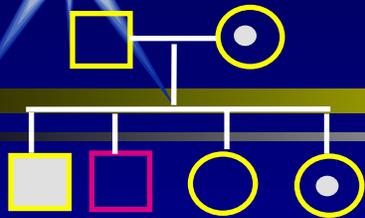
- pero una muy frecuente delF508 = 70%frec.alelica
- * 50% enf. homoZ
- * 40% enf. heteroZ.Comp

-desequilibrio ligamiento marcadores vecinos

- por que delF508 tan frec.? ventaja selectiva heteroZ (colera?)

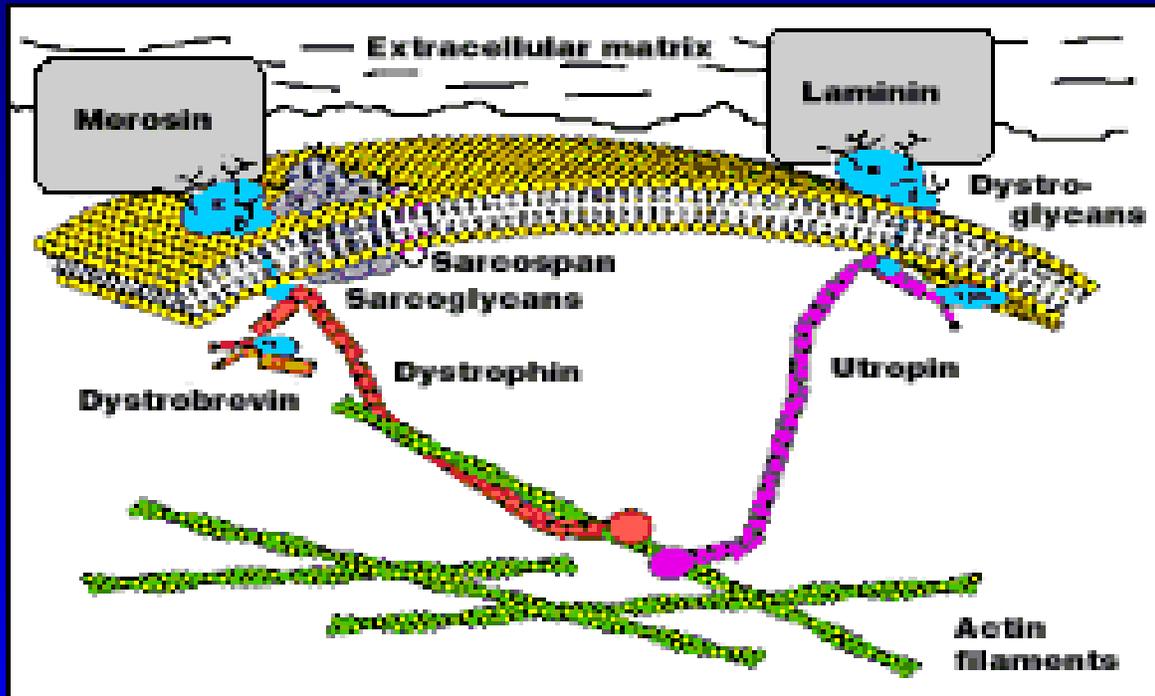
Figure 5. Five classes of CF-related mutation have differing ways of impairing a cell membrane's chloride

Enf. Duchenne / Becker



1/3 cromosomas con mutacion se pierden cada generacion

Si la incidencia se mantiene en 1.3300 varones, la frecuencia de mut.de novo debe ser $1/3 \times 1/3,300 = 1/ 10,000$

