

# Molekulární biotechnologie č.14

Využití poznatků molekulární biotechnologie. Transgenní živočichové

# Transgenní živočichové

- Živočišné buňky hmyzu
- Ptáků
- Obojživelníků (žába *Xenopus*)
- Savců

# Cizí geny

- se vnášejí buď do buněk pěstovaných v kulturách *in vitro* nebo
- do zárodečných buněk

# Vektory

- Jako vektory se využívají bakulovirové vektory (pro přenos do hmyzích buněk) nebo
- vektory odvozené z viru SV40, vakcinia viru, adenovirů a zejména
- retrovirů (např. virus Rousova sarkomu RSV).

# Metody přenosu DNA do buněk

- Cizorodá DNA se do buněk přenáší transfekcí (volná DNA), elektroporací, lipofekcí, mikroinjekcí.

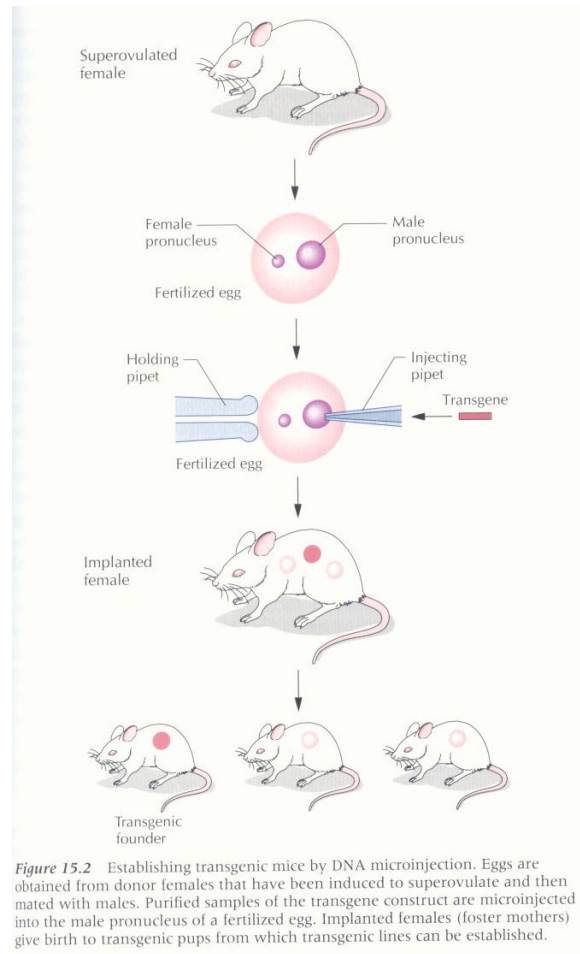
# Příprava transgenních savců

- Cizorodá DNA se přenáší do zárodečných buněk (vajíčka, raná embrya, embryonální kmenové buňky)
- U savců se jako modelový organismus používá myš

## Přenos DNA do oplozených vajíček myší

- mikroinjekcí
- vajíčko se kultivuje *in vitro*
- ve stadiu moruly nebo blastuly se přenese do náhradní matky, v níž jeho vývoj pokračuje
- V případě, že došlo k úspěšnému přenosu transgenu do genomu vajíčka, bude ho potomstvo obsahovat začleněný v náhodném místě a stabilně přenášet do dalších generací

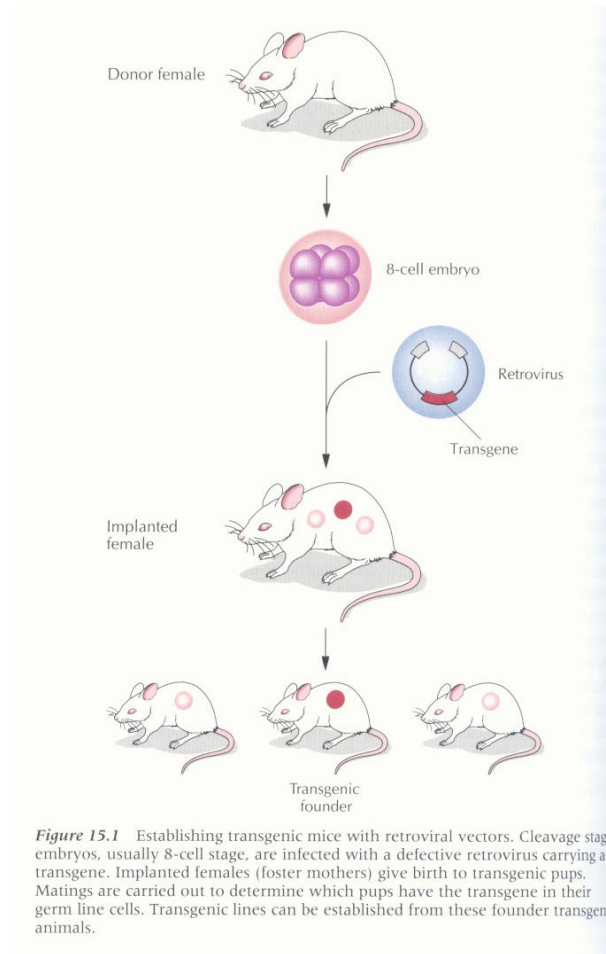
# Mikroinjekce



**Figure 15.2** Establishing transgenic mice by DNA microinjection. Eggs are obtained from donor females that have been induced to superovulate and then mated with males. Purified samples of the transgene construct are microinjected into the male pronucleus of a fertilized egg. Implanted females (foster mothers) give birth to transgenic pups from which transgenic lines can be established.



