

## MEDICINA AL DIA

### DESCIFRANDO EL CODIGO QUE TRANSMITE LA VIDA

Dr. Julio M. Rodriguez Grullón

Jefe del Departamento de Pediatría, Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña (UNPHU), Santo Domingo, Republica Dominicana

El mensaje que transmite las características de padres a hijos se hace a través de genes. Estos genes están ubicados en los cromosomas, los cuales se encuentran en el núcleo de todas las células del cuerpo humano.

Los cromosomas y por ende la composición genética de una persona, se estudian mediante el kariotipo.

Como todas las células del cuerpo se derivan de la célula original que se forma cuando un espermatozoide fecunda el óvulo, solo es necesario hacer el kariotipo a una de ellas para saberlo, pues todas las demás células tendrán forzosamente el mismo.

Previamente a este paso de la fecundación, el óvulo en el ovario y los espermatozoides en el testículo, han pasado por un proceso llamado meiosis que reduce su número de cromosomas y genes a la mitad, transformandolos así en células haploides para que al ocurrir la fecundación se restablezca el número normal de cromosomas y genes y tengamos de nuevo una célula diploidea.

No hay reglas que establezcan cual de la mitad de los genes de una persona va a pasar a sus óvulos o espermatozoides.

Esto es a grandes rasgos lo que ocurre al transmitirse la vida de los padres hacia sus hijos.

Por mucho tiempo se había especulado cuantos genes existen y desde 1970 casi todas las

investigaciones biomédicas conducen a ellos, porque son los que contienen la información básica sobre como el cuerpo humano, desde el nacimiento hasta su muerte desarrolla sus diversas funciones y como entre esos dos eventos sobrevive en un ambiente hostil, donde esos genes dirigen sus reacciones de defensa, que junto con otros factores importantes, determinan el éxito o fracaso de ella.

Por estas razones, descifrar el genoma humano se convirtió en un asunto político.

En 1988 el Congreso de los Estados Unidos de America apropió fondos para que el Departamento de Energía (DOE) y el Instituto Nacional de la Salud (NIH) comenzaran a estudiar y planificar el proyecto para decodificar el genoma humano (HGP).

Los planificadores estimaron que en un plazo de 15 años y a un costo de tres billones de dólares (US \$ 3,000,000,000.00), los aproximadamente 80,000 genes que estan diseminados en los 46 cromosomas, como estrellas en una galaxia, con años luz entre ellos, de Acido Deoxiribonucleico (DNA) sin codificar, podían ser identificados.<sup>1</sup>

Asimismo era preciso desentrañar la secuencia de los aminoácidos de los tres billones de pares de nucleótidos, que componen los genes humanos y que hasta ese momento habían desafiado a los científicos interesados en llevar a