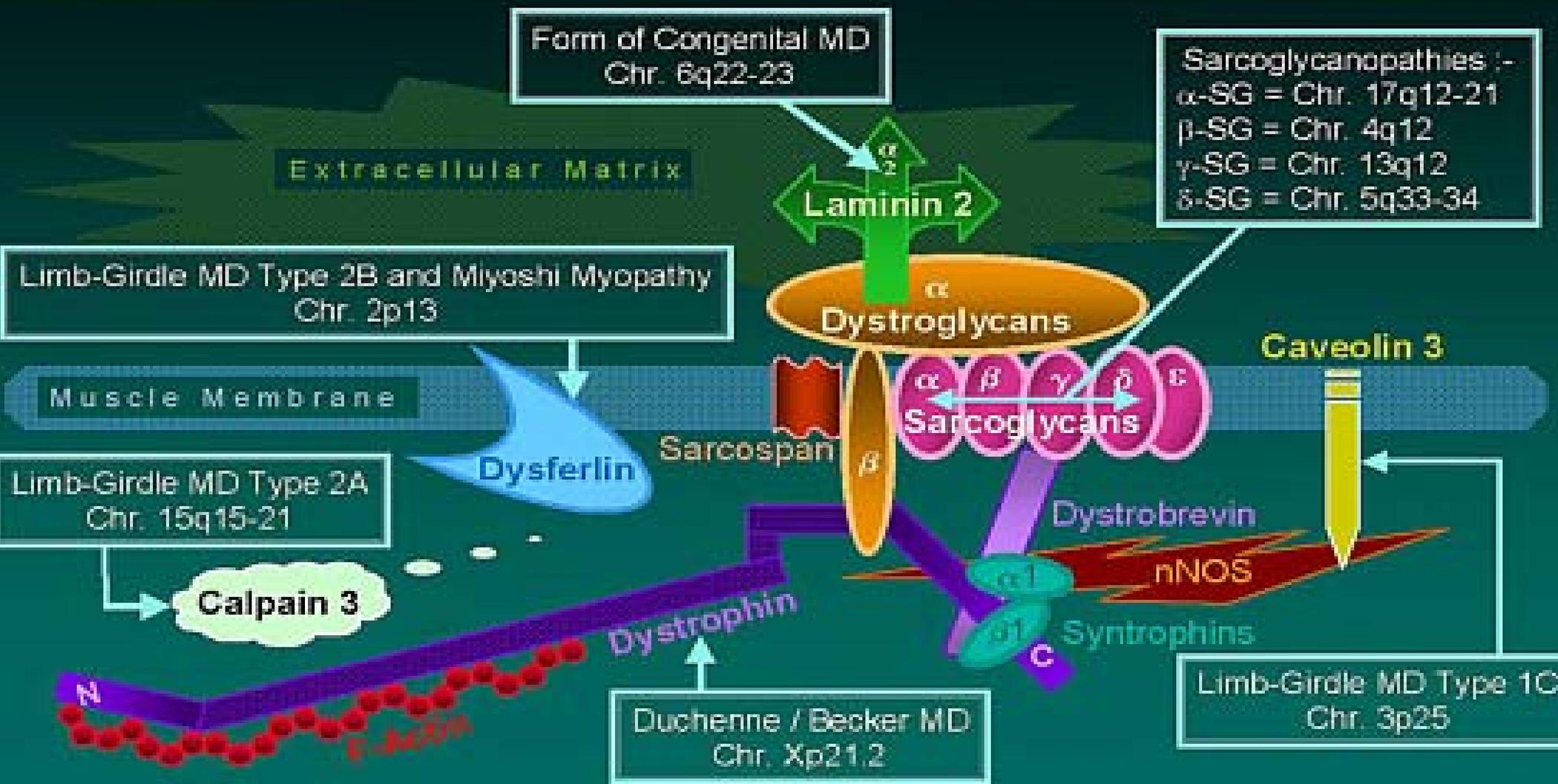


DMD:
2.3 Mbp
> 70 exones
-14 kb mRNA
-400 kDa distrofina

Mutacion mas frec.:
deleccion de varios exones,
perdida de ORF

Enf. Becker: deleccion que mantiene ORF, mutacion sentido erroneo

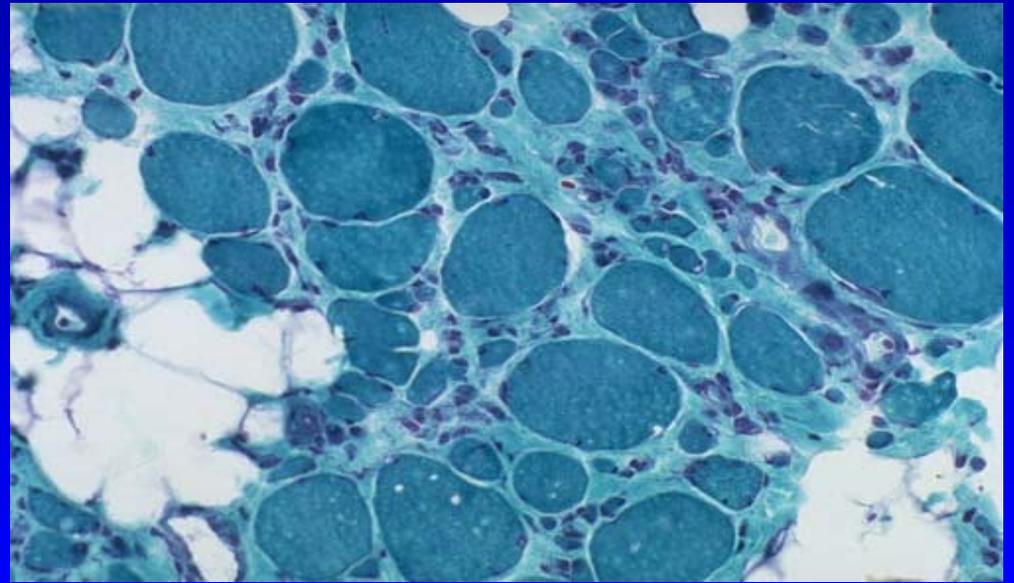
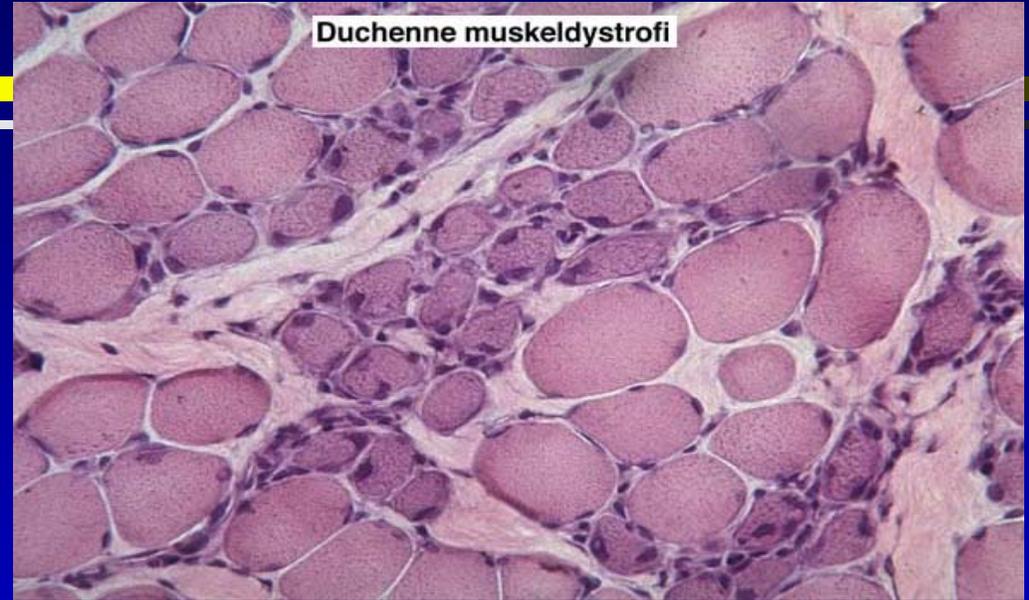
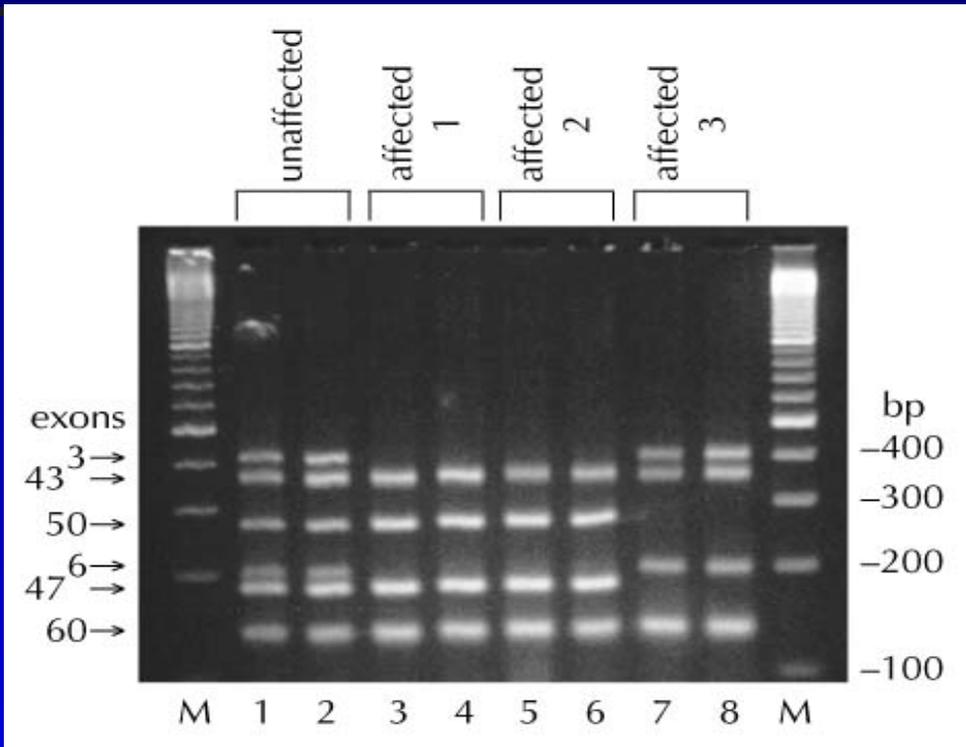
Membrane-Associated Proteins And Their Dystrophies