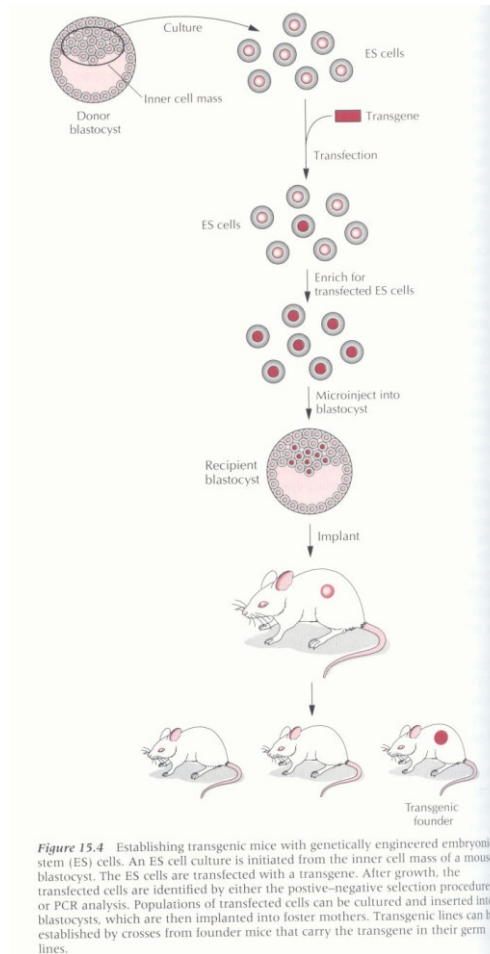
# Využití retrovirového vektoru



# Přenos DNA do embryonálních kmenových buněk myši

- Embryonální kmenové buňky se připravují z raných zárodků
- Snadno se kultivují *in vitro* a selektují buňky, v nichž se přenesený transgen začlenil do genomu homologní rekombinací

# Využití embryonálních kmenových buněk



# Lze zaměřovat

- standardní alely genů za jejich mutantní formy a sledovat pak přímo mutačně pozměněný fenotyp u vyvíjejícího se zárodku nebo dospělého zvířete

# Vhodným křížením

- heterozygotních myší (obsahujících 1 kopii transgenu a 1 kopii původního genu) se získá potomstvo, které bude mít transgen v homozygotním stavu, což je zvláště výhodné pro studium recesivních mutací

## Využití transgenních živočichů

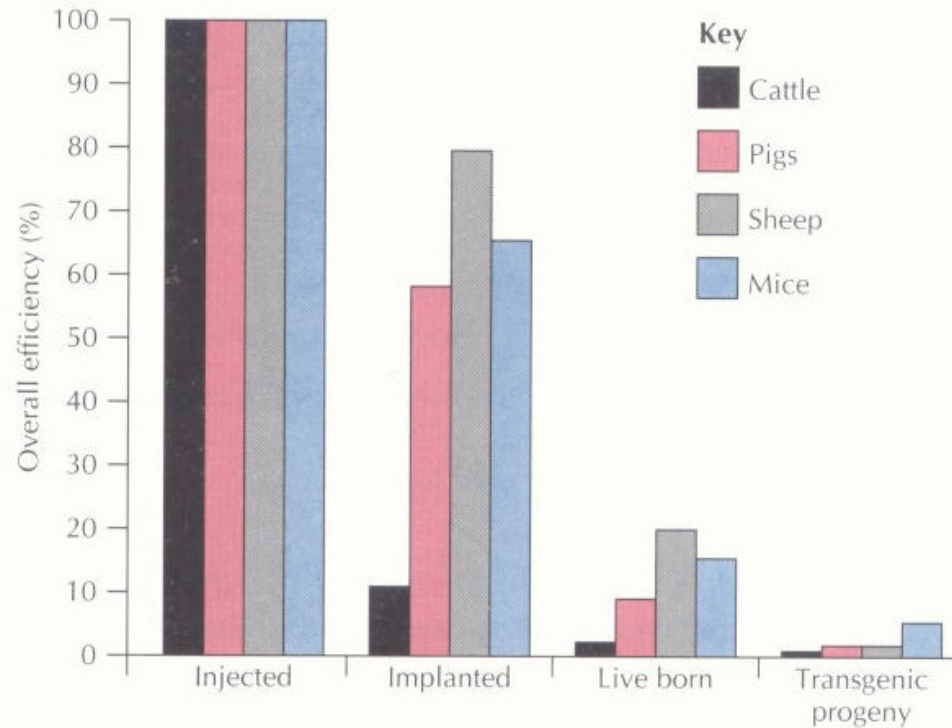
- Studium genové regulace během embryogeneze a diferenciace buněk
- Při objasňování příčin vzniku nádorových onemocnění
- A poruch imunitního systému
- Transgenní linie myší s mutovanými geny slouží jako model pro studium analogických mutací u člověka (např. u genetických chorob)
- Pro studium genetické kontroly vývoje organismu (časová a tkáňově specifická regulace genové exprese během jednotlivých fází embryonálního vývoje)

# Transgenní hospodářská zvířata

- Cílem je příprava zvířat s lepšími užitkovými vlastnostmi – změnou biochemických drah, hormonální rovnováhy nebo tvorbou zcela nových proteinových produktů.
- Výsledkem je např. účinnější využívání krmiva a tím i rychlejší růst, nebo pozměněné složení tkání a tělních struktur
- např. prasata s nižším obsahem tuku v mase,
- ovce, jejichž vlna má výhodnější chemické složení.
- Drůbež se zvýšeným obsahem lysozymu ve vaječném bílku
- Ryby vyznačující se tolerancí ke změnám obsahu solí ve vodě, velmi rychlým růstem nebo odolností vůči výkyvům teploty.

# Účinnost přenosu cizorodého genu je nízká

*Figure 15.3* Overall efficiency of the transgenesis process after DNA microinjection. One hundred percent of the fertilized eggs (100%) of cattle, pigs, sheep, and mice are inoculated with a transgene, but the success of implantation and giving birth to offspring are much lower, and only 5% or less of the treated eggs become transgenic progeny.





## Za perspektivní se považují transgenní zvířata

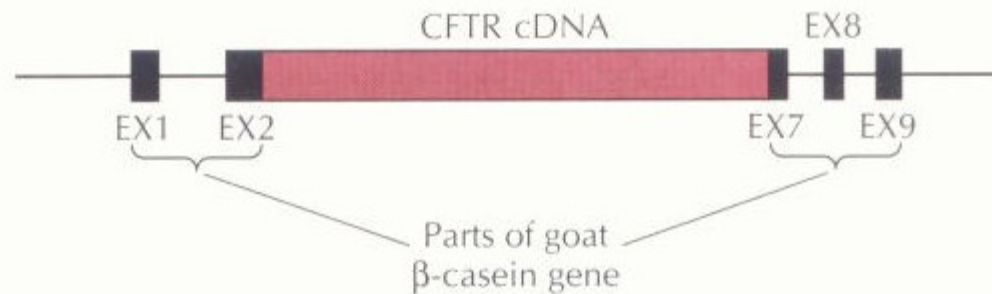
- Z jejichž tělních tekutin nebo tkání (např. mléka, moče a krve) lze získávat farmakologicky významné látky.
- Při konstrukci transgenů se využívají tkáňově specifické promotory – např. při použití promotoru pro beta-laktoglobulin dochází ke genové expresi pouze v mléčné žláze a výchozí produkt přechází do mléka, odkud jej lze snadno izolovat.
- Byly připraveny např. transgenní ovce, jejichž mléko obsahuje vysoké % lidského faktoru pro srážení krve, který se používá pro léčbu hemofilie.
- Velkochovy takových zvířat („živé továrny“) mohou být zdrojem látek, jejichž příprava je v požadovaném množství a čistotě jinými postupy mnohem nákladnější nebo které nelze v aktivní formě z jiných organismů získat.

