

ARTÍCULO ESPECIAL

El genoma humano: aplicaciones en la práctica pediátrica

J Benítez Ortiz¹, E Guillén Navarro², I Arroyo Carrera³, E Galán Gómez⁴

¹Departamento de Genética Humana, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, Madrid.

²Departamento de Pediatría, Hospital Virgen de la Arrixaca, Murcia. ³Servicio de Pediatría, Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres. ⁴Unidad de Genética, Departamento de Pediatría y Unidad de Prevención de Minusvalías, Hospital Materno Infantil-H. Infanta Cristina, SES y Facultad de Medicina UNEX, Badajoz

El 26 de junio del 2000, en Washington (La Casa Blanca), Francis Collins (Director del HGP del NIH) y Craig Venter (Presidente de Celera Genomics Inc) anunciaron el final del primer borrador público y privado de la secuencia de los 3 billones de bases del genoma humano. Estos resultados fueron publicados en febrero del 2001 en *Nature*⁽¹⁾ y *Science*⁽²⁾ respectivamente, y están disponibles a través de la Web en <http://www.ensembl.org/> y <http://public.celera.com/cds/login.cfm>.

Todas las células de un ser vivo contienen en su interior una estructura conocida como ADN donde se encuentra toda nuestra información genética, en concreto entre 30.000-40.000 genes (cifra que se baraja actualmente) que se calcula que tenemos. El ADN está formado por 4 bases nitrogenadas: adenina (A), timina (T), guanina (G) y citosina (C), que se encuentran en número superior a los 3.000 millones. Las combinaciones de estas bases de tres en tres dan lugar a un aminoácido (aa), y un conjunto de aa a un gen. Los genes van a dar lugar a las proteínas, y éstas van a tener una función específica en el organismo (anticuerpos, insulina, colágeno etc.). Nuestros genes van a ser capaces de generar un millón de proteínas, y ésta es la gran diferencia con las especies inferiores de las que conocemos el genoma, como la mosca o el gusano, que tienen la mitad de genes que los hombres. La diferencia es la capacidad que tiene un gen de generar no una sola proteína sino múltiples, dando lugar a una gran variedad de ellas. Por otro lado, los genes están conservados entre las especies, de manera que el chimpancé y el hombre comparten el 98% de su genoma y el ratón con el hombre, el 90%. A medida que se baja en la escala evolutiva este porcentaje desciende pero se mantienen en común los genes críticos para el desarrollo y funcionalidad de los distintos órganos.

El proyecto *Genoma* surgió como un esfuerzo internacional con el objetivo de llegar a identificar y conocer los genes que configuran nuestro patrimonio

genético. Asimismo se quería llegar a conocer las proteínas que codifican y la función que tenía cada una de ellas. En 1991 surge oficialmente el proyecto con el pensamiento puesto en el final para el año 2020. Durante los primeros años se desarrollaron estrategias que permitieron ir identificando genes en el genoma (mapas genéticos) y clonándolos, es decir, consiguiendo saber dónde se encontraba el principio y el final del gen (mapas físicos). Después vino una fase consistente en "ordenar" todos los fragmentos del genoma en un continuo de DNA; todo el material genético, fragmentado en millones de piezas de 150 Kb por término medio y guardados en las llamadas "genotecas", en el interior de bacterias o levaduras, tuvo que ir organizándose en fragmentos un poco mayores (Mb) y después cubriendo regiones cromosómicas. A partir de 1998, una vez ordenado el genoma o la mayoría del mismo, vino la segunda etapa, descifrar los 3.000 millones de bases que configuran el ADN. Esto fue posible gracias al desarrollo técnico experimentado en esos años, principalmente de la mano de las nuevas tecnologías moleculares (secuenciación) y de la informática. A principio del 2001 se hizo pública la secuencia provisional del genoma por los dos grupos, público y privado, mencionados al principio. Nuestra secuencia se espera tenerla totalmente terminada en el 2003 junto con el mapa completo de todos los genes para el 2005.