FIGURA No. 1

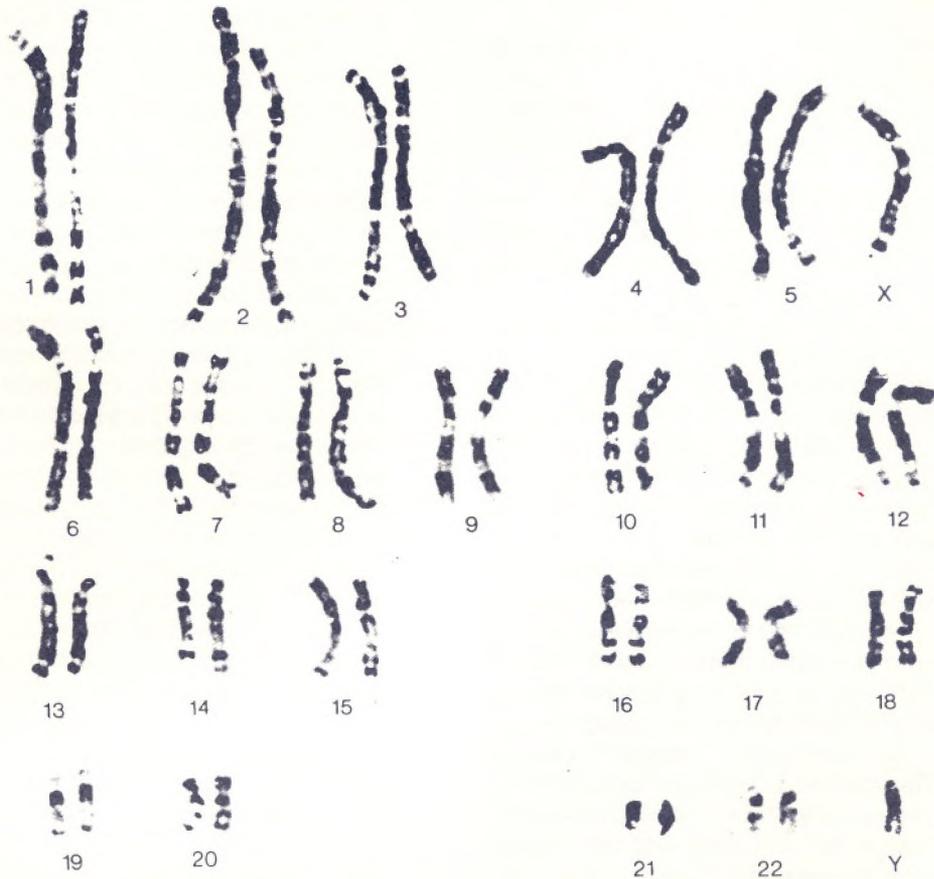


FIGURA No. 1.- KARIOTIPO DE UNA CELULA HUMANA DE UN VARON NORMAL, MOSTRANDO LOS CROMOSOMAS COLOREADOS EN BANDAS, CON LA MITOSIS EN PROFASE. EN EL INTERIOR DE ESTOS CROMOSOMAS ESTAN DISTRIBUIDOS LOS GENES, LOS CUALES EN LA TRANSMISION DE LA VIDA, PASAN EL MENSAJE QUE DETERMINA LAS CARACTERISTICAS DEL NUEVO SER.

cabo este proyecto.

El día 1ro de octubre de 1990 se inició oficialmente el HGP.

De inicio se pensó que para aproximadamente el 2005, el hombre conocería por fin cual era su plano vital.

Sin embargo, surgieron rápidamente avances en la tecnología y los primeros mapas de genes en los cromosomas mas pequeños, estuvieron listos antes de lo planeado, el mundo científico y profano se interesó vivamente en el HGP y el congreso norteamericano apropió mas dinero para el proyecto y los grandes centros de investigación recibieron mas concesiones (grants) para realizar los estudios.

Los estudios pilotos iniciales fueron tan exitosos que ahora los dirigentes del proyecto planearon que para la primavera del 2000, el 90% del proyecto estaría terminado.

La comunidad científica internacional se sumó al proyecto estadounidense y se estimó entonces que del 60 al 70% del trabajo sería hecho en Estados Unidos y el restante en países como Inglaterra, Francia y Japón.

Se determinó que la investigación del genoma para ser exitosa debía cumplir cuatro requisitos:

1ro.- La secuencia de aminoácidos que se determinara tenía que ser precisa en 99.99% o mas . Si este es el libro de la vida, debíamos poder leerlo con seguridad.

2do.- Las secuencias largas requerían que las cortas de DNA fueran ensambladas de tal forma que correspondieran a piezas del genoma que reflejaran el DNA original genómico.

3ro.- La tecnología requerida para determinar la secuencia de aminoácidos en el DNA, debían ser accesible a la mayor cantidad de científicos en el mundo y por tanto su costo debía reducirse en lo posible.

4to.- Una vez obtenida la secuencia final precisa del DNA humano, debía estar disponible en 24 horas de manera gratuita a todo el mundo, mediante bases de datos públicos.

Este 4to punto era considerado de vital importancia en el proyecto.