Delecciones

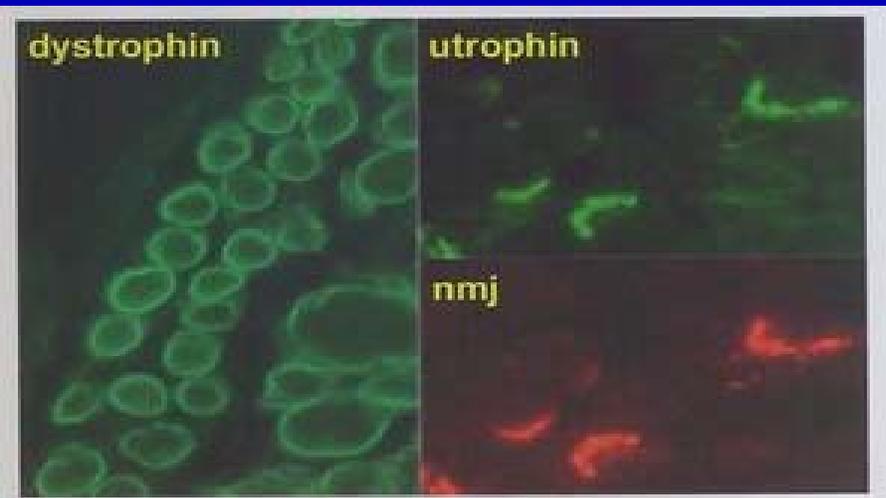
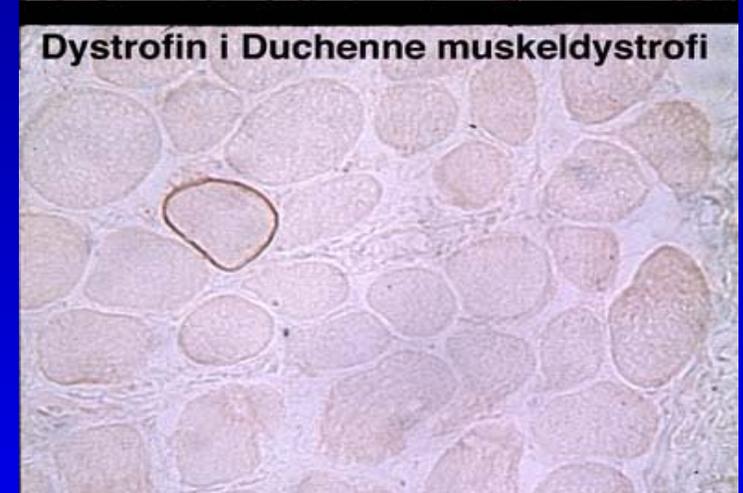
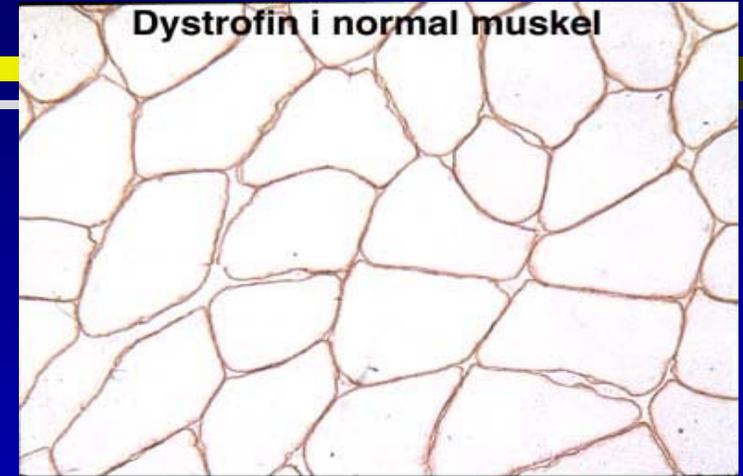
PCR multiplex



Degeneracion musculo
esqueletico
Pseudohipertrofia

Inactivacion cromosoma X: mujeres portadoras = mosaico

- anomalias cromosomicas (XO, translocaciones): mujer enferma



Utrofina
Union neuro-
muscular

Musc.ocular!!

Enfermedad conformacional

Sintesis
Proteica



Conformacion
No-Funcional



Conformacion
Funcional

Respuesta a proteina malplegada

Agregacion:

- Anemia Falciforme
- Alfa1-Antitripsina (ZZ)
- Huntington
- Alzheimer
- PH1 (I244T)

Degradacion:

Proteasoma

- Fibrosis Quistica (DF508)
- Hipercolesterol. Fam.
- Fenilcetonuria



Enf. Aut.Dom. principales

- Nervioso:** enf. Huntington, Neurofibromatosis
Distrofia miotonica, Esclerosis tuberosa
- Urinario:** enf. Poliquistica Renal A.D.
- Gastrointestinal:** poliposis coli familiar
- Hematopoyetico:**esferocitosis, enf. vWillebrand
- Esqueletico:** Osteogenesis imperfecta,
acondroplasia, Marfan, Ehlers-Danlos
- Metabolismo:** Hipercolesterolemia familiar,
Porfiria cutanea tarda



Mecanismos moleculares

-ganancia Fx.

tipos mutaciones

- dosis genica (PMP22 dupl., CMT-t.IA)
- aumento actividad (FGFR3, acondroplasia)

-perdida Fx.

tipos mutaciones

- haploinsuficiencia:
 - dosis genica (sin regulac.compens.) (LDLR, FHC)
 - proporcion subunidades: complejos multiprot. (COL1A, Ost.Imp.)
- efecto dominante negativo:
 - interaccion proteina-proteina

- Fx. nueva: toxicidad

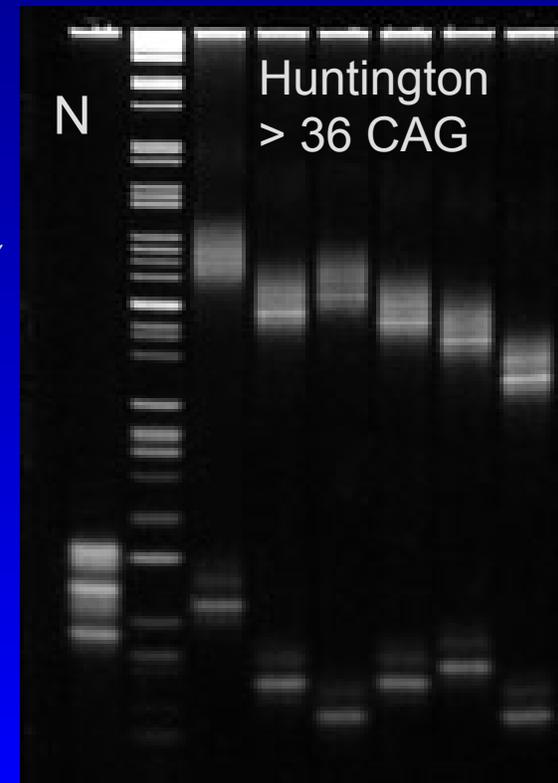
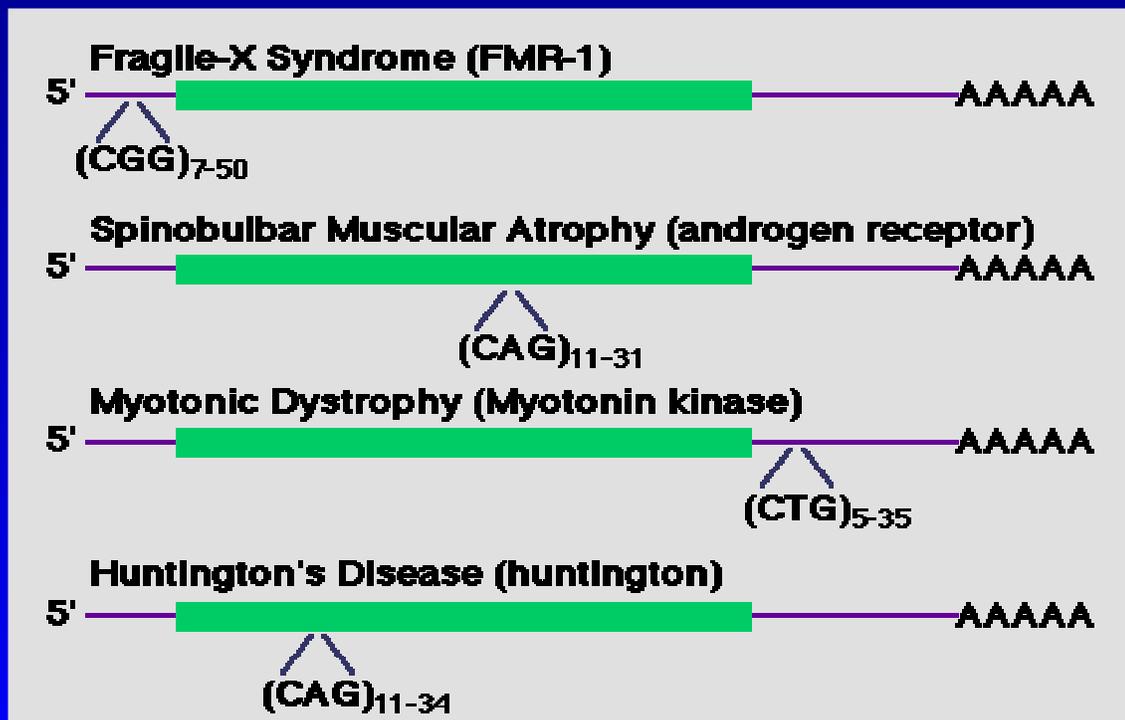
tipos mutaciones