Las aplicaciones del conocimiento actual del genoma humano son las siguientes:

1. IDENTIFICACIÓN DE GENES RESPONSABLES DE ENFERMEDADES GENÉTICAS

La identificación génica constituye el punto de partida fundamental para el conocimiento de la enfermedad. Hasta ahora se han identificado un millar de genes causantes de enfermedades pero aún es preciso un gran esfuerzo para caracterizar los restantes.

Las bases de datos del genoma humano, apoyados por la información de la estructura génica y el gran desarrollo biotecnológico, están facilitando enormemente la identificación rápida de *genes candidatos*. Estos recursos hacen posible que actualmente, en sólo unos meses y con un buen equipo de trabajo, se pueda identificar el gen responsable de una enfermedad mendeliana. En los últimos años muchos genes se han clonado a partir de la información proporcionada por las secuencias publicadas; algunos de ellos se describen en la tabla I⁽¹⁾.

Esta secuencia inicial del genoma humano también ha permitido la identificación de *genes parálogos* (aquellos que tienen más de una copia en el genoma, con posibles modificaciones). Según los datos disponibles, en el genoma humano existe un grado significativo de duplicación segmentaria del ADN (10 a 100 veces mayor que el observado en los genomas de la mosca y el gusano)⁽³⁾. Muchos genes causantes de enfermedades pueden tener genes parálogos en los segmentos duplicados, cuyas mutaciones pueden dar lugar a enfermedades genéticamente relacionadas. La identificación de estos genes parálogos tiene, por tanto, gran importancia clínica. La vía de investigación de la acromatopsia (ceguera total a los colores) constituye un buen ejemplo del éxito de esta estrategia. Tras conocer que algunas familias presentaban mutaciones a nivel del gen CNGA3, que codifica la subunidad alfa del canal GMPc del cono, se realizó la búsqueda informatizada en la secuencia genómica de su gen parálogo, con cierto grado de identidad y coincidencia de aminoácidos. Esto per-

mitió la identificación del gen CNGB3 que codifica la correspondiente subunidad beta del canal GMPc del cono. Poco tiempo después se demostró que otras familias con acromatopsia presentaban mutaciones en el gen CNGB3, confirmando su papel etiológico⁽¹⁾.

La secuencia del genoma también ha contribuido al conocimiento de los mecanismos subyacentes de algunos síndromes muy conocidos de microdelección cromosómica como el síndrome de DiGeorge/velocardiofacial y el síndrome de Williams-Beuren. Se ha visto que estas deleciones recurrentes son el resultado de recombinaciones homólogas y entrecruzamientos desiguales entre segmentos idénticos de duplicación existentes en los cromosomas 22 y 7, respectivamente.

La identificación del gen implicado en una enfermedad, incluso antes de conocer su función exacta, puede aplicarse al diagnóstico (figura 1)⁽⁴⁾ a través de la detección de sus mutaciones. Los análisis genéticos constituyen la aplicación comercial más inmediata de estos descubrimientos y la más utilizada por los clínicos. Pueden realizarse en cualquier etapa de la vida, prenatal o postnatal. Actualmente existe diagnóstico prenatal de muchas enfermedades genéticas. Dentro del diagnóstico, uno de los campos pediátricos más importantes de diagnóstico de enfermedades genéticas es el cribado (*screening*) neonatal. Una enfermedad genética que debería incluirse en el cribado neonatal debido a su gravedad y alta incidencia en nuestro medio es la fibrosis quística (FQ) con una estrategia de dos tiempos: determinación de tripsinógeno inmunorreactivo en sangre del papel de filtro seguido por un panel que identifique las mutaciones más prevalentes. Se ha demostrado (estudios en Wisconsin y Nueva Gales del Sur) que el diagnóstico de la enfermedad en el período neonatal mejora el estado pulmonar y nutricional a largo plazo^(5,6). En nuestro país se realiza el cribado neonatal de la FQ en la actualidad en 2 centros de las comunidades de Castilla y Cataluña. Otra patología con cribado neonatal que debe incluir pruebas funcionales (otoemisiones acústicas + PEATC confirmatorios) y moleculares es la sordera^(7,8). El diagnóstico temprano permitirá intervenciones precoces cuando el sistema nervioso central todavía es lo suficientemente plástico como para que se puedan establecer conexiones para el procesamiento o amplificación de las señales que permitan la consecución de un lenguaje óptimo. La sordera congénita tiene una frecuencia de 1 por cada 500-1.000 recién nacidos siendo aproximadamente la mitad de los casos de origen genético. Las mutaciones en el gen de la conexina-26