Las secuencia del genoma es la base de la investigación biomédica en la actualidad, pues provee a los científicos alrededor del mundo, investigando las causas de las enfermedades, con información nueva y técnicas para descifrar los misterios de la biología humana.

Este conocimiento acelerará dramáticamente el desarrollo de nuevas estrategias para el diagnóstico, prevención y tratamiento de las enfermedades, no solo para aquellas que se deben a trastornos en un solo gen, sino también para el grupo de enfermedades genéticamente complejas y frecuentes como diabetes, enfermedades cardíacas, esquizofrenia y cáncer, para los cuales diferencias genéticas pueden contribuir al riesgo de contraerlas y de la respuesta a determinadas formas de terapia.

El conocimiento público de este avance científico maximizaría así su beneficio para la sociedad a nivel mundial, estimularía la investigación y el desarrollo de la ciencia en todos los países, contribuiría a la coordinación y colaboración entre los científicos del mundo y prevendría la duplicación de esfuerzos.

Así en los Estados Unidos el banco genético está disponible en el internet con el código <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> y está controlado por el Centro Nacional de Información Biotecnológica.

Se necesitaron 16 años para lograr acumular en este banco la información sobre el primer billón de bases, pero solo se necesitaron 15 meses para agregarle el segundo billón.

Más de 39,000 especies están representadas y unas 60 mil comparaciones de secuencias son conducidas cada día.

Esto es importante porque los científicos aprenden sobre el genoma humano, comparándolo

con el de animales como ratas, moscas, nematodos y también con el de levaduras.

Estas comparaciones permiten que la secuencia humana sea más fácil de comprender.

El estudio de la secuencia de los aminoácidos en los nucleótidos que componen los genes, realmente comenzó con el plan quinquenal 1998-2003. En 1990, las principales preocupaciones de los investigadores era desarrollar técnicas para ubicar el lugar de los genes en los cromosomas de algunos animales en el laboratorio.

El llamado mapa genético, es especialmente útil para seguir el patrón hereditario a través de varias generaciones de una familia.

Estos mapas consisten en una serie de marcadores basados en alguna secuencia, que pueden ser usados para señalar el área donde se encuentra con toda probabilidad un gen alterado responsable de una enfermedad que se proyecta en el fenotipo o en un portador del rasgo en cuestión. Ellos han sido de gran valor para identificar y aislar genes dominantes con patrones hereditarios mendelianos reconocidos.

Un segundo tipo de mapa llamado mapa físico, provee partes clonadas y ordenadas de DNA de un cromosoma y también de todo un cromosoma.

Una vez que los marcadores genéticos han definido la región conteniendo el gene que se busca, piezas clonadas del mapa físico, proveen una fuente de la cual los investigadores pueden entonces aislar el gen.

Una copia que duplica 98% del genoma humano, que consiste de miles de segmentos unidos de DNA, ha sido completada y reúne los requisitos del HGP para un mapa físico.<sup>2</sup>

Este mapa, conteniendo 41,000 marcadores de DNA, conocidos como "sitios de secuencias marcadas" o STS, por sus iniciales en inglés (Sequence-Tagged Sites) presenta apropiadamente alineadas las piezas. Con esta densidad de marcadores, la mayoría de los genes en el genoma humano, deben estar dentro de un área de menos de 100,000 bases de un STS.

El HGP también reconoce desde su inicio su responsabilidad no solo para desarrollar la capacidad de como encontrar genes y la tecnología para sus análisis, sino también de referirse a las grandes implicaciones sociales que estas habilidades para descifrar información genética implican.

Por esta razón el proyecto dedica el 5% de su

presupuesto para investigación, a un programa que enfoca las implicaciones, legales, éticas y sociales del HGP y que se conoce como el programa ELSI (Ethical, Legal and Social Implications).

El programa ELSI se ha ocupado prioritariamente en cuatro áreas:

1ro.- El uso y la interpretación de la información genética.

2do.- Integración clínica de la tecnología genética.

3ro.- Controversias sobre la investigación genética y

4to.- Educación pública y de los profesionales de la medicina sobre estos temas.