- agregacion proteica (poliQ-HD)

Enf. Huntington

1:10-25,000

- mutacion original noroeste europeo, rara 'de novo'
- presentacion tardia (40-50a)
- anticipacion
- formas de presentacion temprana: transmision paterna



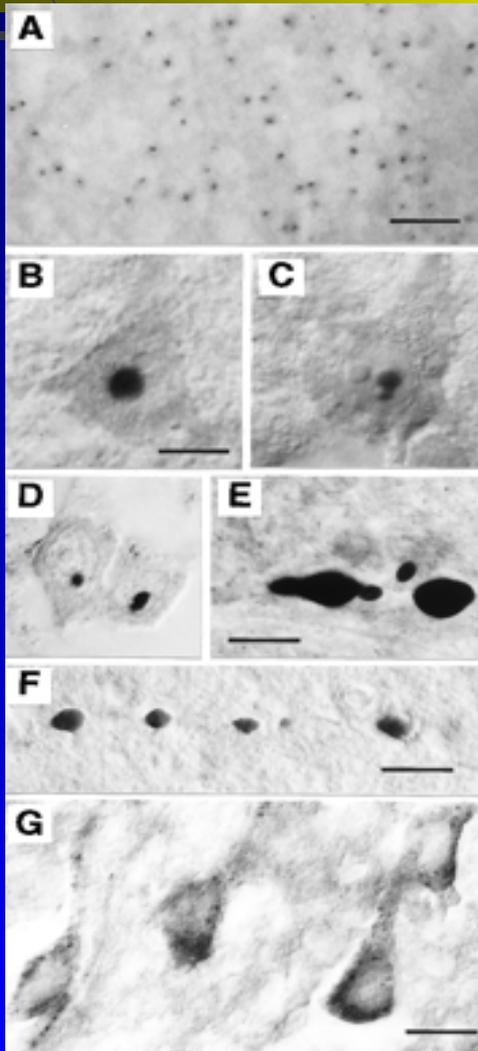


Poliglutamina..... Agregacion proteica: toxicidad

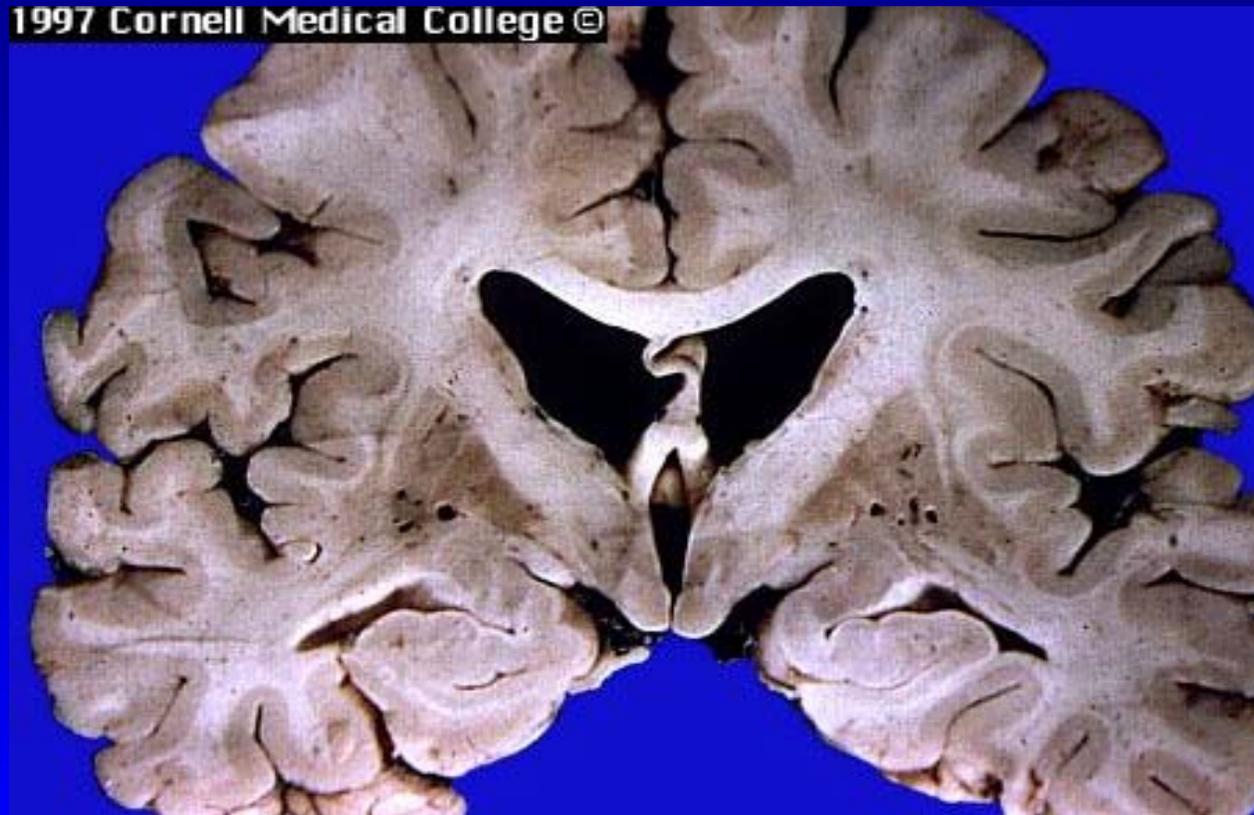
saturacion proteasoma

muerte neuronal (GABA+)