Tabla I Genes identificados usando la secuencia del genoma humano

Gen	Enfermedad
PEX1	Enfermedad de la biogénesis peroxisomal
SEDL	Displasia espondiloepifisiaria tarda ligada a X
CCM1	Malformaciones cavernosas cerebrales
EVC	Síndrome de Ellis -Van Creveld
	Disostosis acrodental de Weyer
SCN1A	Epilepsia generalizada con convulsiones febriles tipo 2
MUL	Nanismo de Mulibrey
MYH9	Sordera hereditaria no sindrómica DFNA17
FGF23	Raquitismo hipofosfatémico
HSPG2	Síndrome de Schwartz-Jampel

representan aproximadamente el 50% de los casos con sordera congénita no sindrómica autosómica recesiva, lo que implica una tasa de mutación del 4% de la población aunque esta tasa y el tipo de alelos mutados varía según los diferentes grupos étnicos. La identificación de la mutación del gen de la conexina-26 como origen del *screening* neonatal alterado reconoce a un grupo de pacientes que en la mayoría de los casos presentan una afectación de la audición severa-profunda y cuyo manejo debe ser agresivo beneficiándose muchos niños del implante coclear.

Los análisis genéticos también se aplican para la identificación de portadores de enfermedades recesivas o ligadas al sexo, en período sintomático para confirmación de la enfermedad y en período presintomático para aquellas enfermedades de instauración más tardía (diagnóstico predictivo). En este último caso el diagnóstico genético es más efectivo cuando existe una estrategia preventiva para reducir el riesgo en personas predispuestas a padecer una enfermedad (detección precoz y cambios en el estilo de vida en algunos cánceres) o para disminuir su morbi-mortalidad a través de medidas terapéuticas precoces (hemocromatosis hereditaria). Cuando esta posibilidad no existe (corea de Huntington, por ejemplo) su aplicación es muy cuestionable (por los problemas que puede ocasionar a nivel psicológico, de la certeza del padecimiento de una enfermedad en el futuro para la que no existe ninguna prevención o terapia). El *diagnóstico predictivo* de algunos cánceres hereditarios a través del estudio de genes de susceptibilidad tiene además unas características especiales que obligan a ser muy cauteloso en el manejo y transmisión de la información. El ser portador de un gen de susceptibilidad confiere un riesgo mayor, habitualmente entre el 70 y el 80%, para desarrollar la enfermedad; pero no significa que en el 100% de los casos se vaya a padecer. La aplicación de este tipo de estudios en familias con historia de cáncer colorrectal no polipósico hereditario, por ejemplo, permite identificar quién es portador de una mutación del gen de susceptibilidad implicado y quién no lo es. De esta manera, se pueden seleccionar a aquellos individuos que van a beneficiarse de colonoscopias periódicas que detecten precozmente la enfermedad y mejoren su pronóstico. Además los estudios también sirven para evitar estos procedimientos de detección precoz en aquellos miembros de la familia que estén libres de la alteración genética. Existe otra consideración que hacer cuando se maneja el diagnóstico predictivo y es la confidencialidad de los datos, ya que el conoci-