El proyecto para el quinquenio 1993-98 expandió los planes para el mapeo genético y explícitamente incluyó nuevos objetivos para identificar y mapear no solo sistemas de marcadores anónimos, sino para marcar los genes mismos.<sup>3</sup> Así científicos en la Biblioteca Nacional de Medicina, en centros de investigación sobre el genoma y en la industria privada, iniciaron un programa para definir DNA expresado en la región de los genes, o expresan STSs en el mapa físico.

Después de dos ediciones, este mapa genético, representa el esfuerzo más extenso hasta ahora realizado, para localizar e identificar los cerca de 80,000 genes que componen el genoma humano.

Más de 38,000 marcadores de genes han sido ubicados en el mapa, dándole a los buscadores de genes que causan enfermedades, una lista ya preparada de genes candidatos, ubicados en el vecindario del cromosoma que ya ellos saben es el implicado en la producción de la enfermedad.

Antes de 1996, los objetivos de las secuencias del DNA estaban más que nada dirigidos hacia los genomas de organismos modelos.

Debido a estos esfuerzos, científicos lograron determinar la secuencia de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (SC), valiosa a biólogos y comúnmente usada por panaderos y fabricantes de cerveza.<sup>4</sup> y de la *Escherichia Coli*, una columna de la biología básica y de la industria de la biotecnología.<sup>5</sup>

La primera secuencia completa de un genoma de un organismo multicelular el nematode *Caenorhabditis Elegans* (CE), fue completada a finales de 1998.

Los 100 millones de pares de bases del

genoma del CE, están distribuidas en seis cromosomas y contiene más de 19,000 genes.

Aunque apenas es visible a simple vista, el pequeño nematodo se ha convertido en un instrumento valioso para estudiar procesos biológicos como el desarrollo y crecimiento, neurobiología y envejecimiento.

El proyecto con el gusanito comenzó en 1990 como un proyecto de investigación colaborativo entre los investigadores de la Universidad de Washington en San Luis, Missouri, USA y el Centro Sanger en Cambridge, Inglaterra.

Comparaciones con computadoras entre la secuencia del gusano y las secuencias en otros organismos, demostró que cerca del 74% de los llamados genes humanos, tenían homólogos bien definidos en el CE.

El genoma de la levadura SC que fue el primer genoma de un organismo eucariótico en ser completamente descifrado, contiene doce millones, cincuenta y siete mil quinientas (12,057,500) pares de nucleótidos en su DNA nuclear, que contiene 16 cromosomas, donde se ubican seis mil genes, ha provisto a los biólogos con una valiosa fuente para determinar la función de genes individuales humanos afectados en desordenes como el cáncer.

Ahora bien, el libro con la información genética completa para este organismo, permitirá a los científicos por primera vez, poner junta información que provea una visión general de como los genes en una célula eucariótica funciona como un sistema integrado.

La clonación posicional<sup>6</sup> es la técnica que se utiliza para aislar e identificar genes, basándose en la información provista por los mapas y otras tecnologías genéticas.

Esta técnica permite a un investigador confirmar las bases genéticas de una enfermedad e identificar el gen responsable, aún cuando poco se sabe sobre la función de ese gen en particular.

Hasta ahora se han aislado más de 100 genes ligados a enfermedades con el uso de la clonación posicional y aunque antes de esta técnica este proceso tomaba años y hasta décadas, en la actualidad puede hacerse en algunas semanas.

Cada vez más investigadores combinan la clonación posicional con la información en las bases de datos de los STSs para orientar su búsqueda de genes hacia áreas de mayor

posibilidad. Este método ha sido llamado clonación posicional de candidatos<sup>7</sup> y ha sido exitoso en identificar muchos genes alterados asociados a enfermedades en humanos.

El aislamiento de genes provee la mejor esperanza de comprender la enfermedad a su nivel fundamental.