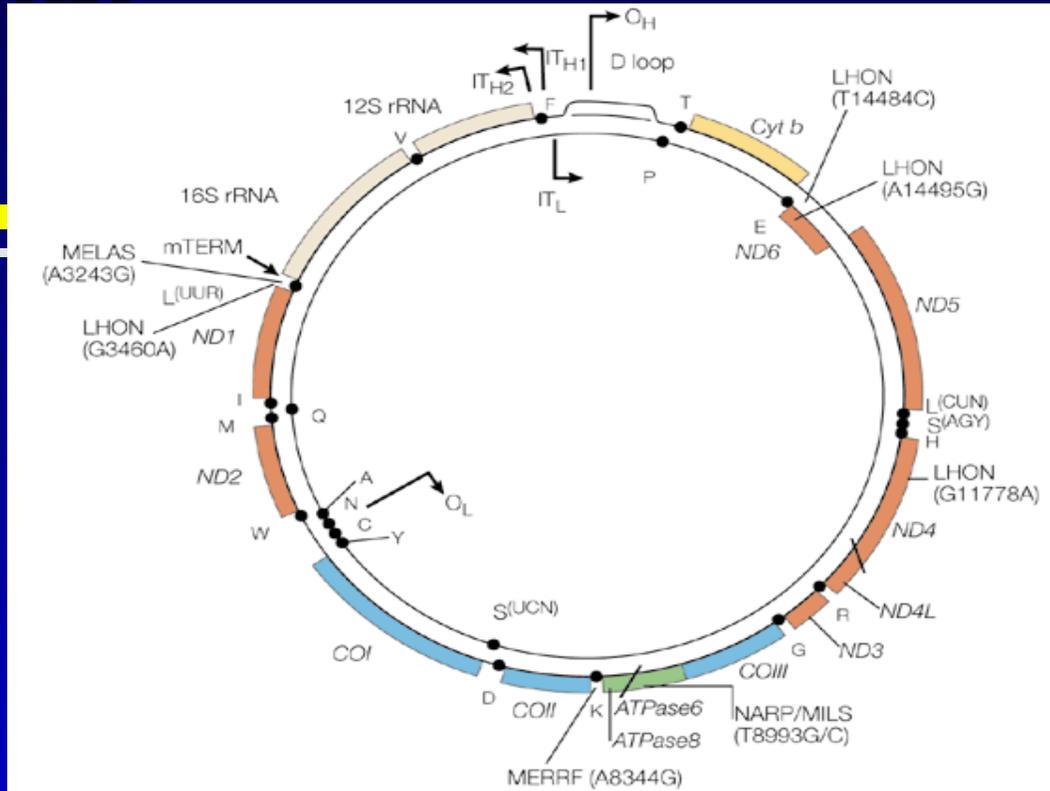
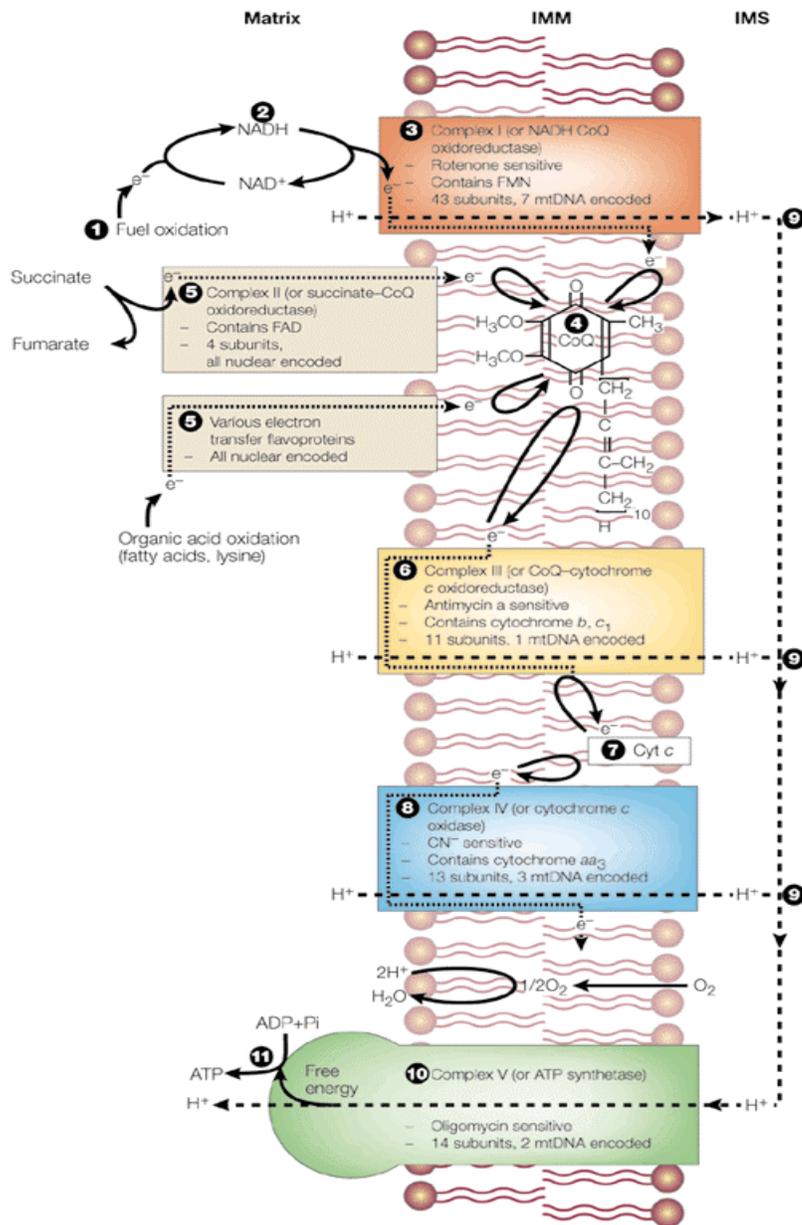
nucleos basales (caudado>putamen)



1997 Cornell Medical College ©



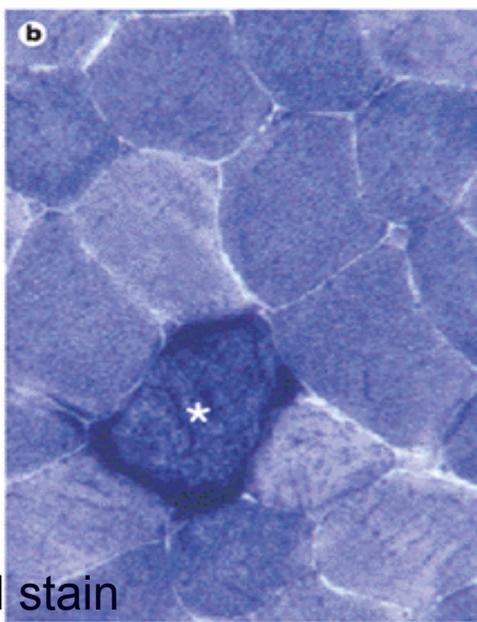
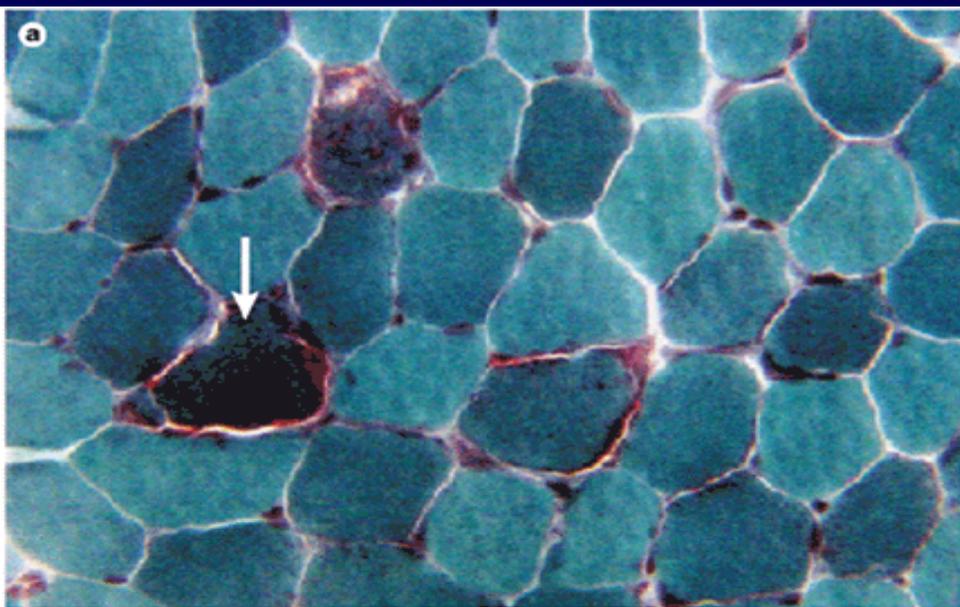
Enf. mitochondrial