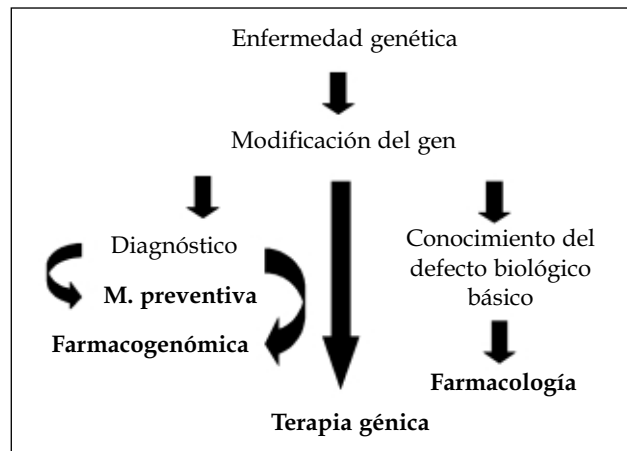


Figura 1. Aplicaciones del conocimiento del genoma humano ⁽⁴⁾.

miento de esta información puede acarrear problemas de discriminación social, sobre todo a nivel laboral y de empresas de seguros. Por tanto, teniendo en cuenta todo lo anterior, es fundamental que antes de instaurar de forma masiva para el diagnóstico un análisis genético predictivo se esté muy seguro de su validez y utilidad clínica. Esta preocupación ha propiciado la creación de comités que supervisan análisis genéticos, especialmente cuando son análisis predictivos realizados en personas sanas. Recientemente la Academia Americana de Pediatría publicó las indicaciones para la realización de análisis genéticos en los niños y adolescentes ⁽⁹⁾.

2. IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS

Menos del 0,1% del genoma humano es variable entre los distintos individuos. Las formas más frecuentes de variación del ADN son los polimorfismos de un único nucleótido (SNP), que son sustituciones de una base por otra en un locus determinado, presentes en más del 1% de la población. Por definición los polimorfismos no alteran el fenotipo (neutrales), pero esto no es totalmente correcto ya que en determinadas condiciones ambientales podrían modificarlo (afectan a la función génica). Hasta la fecha se han identificado más de 2 millones de SNPs^(2,10), de ellos, menos del 1% codifican un cambio de aminoácido en la proteína. Por tanto, existen miles de variaciones genéticas que contribuyen directamente a la diversidad estructural genética del ser humano y es importante descubrir cómo, incluso en regiones no codificantes, afectan a la función génica. Se está realizando

secuenciación y genotipado a gran escala para definir la frecuencia de estas variaciones en las distintas poblaciones.

La identificación de estos polimorfismos está favoreciendo el avance en los ámbitos diagnóstico y terapéutico. Las variaciones de ADN, en forma de SNPs, tiene implicaciones clínicas ya que pueden influir en el curso clínico y la respuesta a un tratamiento (efectividad y toxicidad de un medicamento). Esto está permitiendo el desarrollo de una nueva disciplina, la *farmacogenómica*, que utiliza la información de la variación genética para predecir las respuestas a los tratamientos. Ya existen numerosos ejemplos de interés en la práctica médica. Así, por ejemplo, en la actualidad sabemos que las variantes del receptor β adrenérgico pueden alterar la hiperreactividad bronquial y la respuesta a los β agonistas inhalados⁽⁴⁾. El conocimiento de estos datos en cada paciente permitiría elegir el tratamiento más adecuado según sus características genéticas. En este sentido, King et al⁽¹¹⁾ publicaron recientemente que la profilaxis con tamoxifeno disminuía la incidencia de cáncer de mama en mujeres con mutaciones en BRCA2 y no en aquellas con mutaciones en BRCA1. En espera de estudios de confirmación, éste sería un buen ejemplo de quimioprofilaxis eficaz basada en el genotipo.