Una vez que el o los genes que contribuyen a producir una enfermedad han sido identificados, se pueden producir pruebas para predecir los riesgos en el futuro, pero estas pruebas son mas efectivas cuando una estrategia de prevención está disponible para reducir el riesgo, en personas que se ha diagnosticado que están predispuestas a una enfermedad en particular.

Otra aplicación basada en el aislamiento de genes productores de enfermedades, en gran desarrollo en la actualidad, es la farmacogenética. Se ha llamado así a la predicción de la respuesta al tratamiento medicamentoso en determinada enfermedad.

En un futuro no muy lejano tendremos toda una gama de terapia genética y farmacogenética

identificado un gen en el Cromosoma 4, responsable de la producción de la proteína alfa sinucleína que se encuentra elevada en la enfermedad de Parkinson y también en la de Alzheimer<sup>8</sup>. En unos meses los investigadores demostraron que una mutación en este gen producía en estas familias su enfermedad de Parkinson.

Aunque solo algunos casos de Enfermedad de Parkinson tienen influencia genética definida, estudiando estos casos se obtiene información valiosa para todos los casos, pues la alfa sinucleína se encuentra elevada en todos los casos de esta enfermedad.

Como en la enfermedad de Parkinson, una comprensión del control genético de los procesos proteolíticos de las proteínas cerebrales abre nuevas posibilidades para el manejo de un número de enfermedades donde ellas se acumulan; además del Alzheimer y del Parkinson la enfermedad de Huntington y la Ataxia Espinocerebelosa se incluyen en este grupo.

Aun antes de que el papel de un gen sea completamente dilucidado en una enfermedad, existen aplicaciones diagnósticas que pueden ser útiles en prevenir o minimizar el desarrollo de consecuencias para la salud de esa persona.

Las pruebas de DNA que buscan por la presencia de una mutación ligada a una enfermedad, son actualmente las pruebas de mayor uso comercial en el campo genético y las de mayor demanda por parte de los clínicos.

Estas pruebas pueden ayudar a establecer el diagnóstico de una enfermedad genética, predecir el desarrollo de la enfermedad mas tarde en la vida o identificar la presencia de portadores sanos.

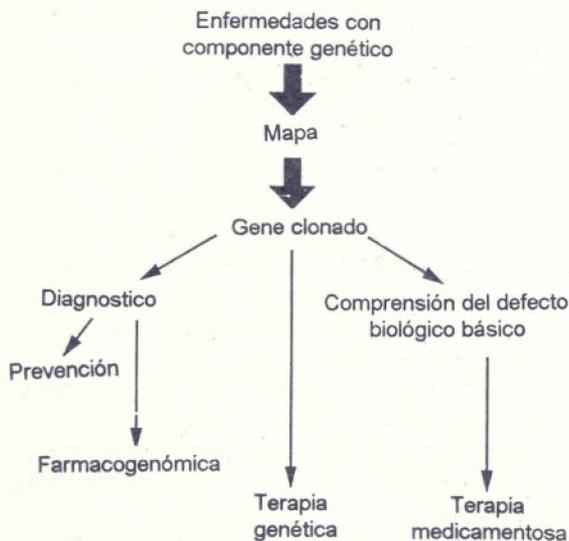
Las pruebas genéticas pueden hacerse a cualquier edad y la toma de muestras para esos fines se hacen cada vez menos invasivas.

Estas pruebas ya no solo están en demanda por parejas con historia familiar de enfermedades que se manifiestan al inicio de la vida, con la finalidad de planificación familiar; información acerca de su status genético tiene una demanda creciente entre personas que desean saber sobre su predisposición a enfermedades que se manifiestan tarde en la vida.

En un número creciente de situaciones, se pueden designar estrategias para prevenir una enfermedad, cuando una predisposición o causa genética es conocida.

Así ha sido posible ya obtener éxito en

FIGURA No. 2



**ESQUEMA DE LOS PASOS PARA TRATAR Y PREVENIR ENFERMEDADES GENÉTICAS.**

para tratar un sin número de enfermedades producidas por genes anormales.

En la Figura No. 2 apreciamos un esquema de este proceso.