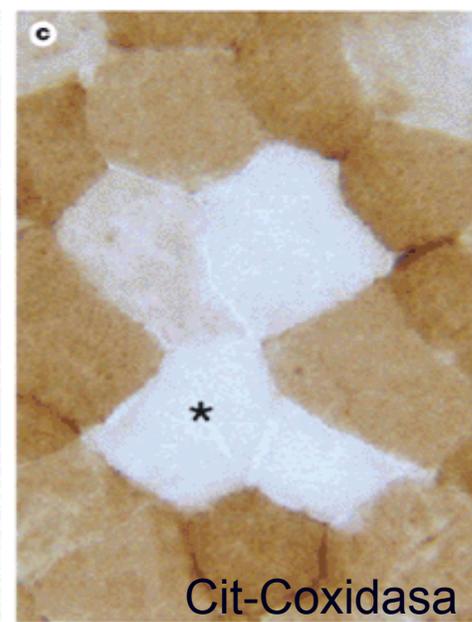
Neuropatia optica Leber
 Epilepsia mioclonica con fibras rojas
 desfleadas (MERRF)
 Sind. Leigh...



Fibras rojas desfleca- das



SuccDH stain



Cit-Coxidasa stain

Patologia del DNA mitocondrial

Mitochondrial defects

Point mutations

Protein-encoding genes

- Neurogenic weakness, ataxia and retinitis pigmentosa (NARP) – T8993G/C
- Maternally inherited Leigh syndrome (MILS) – T8993G/C
- Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) – G3460A, G11778A, T14484C and A14495G

tRNA genes

- Mitochondrial encephalopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) – A3243G
- Myoclonic epilepsy with ragged red fibres (MERRF) – A8344G
- Non-syndromic sensorineural deafness – A7445G

rRNA genes

- Aminoglycoside-induced non-syndromic deafness – A1555G

Rearrangements

- Chronic progressive external ophthalmoplegia
- Kearns–Sayre syndrome
- Diabetes and deafness

Nuclear defects

Structural OXPHOS defects

Complex I deficiency

- Leigh and Leigh-like syndrome – *NDUFS4*, *NDUFS7* and *NDUFS8*
- Hypertrophic cardiomyopathy and encephalomyopathy – *NDUFS2*
- Macrocephaly, leucodystrophy and myoclonic epilepsy – *NDUFV1*

Complex II deficiency

- Leigh and Leigh-like syndrome – *FP*

Non-structural OXPHOS defects

Intergenomic communication defects

- Autosomal dominant progressive external ophthalmoplegia (adPEO) – *ANT1*
- Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE) – *TP*

Assembly defects (complex IV)

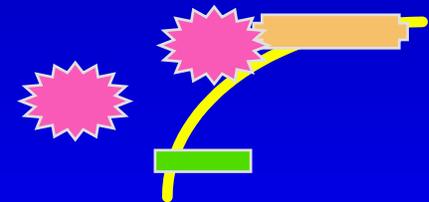
- Leigh syndrome – *SURF1*
- Cardioencephalomyopathy – *SCO2*
- Neonatal-onset hepatic failure and encephalopathy – *SCO1*
- Leigh and De Toni–Fanconi–Debre syndrome – *COX10*

Homeostasis and import

- Friedreich's ataxia – frataxin
- Hereditary spastic paraplegia – paraplegin
- Deafness–dystonia syndrome – *DDP*
- Dominant optic atrophy – *OPA1*

Enf. infecciosas

- TM causa principal: agente vivo (ambiental)**
- TM susceptibilidad: determinada genéticamente**
 - monogénica (excepcional):
 - Inmunodeficiencia congénita**
 - poligénica (usual): ej.
 - # CCR-5 (delección 32bp): co-receptor HIV, 1% homocigóticos (resistencia a HIV)



HLA, homocigosidad : susceptibilidad

Xenobióticos: tóxicos, fármacos

TM **Activación (fase I): pro-carcinógeno... genotóxico**

- genes del complejo P450:

CYP1A1, tabaco

CYP2D6, complejo debrisoquina ... (>30 fármacos)