# Proteiny v mléce skotu a ovce

**Table 15.1** Protein composition (grams/liter) of milk from cattle and sheep.

Proteins	Cattle	Sheep
<b>Casein</b>		
$\alpha_{s1}$ -Casein	10.0	12.0
$\alpha_{s2}$ -Casein	3.4	3.8
$\kappa$ -Casein	3.9	4.6
$\beta$ -Casein	10.0	16.0
<b>Major whey proteins</b>		
$\alpha$ -Lactalbumin	1.0	0.8
$\beta$ -Lactalbumin	3.0	2.8
<b>Other proteins</b>		
Serum albumin	0.4	Unknown
Lysozyme	Trace	Unknown
Lactoferrin	0.1	Unknown
Immunoglobulins	0.7	Unknown

# Využití genů kódujících kasein v expresní jednotce



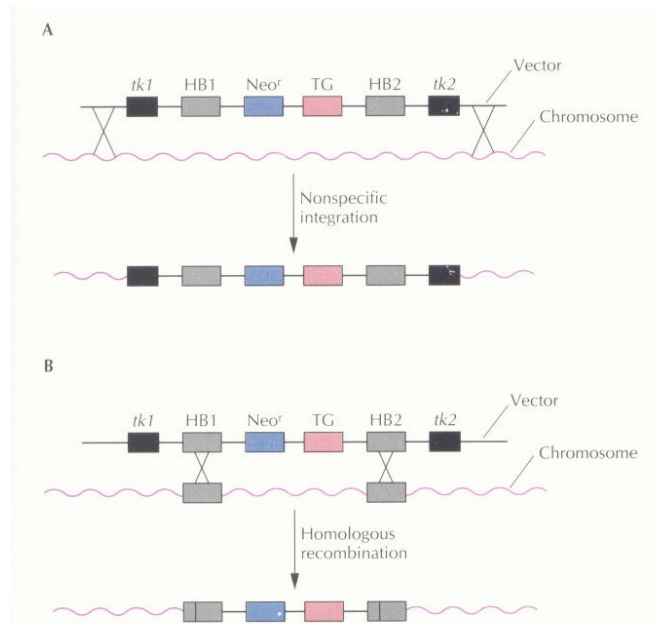
*Figure 15.8* Goat  $\beta$ -casein gene-CFTR cDNA expression construct. The full-length cDNA for CFTR was cloned between exon 2 (EX2) and exon 7 (EX7) of the goat  $\beta$ -casein gene. The promoter and transcription termination sequences and exons 1, 8, and 9 (EX1, EX8, and EX9) of the casein gene are retained.

# Transgeny a promotorové sekvence

**Table 15.2** Mammary gland transgenes, promoter sequences, and recipient organisms.

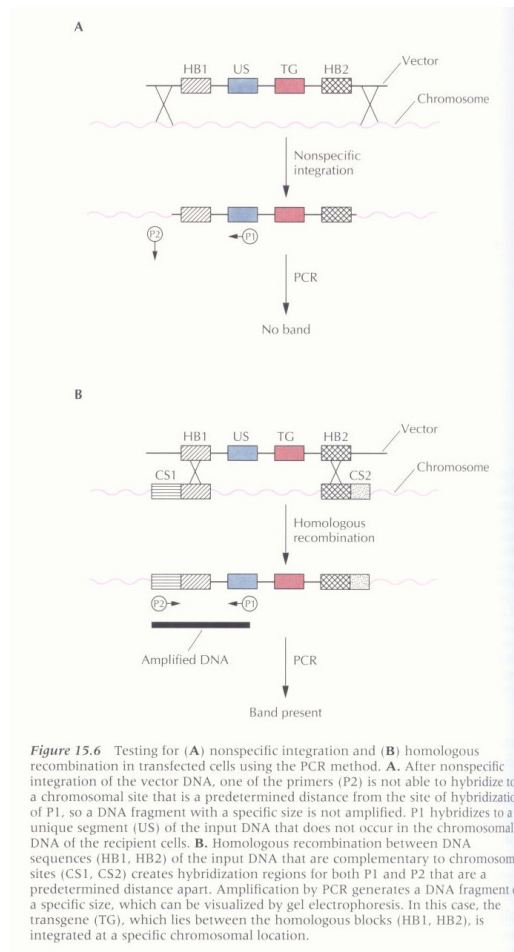
Transgene	Promoter	Transgenic species
Longer acting tissue plasminogen activator	Whey acidic protein	Goat
$\alpha_1$ -Antitrypsin	$\beta$ -Lactoglobulin	Sheep
Clotting factor IX	$\beta$ -Lactoglobulin	Sheep
Soluble CD4 protein	Whey acidic protein	Mouse
Lactoferrin	$\alpha_{s1}$ -Casein	Cattle
Urokinase	$\alpha_{s1}$ -Casein	Mouse
CFTR	$\beta$ -Casein	Mouse
Interleukin-2	$\beta$ -Casein	Rabbit

# Pozitivně-negativní selekce transgenu



**Figure 15.5** Positive-negative selection. **A.** Result of nonspecific integration: Both genes for thymidine kinase (*tk1*, *tk2*); the two DNA sequences that are homologous to a specific chromosomal region in the recipient cells (HB1, HB2); a gene (*Neo<sup>r</sup>*) that confers resistance to the cytotoxic compound G418; and the transgene (TG) are incorporated into the chromosome. After transfection, cells are selected for resistance to both G418 and the compound gancyclovir, which becomes cytotoxic to cells that synthesize thymidine kinase. Other nonhomologous integrations may occur and produce inserts with one or the other of the thymidine kinase genes. After treatment with G418 and gancyclovir, all cells with nonspecific integration of the input DNA are killed. **B.** Result of homologous recombination: The product of a double crossover between homologous blocks (HB1, HB2) of DNA on the vector DNA and on chromosomal DNA does not contain either of the two thymidine kinase genes (*tk1*, *tk2*). After treatment with G418 and gancyclovir, only cells that have undergone homologous recombination survive.