En la enfermedad de Parkinson se han identificado algunos casos familiares, donde se ha

enfermedades hereditarias como hemocromatosis, fenilketonuria y la hipercolesterolemia familiar, entre otras.

Asimismo se puede reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad para la cual existe predisposición genética, debida a mutaciones, cambiando estilos de vida, como sucede con algunas formas de cáncer.

A medida que se designan terapias basadas en el conocimiento de la biología molecular, un número creciente de enfermedades que son ahora refractarias al tratamiento, cederán ante la medicina molecular del futuro.

Cuando una enfermedad hereditaria se transmite por las reglas mendelianas clásicas, es fácil ubicar estos genes de gran penetración y manifestaciones en el fenotipo; pero descifrar los componentes genéticos de los desordenes hereditarios transmitidos de forma compleja, como la diabetes, enfermedades cardíacas, la mayoría de los cánceres, desordenes autoinmunes y psiquiátricos, que resultan de la interacción de ambiente, estilo de vida y la acción discreta de muchos genes, sigue siendo un reto formidable, que requiere de nuevos y más poderosos medios diagnósticos.

En esta dirección es que el HGP ha iniciado estudios de variaciones genéticas frecuentes en el genoma humano, que provean mapas densos de variantes frecuentes en el DNA. Esto incluye inserciones y pérdidas de nucleótidos, diferencias en el número copiado de secuencias que se repiten y polimorfismos de un solo nucleótido (abreviado SNP y pronunciado snip). Cerca de una en cada 300 a 500 bases en el DNA humano puede ser un snip.

Estos snips pueden ser usados como marcadores en el estudio del genoma de familias con miembros afectados de una de estas enfermedades, así como en estudios asociados de individuos en una población dada.

Estudios de asociación pueden directamente chequear una variante con potencial importancia funcional o pueden identificar el llamado "desequilibrio ligado" en el que un marcador y un gen son heredados juntos, para así mapear variantes de genes asociados con una enfermedad.

Como la especie humana consiste de relativamente pocas generaciones, las recombinaciones genéticas generacionales no han cambiado el desequilibrio ligado en un número de

3000 a 100,000 nucleótidos en la mayoría de la población. Así que estudios de asociación ven grandes grupos poblacionales como familias evolucionando y no confían en estudios de núcleos familiares para el mapeo genético.<sup>9-10</sup>

Algunos snips pueden contribuir directamente a un rasgo o expresión de la enfermedad en el fenotipo al alterar la función celular y aunque la mayoría de ellos se localizan fuera de las secuencias de proteínas codificadoras, aquellos ubicados dentro de esas secuencias llamados c-snips, son de gran interés, pues son los que con mayor probabilidad afectan el funcionamiento de los genes en que se encuentran.

Una colección grande bien organizada de snips, será cada vez más importante para el descubrimiento de variaciones en la secuencia del DNA que afectan la función biológica. Ya se está trabajando para producir un catálogo de unos 60,000 snips.

## DE LA GENETICA A LA GENOMICA

La transición de la comprensión de genes individuales y sus funciones a la de la acción de múltiples genes y su control de los sistemas biológicos es un paso importante en el estudio de la herencia.

Lo que llamamos una ficha (chip) de DNA en la actualidad, parece ser una forma prometedora de estudiar genomas y sus variaciones,<sup>11</sup> de detectar mutaciones heterogéneas de genes<sup>12</sup> y de la expresión fenotípica de ellos.

Como resultado de una adaptación de técnicas híbridas de puntos y manchas, se han producido fichas de DNA también llamadas microarreglos, que generalmente consisten de un corte fino de vidrio o silicón, del tamaño de un sello de correos, en los que hilos de ácidos nucleicos sintéticos son colocados. Muestras de hilos en estudio son insertadas a la ficha y combinaciones que encajan son leídas por un explorador electrónico.

La capacidad de las fichas de DNA se ha ido duplicando cada dos años, así que las fichas que contenían algunos cientos de arreglos hace poco años, ahora contienen cientos de miles.