CYP2E1, nitrosaminas

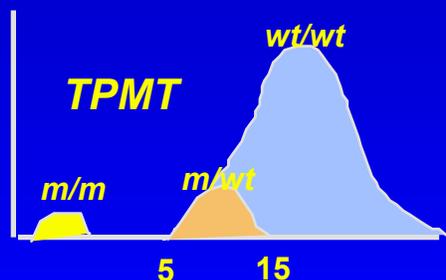
CYP3A4, FK506, antineoplásicos

TM **Eliminación (fase II): hidrosolubles**

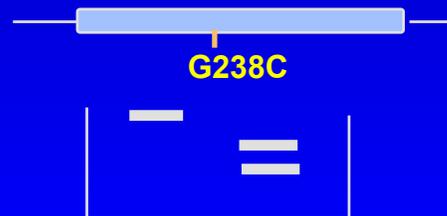
- NAcetilTransferasas

- Glutation- UDP- glucuronosil transferasa

- Metilasas y Metil transferasas



metabolismo de mercaptopurinas y tioguaninas



10% portadores
1/300 déf. TPMT

toxicidad médula ósea

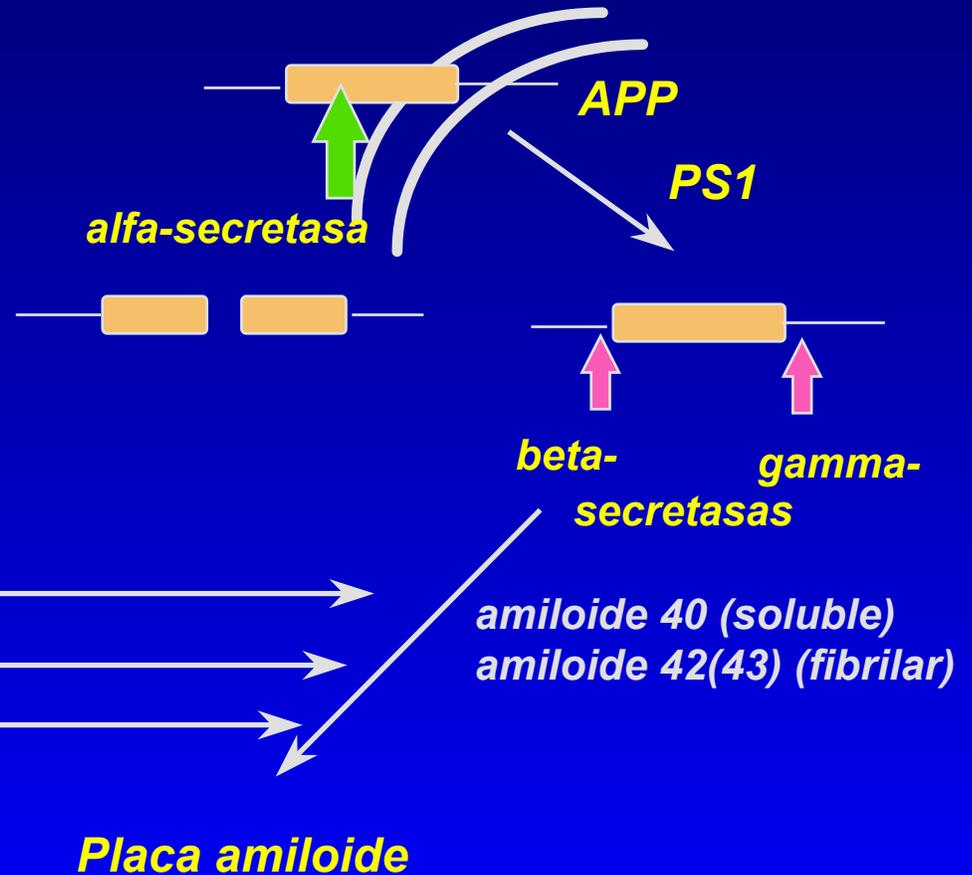
Enf. Alzheimer

TM Familiar (A.D.) (<10%)

- APP
- PS1
- PS2

TM Esporádica (>90%)

- APOE
- A2M
- LRP
-



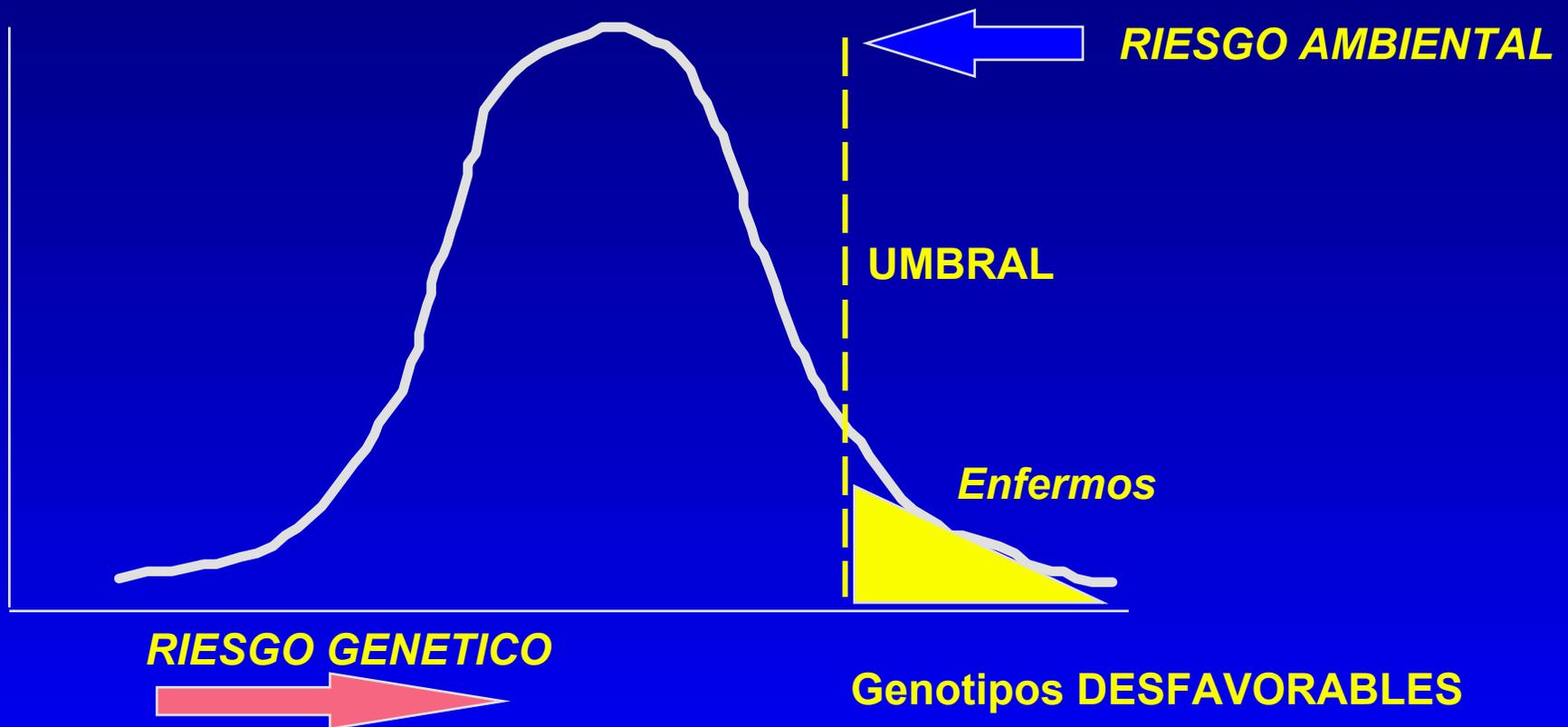


Escrutinio del genoma (GWS)

- TM Panel de ~ 300 marcadores distribuidos homogéneamente por el genoma**
- TM Parejas de hermanos - afectados -no-afectos estudio de ligamiento**
 - Diabetes: IDDM1 = HLA, cr.6p
IDDM2 = Insulina, cr.11p
IDDM4, 5,... 18
 - Asma
 - Celiaquía
 - Enf.Inflamatoria Intestinal....

Enf. Multifactoriales

características de variación continua





Patología del desarrollo

- organismo multicelular complejo: expresión genética regulada tiempo / espacio
- primeros 2 meses decisivos: sensibilidad a teratogénos
- línea celular vs. tejidos definitivos (participan varias líneas)

- contribución de organismos modelo: mosca, gusano, pez, ratón

ej. genes HOMEODOMAIN: mutaciones homeóticas (cambio identidad segmentos)

*colinearidad: patrón expresión / localización cromosómica

humanos: familias de genes HOX (>38 genes) factores transcripción

“evolución molecular”, conservación de dominios funcionales “homeobox”

(60 Aa, unión DNA)