# Testování nespecifické integrace a homologní rekombinace pomocí PCR



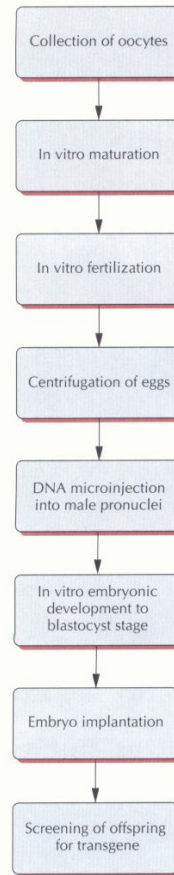
**Figure 15.6** Testing for (A) nonspecific integration and (B) homologous recombination in transfected cells using the PCR method. **A.** After nonspecific integration of the vector DNA, one of the primers (P2) is not able to hybridize to a chromosomal site that is a predetermined distance from the site of hybridization of P1, so a DNA fragment with a specific size is not amplified. P1 hybridizes to a unique segment (US) of the input DNA that does not occur in the chromosomal DNA of the recipient cells. **B.** Homologous recombination between DNA sequences (HB1, HB2) of the input DNA that are complementary to chromosomal sites (CS1, CS2) creates hybridization regions for both P1 and P2 that are a predetermined distance apart. Amplification by PCR generates a DNA fragment of a specific size, which can be visualized by gel electrophoresis. In this case, the transgene (TG), which lies between the homologous blocks (HB1, HB2), is integrated at a specific chromosomal location.

# Klonování ovce s využitím přenosu jádra

- Z vajíčka bylo vyňato jádro
- Buňky mléčné žlázy (po indukci do Go fáze) byly s prázdným vajíčkem fúzovány
- Uměle připravená zygota byla aktivována
- Došlo k dělení buněk
- Embryo ve fázi blastuly bylo implantováno do pseudopregnantní matky
- Narodila se klonovaná ovce

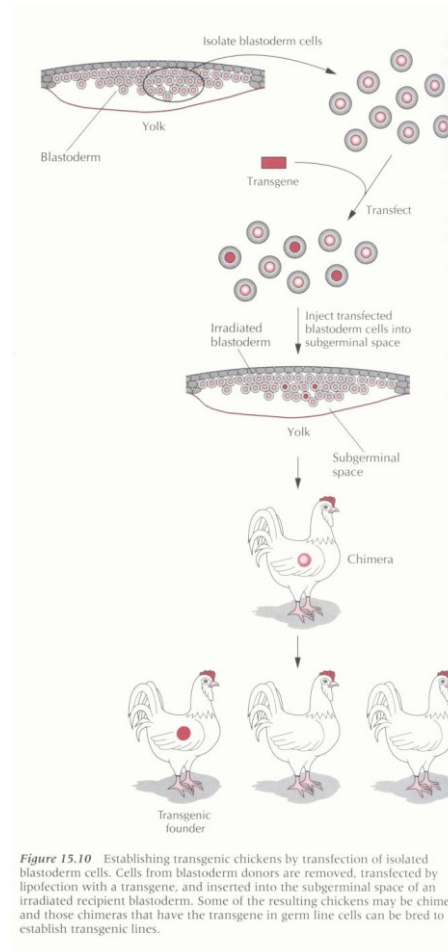
# Příprava transgenního skotu – jednotlivé kroky

Figure 15.9 Steps in the development of transgenic cattle.





# Transgenní drůbež





## Genová terapie - vymezení

- Cílem genové terapie u člověka je oprava poruch genetické informace, které jsou příčinou geneticky podmíněných (tj. dědičných nebo nádorových) chorob.
- V závislosti na charakteru onemocnění se genová terapie provádí buď vnášením normálních (funkčních) genů do chorobou postižených somatických buněk
- Nebo vnášením genových konstruktů, jejichž exprese vede v postižených buňkách k potlačení projevu poruchy genetické informace.
- U člověka se z etických důvodů provádí vnášení genů jen do somatických buněk a tak nedochází ke genetickému přenosu vnesených genů na potomstvo.

## Genová terapie *in vitro* (*ex vivo*)

- Vnášení genů do cílových buněk se provádí mimo tělo pacienta.
- Cílové buňky se vyjmou z těla pacienta,
- Upraví se *in vitro* a ve funkční formě
- Se opět přenesou do těla.

U postupů genové terapie *in vitro* se rozlišují 2 možnosti

- 1. Normální gen se integruje nehomologickou rekombinací do libovolného místa genomu hostitelské buňky jako doplněk k defektnímu genu. Tím se vytvoří funkční produkt, kterým je nahrazen produkt defektního genu.
- 2. Funkční geny lze do genomu hostitelských buněk vnést též homologní rekombinací a zaměnit je tak za geny poškozené mutací. Tento způsob provedení genové terapie dovoluje nejenom fyziologickou regulaci vnesených genů, ale také opravu dominantních defektních genů.

## Genová terapie *in vivo*

- Jako cílové buňky pro vnesení genů slouží přímo buňky v těle pacienta.
- To vyžaduje použití vektorového systému přísně specifického pro cílový orgán, aby se naprosto vyloučila infekce zárodečných buněk.

## Substituční terapie

- Je charakteristická tím, že se buď genový produkt (např. peptidový hormon) zavede do organismu zvnějška
- Nebo se buňky, které tento produkt syntetizují, přenesou do pacienta z vhodného dárce (transplantace kostní dřeně).
- Podává-li se genový produkt zvnějška, musí být podáván opakovaně po celý život pacienta.
- V případě transplantace tkáně hrozí příjemci komplikace v možné imunologické nesnášenlivosti s dárcovskou tkání.

Výhodou při genové terapii je skutečnost

- Že se přenos genu uskutečňuje do vlastních buněk pacienta
- a imunologických komplikací se není třeba obávat.