Los efectos adversos asociados al metabolismo de los fármacos también podrían evitarse tras la identificación de los polimorfismos en las enzimas implicadas. Se ha visto que el citocromo P450 (CYP2D6), enzima implicada en el metabolismo del 25% de todos los fármacos prescritos, podría ser responsable de gran número de reacciones adversas por el elevado número de variaciones que presenta. Aunque la mayoría de fármacos siguen complejas vías de metabolismo, en algunos casos se podrían seleccionar medicamentos que no se metabolizarán a través de CYP2D6 con el objetivo de anular los efectos indeseables asociados. Actualmente está en desarrollo un test clínico para esta enzima y puede estar disponible en los próximos años⁽¹²⁾. La identificación de la variación genética permitirá subclasificar las enfermedades y adaptar los tratamientos individualmente según el genotipo.

3. IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS OBJETIVOS TERAPÉUTICOS

La gran esperanza de la comprensión total del genoma humano radica en llegar a aclarar la base molecular de las enfermedades para así avanzar en

su tratamiento. La información obtenida de la secuenciación del genoma humano permite la identificación de nuevos objetivos terapéuticos. Con este fin, desde hace algunos años la industria farmacéutica se está dedicando a la investigación genómica, habiéndose identificado hasta estos momentos en torno a los 500 objetivos terapéuticos⁽¹³⁾. El International Human Genome Consortium⁽¹⁾ ha buscado parálogos de objetivos terapéuticos proteínicos clásicos en el borrador del genoma humano, con identidad del 70-100% en al menos 50 aminoácidos. Se han identificado 18 nuevos parálogos que incluían receptores dopaminérgicos, purínicos y de factores de crecimiento tipo insulina. La futura caracterización completa de los genes y las proteínas permitirá ampliar el número de estos objetivos.

La gran parte de fármacos futuros vendrán de la mano de la genómica, favoreciendo o bloqueando distintas vías (diseño de fármacos) o, en otros casos, utilizando el propio gen o productos génicos como fármacos (terapia génica) (Figura 1).

Se intenta realizar *diseño de fármacos* para modular las vías patógenas de una enfermedad en la dirección deseada. Un ejemplo muy demostrativo es el desarrollo del fármaco STI-571, ya aprobado para la leucemia mieloide crónica. Con este fármaco se intenta bloquear la actividad de la kinasa bcr-abl. Esta proteína se produce como consecuencia de una translocación entre los cromosomas 9 y 22, característica de la enfermedad. El STI-571 bloquea la capacidad de esta kinasa para fosforilar un sustrato desconocido y ha dado excelentes resultados en ensayos clínicos con enfermos que presentan un estadio avanzado de la enfermedad⁽¹⁴⁾. El National Cancer Institute publicó recientemente que en la actualidad se están ensayando más de 100 fármacos de diseño basados en el conocimiento molecular de genes del cáncer.

El conocimiento de la secuencia del genoma humano proporciona información imprescindible para la síntesis de nuevos productos génicos o *proteínas recombinantes* para el tratamiento, evitando los riesgos inherentes al uso de proteínas de origen animal o humano. Desde que en 1982 se aprobó la utilización de la insulina humana recombinante, más de 50 productos génicos diferentes están disponibles para su uso clínico en diferentes enfermedades⁽⁴⁾.

Curar una enfermedad mediante modificación del genoma ha resultado más difícil de lo esperado. La *terapia génica*, después de los fracasos de los últimos años, ha recurrido a la ciencia básica para encontrar vectores más efectivos y seguros.

Actualmente hay resultados esperanzadores de la terapia génica en hemofilia B⁽¹⁵⁾ y en la inmunodeficiencia combinada severa⁽¹⁶⁾, y existen estudios más preliminares en fibrosis quística con el vector aerosolizado^(17,18), enfermedades lisosomales⁽¹⁹⁾ y adreno-leucodistrofia⁽²⁰⁾.