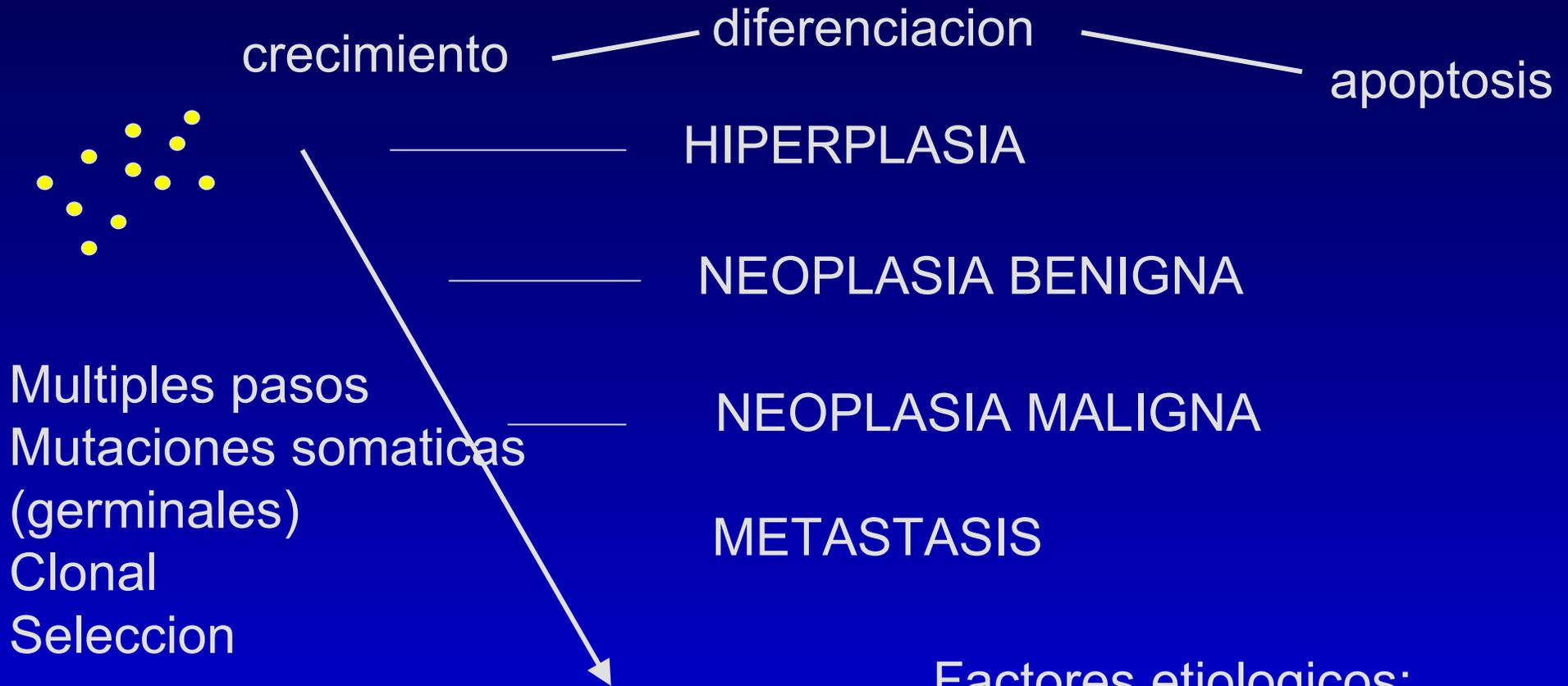
ej. Enf. WAARDENBURG (sordera, parches blancos...) / ratón Splotch

*regiones sinténicas 2q37 ... chr.1prox

-Pax3: expresión neural, chr.1 prox

-PAX3 humano, ortólogo, mutaciones en enf. Waardenburg

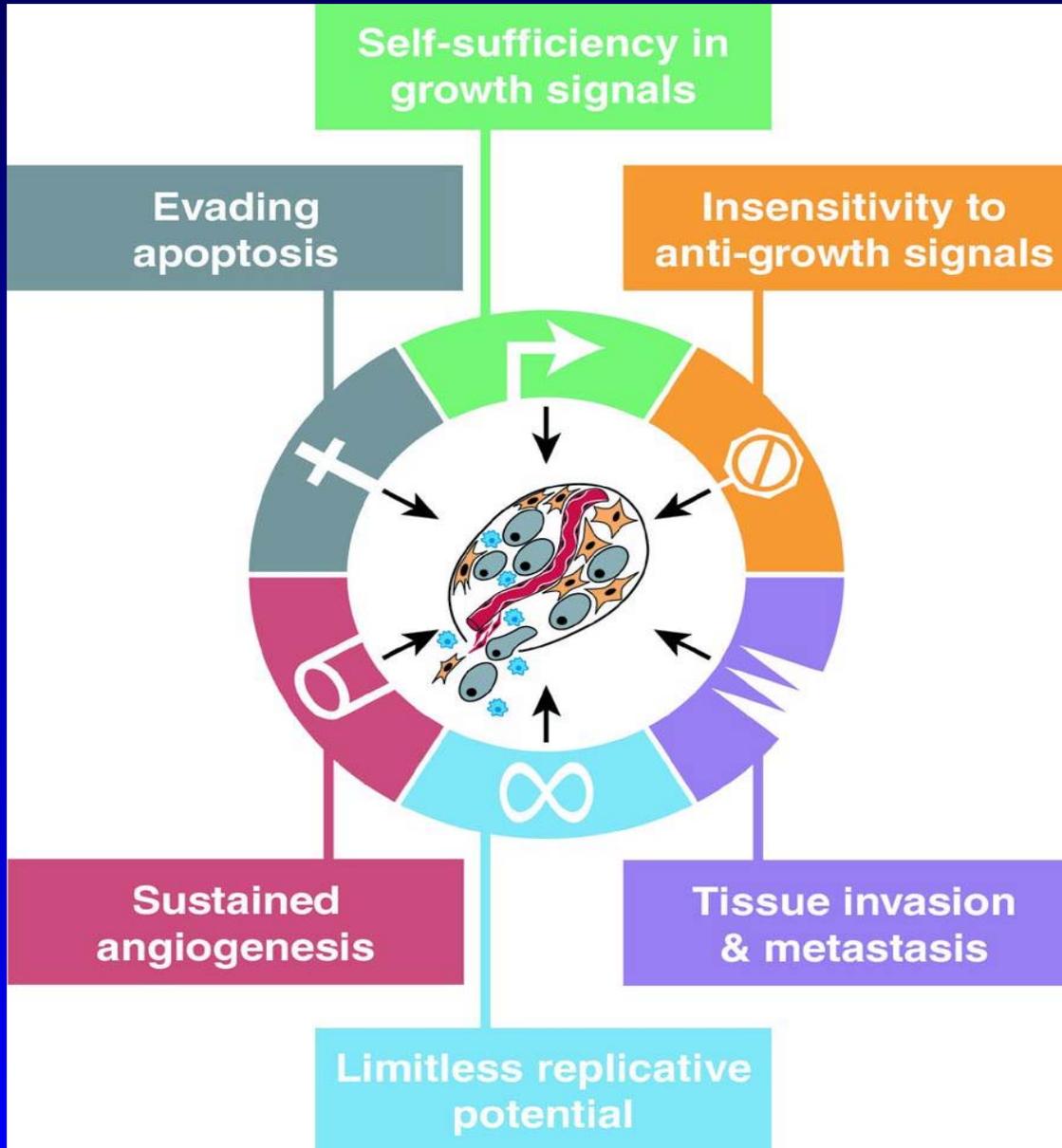
GENÉTICA MOLECULAR DE LAS NEOPLASIAS



Factores etiologicos:

- Hereditarios
- Hormonas
- Mutagenos
- Virus

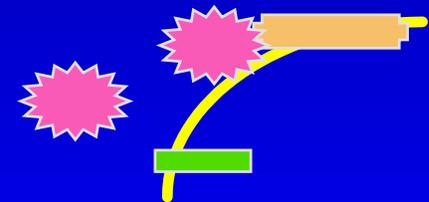
Requerimientos de un cáncer



Enf. infecciosas

- TM causa principal: agente vivo (ambiental)
- TM susceptibilidad: determinada genéticamente
 - monogénica (excepcional):
Inmunodeficiencia congénita
 - poligénica (usual): ej.
CCR-5 (delección 32bp): co-receptor HIV, 1% homocigóticos (resistencia a HIV)

HLA, homocigosidad : susceptibilidad





Pat.Molecular Forense

-estudios de paternidad

-identificacion de muestras:

sangre, manchas (sangre, semen, otros), pelos, saliva, huesos, dientes, tejidos...

exclusion: 1/3

identif.positiva: - identidad – coincidencia –error

- polimorfismos

- estadística

Polimorfismos DNA

- RFLP
- VNTR: -monocus
-multocus
- Microsatelites (STR)
- SNPs
- secuencia
mitochondrial