# Základním předpokladem pro úspěšnou léčbu jakékoliv genetické choroby

- Je znalost její molekulární a biologické podstaty,
- která umožňuje objasnit souvislosti mezi poškozením určitého genu a fenotypovým projevem choroby.
- Gen musí být identifikován a jeho funkce podrobně charakterizována.
- Dále musí být prokázáno, že po zavedení funkční formy genu do poškozených buněk povede k odstranění nebo zmírnění projevů choroby a současně nebude mít negativní dopad na životně důležité funkce organismu.
- Jelikož většina genetických poruch má komplexní charakter a jejich biochemický základ není podrobně znám, je genová terapie zatím proveditelná pouze u nemocí, které jsou založeny na defektech v 1 genu (monogenní defekty)

## Některé nemoci založené na monogenních defektech

Nemoc	Symptomy	Produkt defektního genu	Četnost
Deficience adenosindeaminázy (ADA), SCID (těžká imunodeficience)	Defektní T-lymfocyty, porucha v tvorbě protilátek, definitivní selhání imunitního systému	adenosindeamináza	1/10 000 000
Fenylketonurie	Fyzická a psychická retardace	fenylalaninhydrogenáza	1/12 000
Hemofilie A + B	Porucha v srážlivosti krve, krvácivost	Faktor VIII, faktor IX	1/1 000 000 mužů
Familiální hypercholesterolemie	Předčasné arteriosklerotické změny cév	LDL-receptor	1/500
Deficience na alfa1-antitrypsin	Plicní emfyzém (rozedma plic)	Alfa1-antitrypsin	1/3 500
Cystická fibróza, CF	Porucha v transportu Na, zahlnění dýchacích cest, embolie	transmembránový regulátor CF	1/2 500
Gauscherova choroba	Nádory sleziny, zvětšení jater, pigmentace kůže	glukocerebrozidáza	
Duchennova svalová dystrofie	Svalová ochablost	dystrofin	1/3 000 mužů
Leschův-Nyhanův syndrom	Usazování kys. močové v kloubech a ledvinách poruchy CNS	hypoxantinguaninfosf oribosyltransferáza	1/1 000 000

## Genová terapie nádorů

- Je zaměřena na nádorový nekrotický faktor alfa (TNF-alfa) (protein cytokin přirozeně produkováný T-lymfocyty) (intravenózní aplikace u myší vede k úbytku nádorů).
- Gen kódující TNF-alfa byl přenesen do populace T-lymfocytů infiltrujících do nádorů (TIL).
- Jako vektor byl použit retrovirus, TIL byly izolovány z chirurgicky vyňatého nádoru.
- Slabá regrese nádoru byla detekována.

## Cílené přímé a nepřímé usmrcení buněk

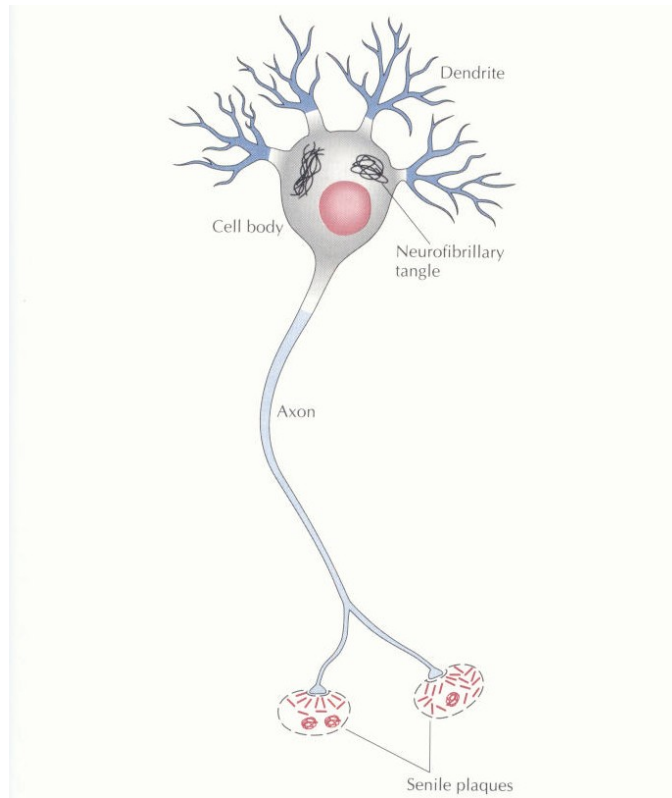
- Používá se k léčení nádorů
- Geny jsou zavedeny do cílových buněk tak, aby jejich exprese vedla k usmrcení buňky
- Přímé působení: Gen kóduje letální toxin nebo produkt, který je citlivý na následně podaný lék, což vede k smrtícímu účinku.
- Nepřímé působení: Do cílových buněk se zavedou imunostimulační geny, které stimulují imunitní odpověď proti cílovým buňkám.

# Cílená inhibice genové exprese *in vivo* - různé způsoby zastavení exprese genu na úrovni DNA, RNA nebo proteinů:

- 1. Mutace cílená na inaktivaci genu do nefunkční formy
- 2. Zastavení replikace genu vazbou specifického oligonukleotidu TFO tvořícího s dsDNA triplex (problémy jsou s vytvořením stabilního triplexu *in vivo*)
- 3. Zastavení exprese genu na úrovni translace vazbou protismyslného oligonukleotidu nebo specifické protismyslné RNA na mRNA cílového genu. Protismyslné oligonukleotidy se připravují chemicky. Protismyslná RNA se připravuje transkripcí pozitivního řetězce klonovaného protismyslného minigenu, který je obrácenou formou genu získaného jako cDNA původního genu.
- 4. Zastavení exprese genu na úrovni translace ribozymem, který štěpí mRNA cílového genu. Ribozym se připraví transkripcí pozitivního řetězce vhodného minigenu, takže působí jako protismyslná RNA a navozuje katalyticky štěpení mRNA, na kterou se v buňce navázal.
- 5. Použití intracelulárních protilátek a oligonukleotidových aptamerů. Intracelulární protilátky jsou cíleny na vazbu specifických proteinů v buňce. Aptamery jsou oligonukleotidy vyznačující se sekvencí, která umožňuje jejich vazbu ke specifickým proteinům a tím zablokování jejich funkce.