La tecnología de los microarreglos ha sido aplicada para la detección de variaciones en el DNA, así como las expresiones del RNA mensajero en células individuales y también en tejidos.

Microarreglos se han usado clínicamente para detectar variaciones en la secuencia del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), mutaciones en el gene p53 de tejido mamario y expresiones de genes del citocromo p450.

En el laboratorio, la tecnología de los microarreglos también ha sido aplicada a comparaciones cruzadas entre distintas especies,<sup>13</sup> recombinaciones genéticas,<sup>14</sup> y análisis en gran escala de copias de un número de genes y su expresión fenotípica, así como a la expresión de proteínas en tejido canceroso.<sup>15</sup>

El uso de microarreglos y otras nuevas tecnologías para detectar variaciones en el DNA, luce prometedora, para junto con la historia familiar y datos provenientes de estudios de grandes poblaciones, establecer el riesgo de una persona para desarrollar desordenes frecuentes que se manifiestan tarde en la vida.

Una muestra básica de un genoma, puede proveer información importante sobre el riesgo de una persona para determinada enfermedad y señalar la estrategia para la prevención (si está disponible) que debe ser usada.

La capacidad de identificar variaciones genéticas, eventualmente permitirá a los clínicos subclasificar las enfermedades y adaptar las terapias a pacientes de forma individual. Puede haber gran diferencia en la efectividad de un tratamiento de una persona a otra. Reacciones tóxicas también pueden ocurrir y en muchos casos es probable que sean consecuencia de factores codificados en los genes del paciente.

Esta observación básica ha estimulado la aparición del nuevo campo de la farmacogenómica, la cual intenta usar información sobre la variación genética, para predecir la respuesta a la terapia medicamentosa.

No solo las pruebas genéticas permitirán predecir la respuesta a los tratamientos, sino también el abordaje genético a la prevención de enfermedades o su tratamiento, incluirá una variedad en expansión de productos genéticos para el uso en el mañana de las terapias medicamentosas.

Desde que la Administración para Alimentos y Drogas (FDA) aprobó el uso de insulina humana recombinada en 1982, más de 50 medicinas basadas en información genética están disponibles para su uso clínico. Esto incluye medicamentos para el tratamiento del cáncer, ataques del corazón, accidentes cerebrovasculares y diabetes,

así como muchas vacunas.<sup>16</sup>

No todos los avances terapéuticos serán el descubrimiento de nuevos genes o productos de genes.

En otros casos, el conocimiento del funcionamiento molecular, debido a la acción de un gen, sugerirá un tratamiento nuevo.

## IMPLICACIONES ETICAS Y LEGALES

Una de las partes más activas del programa ELSI ha sido el desarrollo de una política relacionada a la privacidad y uso adecuado de la información genética, particularmente en lo referente a seguros de salud, solicitud de empleos y la investigación médica.

Los debates en estas áreas se concentran en el potencial de la información genética para predecir un aumento en el riesgo para el desarrollo en el fenotipo de una enfermedad genética en una persona hasta ese momento saludable.

En los Estados Unidos debido a las recomendaciones surgidas en talleres patrocinados por el HGP y el Plan Nacional de Acción contra el Cáncer del Seno<sup>17-18</sup> la administración del Presidente Clinton apoyó la necesidad de acción congresional para proteger contra discriminación genética en los seguros médicos y en las solicitudes de empleo.

En 1996, el congreso americano produjo el decreto sobre Portabilidad y Responsabilidad de Seguros de Salud, que representó un gran paso de avance para proveer accesibilidad en los planes de seguros de salud de grupos, aunque dejó vacíos en el mercado de los seguros individuales que todavía deben ser corregidos.

En el área de discriminación en el lugar de trabajo, la Comisión para Iguales Oportunidades de Empleo ha interpretado el decreto del congreso para Americanos con Handicaps como protegiendo contra discriminación en el empleo "basada en información genética sobre enfermedades y otros desordenes",<sup>19</sup> pero aún no ha habido reclamos de discriminación en base genéticas y la interpretación todavía no ha sido puesta a prueba ante una corte de justicia, así que la protección que realmente ofrece el decreto permanece incierta.