Una vez que hemos descrito las aplicaciones del genoma humano, no debemos olvidar cuáles son las perspectivas futuras del mismo. Es indudable que el primer borrador de la secuencia del genoma humano constituye un gran avance científico, pero aún queda mucho trabajo por hacer para extraer toda la información que contiene. La biología y la medicina durante los próximos años tienen como tareas principales:

- *Completar la secuencia del genoma* eliminando errores y descifrando los huecos existentes. Este proceso ya se ha finalizado para el cromosoma 21 y el 22^(21, 22) (se estima que la secuenciación completa del genoma terminará en el 2003 como nombramos al principio).
- *Desarrollar un catálogo de variabilidad genética humana, identificando todos los polimorfismos.* Como se ha comentado anteriormente, se está realizando secuenciación y genotipado a gran escala para completar el número y frecuencia de estas variaciones en las distintas poblaciones. Esta información debe aplicarse a la *identificación de genes de susceptibilidad* implicados en la causa de las *enfermedades comunes o multifactoriales* (resultado de la interacción entre diversos genes y factores ambientales). Para ello es necesario hacer estudios de asociación entre las distintas enfermedades y numerosos SNP. De hecho ya se están identificando asociaciones génicas para algunas enfermedades pediátricas no consideradas clásicamente genéticas, como el síndrome de muerte súbita del lactante⁽²³⁾. Es previsible que en esta década se identifiquen otros tantos genes de susceptibilidad para muchas otras enfermedades. Para ello, sin embargo, tiene que desarrollarse una tecnología de genotipado más eficiente, como la espectrometría de masas o los chips de ADN. Un *screening genómico* basal podría proporcionar en el futuro el perfil de riesgo a padecer enfermedades comunes de una persona y dirigir las estrategias preventivas.
- *Estudiar expresión génica*, investigando las diferencias que ocurren entre varios tipos de tejido y explorar las alteraciones en el patrón de expresión durante la enfermedad. Los *microarrays de ADN* representan una intersección tecnológica entre la biología y la informática. Están basados en bases de datos de más de 40.000 fragmentos de genes llamados EST (expressed sequence tags). Esto permite la monitorización de la expresión de miles de genes en un sólo paso y los estudios de expresión comparativa entre muestras normales y patológicas, los cambios en el curso natural de la enfermedad y en la respuesta al tratamiento.
- *Caracterizar* el número, estructura y localización de las proteínas en las células, sus modificaciones postranscripcionales y patrones de interacción. Pasaremos pues de la *era genómica a la proteómica*, en la hipótesis de que un mismo gen codifica varias o incluso muchas proteínas, lo que podría explicar la complejidad del ser humano. Recientemente el Consejo Español de Ministros ha autorizado a los Ministerios de Sanidad y Consumo y Ciencia y Tecnología a activar una fundación para la investigación genómica y proteómica.
- *Conocer* las principales vías que gobiernan la *homeostasis normal* así como los procesos que llevan a la enfermedad. La transición de la genética a la genómica marca la evolución de la identificación de genes únicos y sus funciones al conocimiento de la acción de múltiples genes y su control de los sistemas biológicos.
- *Secuenciar los genomas de otros organismos* (el del ratón de laboratorio ya se ha iniciado y se está considerando el de algunos vertebrados como el cerdo, perro, vaca y chimpancé). La *genómica comparativa* es extremadamente útil en la identificación de exones codificantes y secuencias reguladoras.
- *Integrar e interpretar* todos estos datos a través de un apoyo bioinformático importante.
- *Investigar las implicaciones éticas, legales y sociales del genoma humano* (programa ELSI) incidiendo sobre distintas áreas como la privacidad, la discriminación genética, educación y el uso del conocimiento de la variación humana a nivel social. Un 5% del presupuesto del Proyecto del Genoma Humano se dedica al programa ELSI.