## Perspektivy genové terapie

- 2/3 zaměřeny na léčbu rakoviny
- Zbývající na monogenně podmíněné dědičné choroby nebo prevence infekčních chorob (AIDS).
- Genová terapie vychází z teoreticky odůvodněných a experimentálně ověřených předpokladů
- Úkoly: Výběr dalších vhodných cílových molekul, zlepšení způsobů dopravování terapeutických molekul do cílových míst a optimalizace jejich efektorových funkcí.



**Figure 15.7** Schematic representation of a neuron of the human cerebral cortex, showing some of the histopathological features of Alzheimer's disease. Senile plaques containing amyloid deposits and apparent cellular debris accumulate at the synapses of the neuron. Within the cell body of the neuron, neurofibrillary tangles contain aggregated cytoskeletal and other proteins. Other changes that occur in the neurons are not depicted here.

**Table 17.1** Current therapies for 10 single-gene human disorders.

Gene product	Disease/Symptoms	Frequency	Current therapy	Prognosis
Adenosine deaminase	Severe combined immunodeficiency Loss of T and B cells	1:1,000,000	Bone marrow transplant; adenosine deaminase replacement	Without therapy: fatal by 2 years. With therapy: clinical improvement
LDL receptor	Familial hypercholesterolemia Elevated blood serum cholesterol, coronary artery disease	1:500 (Heterozygotes)	Diet, drugs, liver transplant	Some clinical improvement
Glucocerebrosidase	Gaucher disease Accumulation of glucocerebroside in macrophages causing liver, spleen, and bone damage	1:2,500 (Jewish populations); rare in non-Jewish populations	Symptomatic treatment: removal of spleen, antibiotics, repairing bone damage, bone marrow transplant, enzyme replacement	Some clinical improvement
Blood clotting factor VIII	Hemophilia A Altered plasma protein that causes defective blood clotting, chronic internal bleeding into joints, excessive bleeding after wounding	1:10,000 (Males)	Concentrates of factor VIII by transfusion	Extended life expectancy, requires continual treatment, risk of viral infection from transfusions
Phenylalanine hydroxylase	Phenylketonuria Excess phenylalanine in the bloodstream of newborns causes mental retardation	1:10,000	Restriction of dietary phenylalanine	Good in many cases, if treatment is started early and maintained
$\alpha_1$ -Antitrypsin	Emphysema Deficiency of serum protein protease inhibitor, damage to the lungs, cirrhosis of the liver	1:3,500	Replacement therapy, lowering environmental risks	Progression of the disease is slowed but not stopped

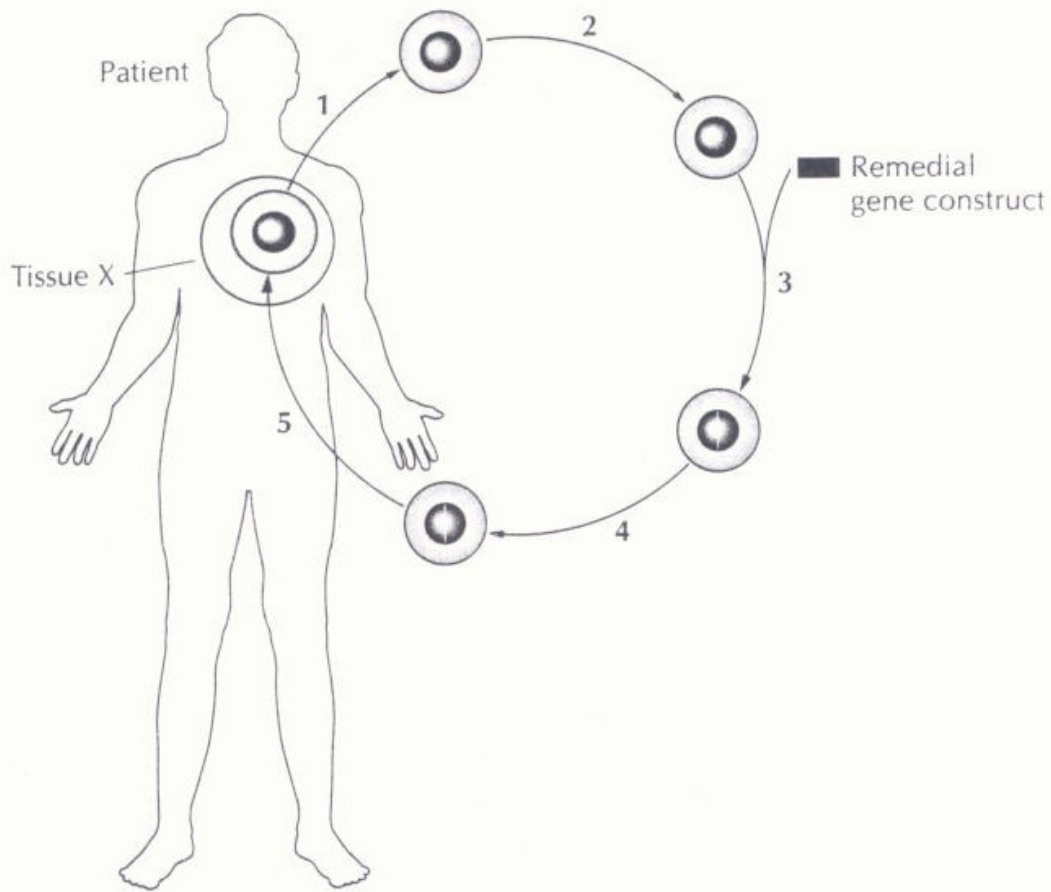


Table 17.1 (continued)

Gene product	Disease/Symptoms	Frequency	Current therapy	Prognosis
Cystic fibrosis transmembrane regulator	Cystic fibrosis Multisystem disease, pancreatic insufficiency in some cases, intestinal blockage, blocked airways of the lungs	1:2,500 (Caucasians)	Antibiotics, physical clearing of the lungs, upgrading diet	Fatal by late 20s
Ornithine transcarbamylase	Hyperammonemia Urea cycle defect, ammonia accumulates, arginine deficiency. <i>Early form:</i> within 72 h of birth, lethargy, vomiting, coma, death, and, if survival, irreversible brain damage. <i>Late form:</i> vomiting, lethargy, seizures	1:40,000	Restricted protein diet, arginine-supplemented diet, drugs, liver transplant	Late form: good Early (severe) form: symptoms diminished
Dystrophin	Duchenne muscular dystrophy Progressive muscle wasting	1:7,500 (Males)	Only supportive treatments: good nutrition, aid in respiratory function, confinement to a wheel chair	Fatal by early 20s
$\beta$ -Globin	Sickle-cell disease Chronic anemia, multisystem disease, damage to spleen, heart, kidney, liver, and brain; heterozygotes have a mild form of the disease	1:500 (Heterozygotes in populations of Black African origin; less frequent in other populations)	Blood transfusions, drugs, analgesics, bone marrow transplant	Symptoms diminished; treatments suboptimal