Cuando se complete la secuencia del genoma humano y se expanda la investigación genética humana para incluir estudios de variación genética

en subpoblaciones., surgirán nuevas pregunta sobre asuntos éticos, legales y sociales.

En el plan 1998-2003 del HGP se incluye un examen de estos temas, así como la integración de tecnología genética y la información sobre atención en salud y actividades de salud pública, el uso del conocimiento sobre la genómica y los genes y la interacción con el ambiente en situaciones no clínicas; examen de una variedad de perspectivas filosóficas, teológicas y éticas relacionadas con el nuevo conocimiento genético y consideración de las formas en las que factores raciales, étnicos y socioeconómicos afectan el uso, comprensión e interpretación de la información genética, el uso de servicios genéticos y el desarrollo de estas políticas.<sup>20</sup>

### REFERENCIAS

- 1.- National Research Council Committee on Mapping and Sequencing the human genome. Mapping and sequencing the human genome. Washington D C. National Academy Press, 1988
- 2.- Deloukas P, Schuler G D, Gyapay G, et al. A physical map of 30,000 human genes.. Science 1998; 282: 744-46
- 3.- Collins F S, Galas D. A new five-year plan for the U S Human Genome project. Science 1993; 262: 43-6
- 4.- The yeast genome directory. Nature 1997; 387: Suppl:5
- 5.- Blattner F R, Plunkett G III, Bloch C A, et al. The complete genome sequence of Escherichia Coli K-12. Science 1997; 227: 1453-74
- 6.- Collins F S. Positional cloning; let's not call it reverse anymore. Nat Genet 1992; 1: 3-6
- 7.- Collins F S. Positional cloning moves from perditional to traditional. Nat Genet 1995; 9: 347-50
- 8.- Polymeropoulos M H, Lavedan C, Leroy E, et al. Mutation in the alpha-synuclein gen identified in families with Parkinson's disease. Science 1997; 276: 2045-47
- 9.- Schafer A J, Hawkins J R. DNA variation and the future of human genetics. Nat Biotechnol 1998; 16: 33-39
- 10.- Collins F S, Guyer M S, Chakravarti A. Variations on a theme: Cataloging human DNA sequence variation. Science 1997; 257: 1580- 81
- 11.- Wang D G, Fan J B, Siao C J, et al. Large scale identification, mapping and genotyping of single-nucleotide polymorphism in the human genome. Science 1998; 280: 1077-82
- 12.- Hacia J G, Brody L C, Chee M S, Fodor S P, Collins F S. Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high density oligonucleotide arrays and two-colour fluorescence analysis. Nat Genet 1996; 14:441-47
- 13.- Hacia J G, Makalowski W, Edgemon K, et al. Evolutionary sequence comparisons using high density oligonucleotides arrays. Nat Genet 1998; 18: 155-58
- 14.- Winzeler E A, Richards D R, Conway A R, et al. Direct allelic variation scanning of the yeast genome. Science 1998; 281: 1194-47
- 15.- Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. Nat Med 1998; 4: 844-47
- 16.- New medicines in development: Biotechnology 1998. Washington D C: Pharmaceutical Research and Manufactures of America 1998; 35
- 17.- Hudson K L, Rothenberg K H, Andrews L B, Kahn M J, Collins F S. Genetic discrimination and health insurance: An urgent need for reform. Science 1995; 270: 391-93
- 18.- Rothenberg K, Fuller B, Rothstein M, et al. Genetic information and the workplace: Legislative approaches and policy challenges. Science 1997; 275: 1755-77
- 19.- Compliance manual. Section 902. Washington D C. Equal Employment Opportunity Commission, March 15, 1995
- 20.- Collins F S, Patrinos A, Jordan E, Chakravarti A, Gesteland R, Walters I. New goals for the U S Human Genome Project 1998-2003. Science 1998; 282: 682-89