El proyecto genoma humano ha sostenido la promesa de transformar la medicina en un arma racional fundamentada en el conocimiento profundo del mecanismo de la vida y la enfermedad. En un futuro cercano, la *medicina genómica* permitirá la identificación de la susceptibilidad a muchas enfermedades, la intervención preventiva, la selección de la farmacoterapia y el diseño de un cuidado médico individualizado basado en el genotipo. Para ello será necesario que el médico, no sólo el genetista, entien-

da y maneje muchos conceptos de genética. La Asociación Médica Americana, la de Enfermería y el Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano, conscientes de esta necesidad, han promovido una Coalición Nacional para la Educación de los Profesionales de Salud en Genética (<http://nchpeg.org>). Paralelamente, será necesario garantizar la protección y el buen uso de la información genética evitando cualquier tipo de discriminación por ese motivo. El conocimiento del genoma humano se debe emplear en el alivio del sufrimiento humano, piedra angular de la medicina y, por tanto, se debe ajustar a los principios éticos de respeto a las personas, justicia y beneficio.

BIBLIOGRAFÍA

1. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.
2. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291: 1304-1351.
3. Subramanian G, Adams MD, Venter JC, Broder S. Implications of the human genome for understanding human biology and medicine. *JAMA* 2001; 286: 2296-2307.
4. Collins FS. Shattuck lecture - Medical and societal consequences of the human genome project. *N Eng J Med* 1999; 341: 28-37.
5. Larsson A. Neonatal screening for metabolic, endocrine, infectious, and genetic disorders. Current and future directions. *Clin Perinatol* 2001;28:449-461.
6. Shulman LP, Elias S. Cystic fibrosis. *Clin Perinatol* 2001;28:383-393.
7. McCabe LL, McCabe ERB. Postgenomic medicine. Presymptomatic testing for prediction and prevention. *Clin Perinatol* 2001;28:425-434.
8. American Academy of Pediatrics. Task Force on newborn and infant hearing. Newborn and infant hearing loss: Detection and intervention. *Pediatrics* 1999; 103:527-530.
9. Committee on Genetics. American Academy of Pediatrics. Molecular genetic testing in Pediatric Practice. *Pediatrics* 2000; 106: 1494-1497.
10. The International SNP Map Working Group. A map of human sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001; 409: 928-933.
11. King MC, Wieand S, Hale K, et al. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 y BRCA2: national surgical adjuvant breast and bowel project (NSABP-P1) breast cancer prevention trial. *JAMA* 2001; 286: 2251-2256.
12. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions. A systematic review. *JAMA* 2001; 286: 2270-2279.
13. Drug discovery: a historical perspective. *Science* 2000; 287: 1960-1964.
14. Collins FS, McKusick VA. Implications of the human genome project for medical science. *JAMA* 2001; 285: 540-544.
15. Kay MA, Manno CS, Ragni MV, et al. Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* 2000; 24: 257-261.
16. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2000; 288: 669-672.
17. Flotte TR, Laube BL. Gene therapy in cystic fibrosis. *Chest* 2001;120:124S-131S.
18. Griesenbach U, Alton EW. Recent progress in gene therapy for cystic fibrosis. *Curr Opin Mol Ther* 2001;3:385-389.
19. Yew NS, Cheng SH. Gene therapy for lysosomal storage disorders. *Curr Opin Mol Ther* 2001;3:399-406.
20. Cartier N. Gene therapy for X-linked adrenoleukodystrophy. *Curr Opin Mol Ther* 2001;3:357-361
21. Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, et al. The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature* 2000; 405: 311-319.
22. Dunham I, Shimizu N, Roe BA, et al. The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* 1999; 402: 489-495.
23. Ackerman MJ, Siu BL, Sturner WQ, et al. Postmortem molecular analysis of SCN5A defects in sudden infant death syndrome. *JAMA* 2001; 286: 2264-2269.