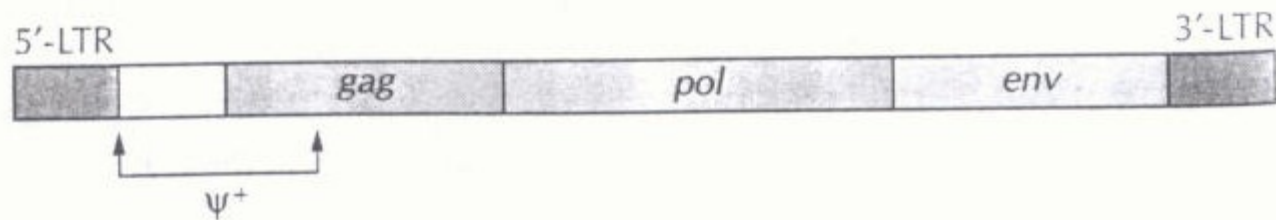
**Table 17.2** Phase I trials for somatic cell gene therapy that have been approved as of mid-1992.

<b>Gene product</b>	<b>Disease</b>	<b>Target cell type</b>
Adenosine deaminase	SCID	T cell, stem cell
Tumor necrosis factor	Malignant melanoma	Tumor infiltrating lymphocytes
Interleukin-2	Advanced cancer	Tumor cells
Factor IX	Hemophilia B	Fibroblasts
LDL receptor	Hypercholesterolemia	Hepatocytes
HSV thymidine kinase	Ovarian cancer	Ovarian cancer cells
HLA-B7	Malignant melanoma	Melanoma cells
HSV thymidine kinase	AIDS	Cytotoxic T lymphocytes

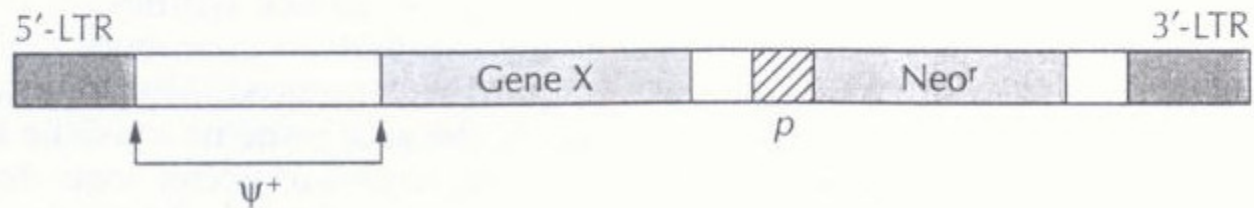


**Figure 17.1** Schematic representation of ex vivo gene therapy. The steps in the procedure include (1) isolating cells with the gene defect from a patient; (2) growing the isolated cells in culture; (3) transfecting the isolated cells with a remedial gene construct; (4) selecting, growing, and testing the transfected cells; (5) either transplanting or transfusing the transfected cells back into the patient.

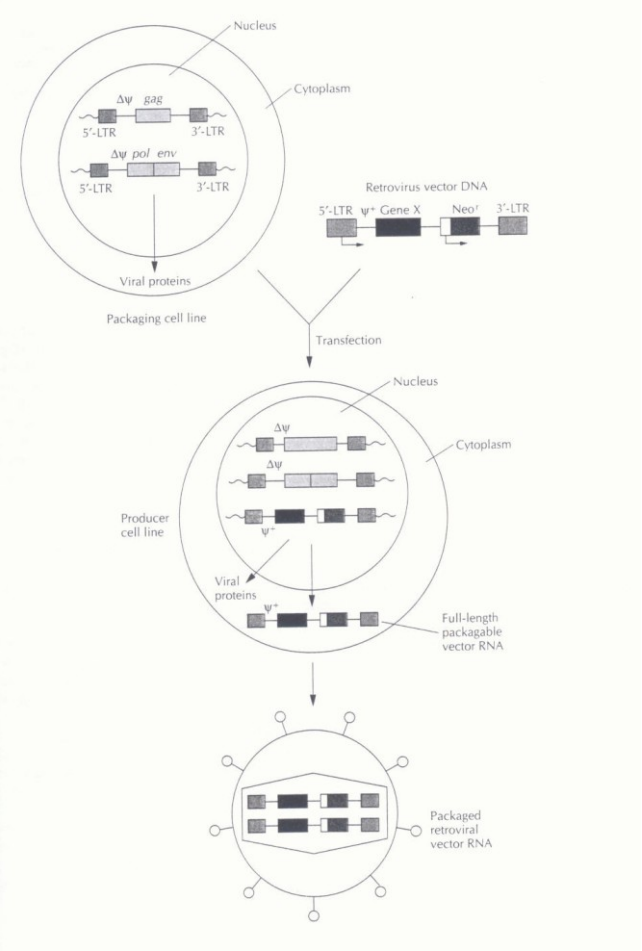
**Figure 17.2** Genetic map of a typical retrovirus. Abbreviations used: LTR, long terminal repeat;  $\psi^+$ , encapsidation (packaging) signal sequence; *gag*, region encoding viral capsid protein; *pol*, region encoding enzymatic activities including reverse transcriptase and integrase; *env*, region encoding the viral envelope protein. The 5'-LTR contains transcription initiation signals, and the entire genome is transcribed as a single RNA molecule. The 3'-LTR contains a polyadenylation signal sequence.



**Figure 17.3** Genetic map of a two-gene retroviral vector. Transcription of the remedial gene (Gene X) is driven by sequences within the 5'-LTR; an internal promoter ( $p$ ) drives the transcription of a selectable marker gene ( $Neo^r$ ). The 3'-LTR sequence contains a polyadenylation signal sequence. The encapsidation region ( $\psi^+$ ) is retained.



**Figure 17.4** Production of packaged retrovirus vector RNA. The packaging cell line has two separate retroviral gene regions on its chromosomes: One encodes the *gag* gene and the other encodes the *pol* and *env* genes. In these two regions, transcription is driven by sequences within the 5'-LTR region; both regions lack the encapsidation sequence ( $\Delta\psi$ ). The packaging cell line synthesizes viral proteins; but because of the absence of the encapsidation sequence within either of the retroviral mRNAs, empty viral capsids are produced. After transfection of a packaging cell line with a retroviral vector, the viral proteins continue to be synthesized, while full-length RNAs from the retrovirus vector sequence that carries the encapsidation region ( $\psi^+$ ) are transcribed and packaged into viral capsids. The released viral particles are replication defective and carry, in this example, a remedial gene (Gene X) and a selectable marker gene ( $\text{Neo}^r$ ).



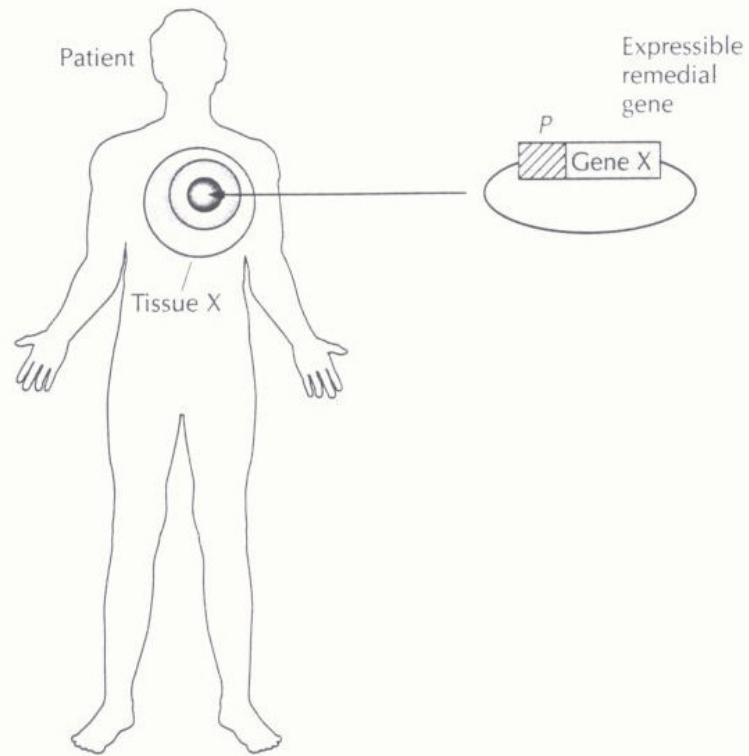


ADA-deficient severe combined immunodeficiency  
Adrenoleukodystrophy  
Chédiak-Higachi syndrome  
Chronic granulomatous disease  
Fanconi anemia  
Gaucher disease  
gpL-115 deficiency  
Granulocyte actin deficiency  
Hunter disease  
Hurler syndrome  
Infantile agranulocytosis  
Maroteaux-Lamy syndrome

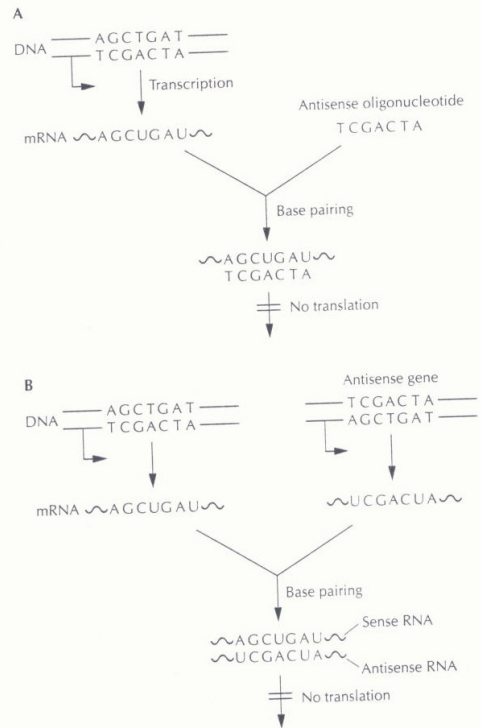
Metachromatic leukodystrophy  
Non-ADA-deficient severe combined immunodeficiency  
Osteopetrosis  
Purine nucleotide phosphorylase deficiency  
Reticular dysgenesis  
Sanfilippo syndrome  
Sickle-cell disease  
Thalassemia  
Wiskott-Aldrich syndrome  
X-linked agammaglobulinemia

**Figure 17.5** Genetic diseases that can be treated by bone marrow transplantation.





**Figure 17.6** Schematic representation of in vivo gene therapy. A cloned, expressible remedial gene is delivered to cells of a tissue of a patient with a genetic disease. The promoter ( $p$ ) is tissue specific, and the remedial gene (Gene X) encodes a protein that corrects the genetic defect of the patient.



**Figure 17.7** Two strategies using antisense therapy for inhibition of specific mRNAs. The right-angled, rightward pointing arrows show the direction of transcription from the lower DNA strand of the DNA duplexes of a chromosome. **A.** Antisense oligonucleotide strategy: An oligonucleotide that has an antisense sequence to a region of a target mRNA is introduced into a cell; by base pairing to the target mRNA, it prevents the translation of this mRNA. **B.** Antisense gene strategy: An expressible gene that is cloned in its reverse orientation is introduced into a cell. The RNA that is transcribed from this construct is the antisense sequence of the normal mRNA. When the antisense RNA base pairs with the mRNA, translation of the mRNA is prevented. The antisense RNA does not contain signals for the initiation of translation.

Acute myeloid leukemia  
AIDS  
Atherosclerosis  
Breast cancer  
Cardiovascular disease  
Colon cancer  
Cystic fibrosis  
Emphysema

Fabry disease  
Gaucher disease  
Hemophilia A  
Hemophilia B  
Hypercholesterolemia  
Leukemia  
Liver cancer  
Lung cancer

Macular degeneration  
Malignant melanoma  
Neuroblastoma  
Osteoporosis  
Parkinson disease  
Renal cell carcinoma  
SCID  
Sickle-cell anemia

**Figure 17.8** Diseases that are currently being considered for treatment with somatic cell gene therapies.

