|  |  |
| --- | --- |
| **Anexo II****TITULACIÓN: Grado en Biología****MEMORIA INICIAL DEL TRABAJO FIN DE GRADO****CENTRO: Facultad de Ciencias Experimentales****CURSO ACADÉMICO: 2014-15** |  |
| **Interacción epistática de *IFN4* con genes de inmunidad innata en la susceptibilidad a la infección por el VIH-1 y VHC** |
| 1. DATOS BÁSICOS DE LA ASIGNATURA |
| **NOMBRE:** Trabajo Fin de Grado |
| CÓDIGO: 10216001 | CARÁCTER: Obligatorio |
| Créditos ECTS: 12 | CURSO: Cuarto | CUATRIMESTRE: Segundo |
|  |
| 2. TUTOR/COTUTOR(en su caso) |
| Antonio José Caruz Arcos |
| 3. VARIANTE Y TIPO DE TRABAJO FIN DE GRADO (Artículo 8 del Reglamento de los Trabajos Fin de Grado) |
| **Experimental**  |
| 4. COMPETENCIAS (\*) Y RESULTADOS DE APRENDIZAJE |
| **Competencias generales**:CG1, CG2, CG4, CG5, CG6, CG7, CG8, CG9, CG11, CG12**Competencias transversales:**CT1, CT2, CT3, CT4, CT5, CT6, CT7, CT8, CT9, CT10**Competencias Específicas:**CE4, CE6, CE9. CE36, CE37, CE39, CE40, CE41 |
| Resultados de aprendizaje |
| **Resultado 216001A** | Capacidad de integrar creativamente sus conocimientos para resolver un problema biológico real.  |
| **Resultado 216001B** | Capacidad para estructurar una defensa sólida de los puntos de vista personales apoyándose en conocimientos científicos bien fundados. |
| **Resultado 216001C** | Destreza en la elaboración de informes científicos complejos, bien estructurados y bien redactados.  |
| **Resultado 216001D** | Destreza en la presentación oral de un trabajo, utilizando los medios audiovisuales más habituales. |
| **Resultado 216001E** | Capacidad para realizar tareas especializadas en biología molecular y celular |
| 5. ANTECEDENTES |
|  Los interferones de tipo III inducen actividad antiviral mediante la unión con el receptor R1/IL10R2 y la activación de la vía JAK-STAT [1]. Este proceso conduce a la activación de los denominados *Interferon Stimulated Genes* (ISG) incluyendo entre otros IFIT1, MX1 y OASL. El uso complementario de tecnologías GWAS y RNA-seq permitió la identificación de un SNPs funcional dentro del gen IFN (rs368234815) asociado con la curación espontánea del virus de la hepatitis C (HCV) y la respuesta al tratamiento contra el VHC [2-4]. Sin embargo, hay un fenotipo aparentemente contradictorio con respecto a esta asociación. El alelo protector del marcador rs368234815 incluye un polimorfismo de tipo *frameshift* que introduce un codón de parada prematuro que bloquea la traducción correcta de la proteína. El *knock-out* natural de este gen son individuos portadores en homocigosis del alelo protector (TT/TT). Estudios *in vitro* observaron que el genotipo protector induce niveles más altos de IL28B así como IP10 [5]. Estas observaciones son paradójicas. Se ha propuesto que el pretratamiento con IFN4 puede inducir una desensibilización frente a IFN o activar un algoritmo genético que deteriora la erradicación efectiva del VHC [1]. Aunque miembros de la familia de IFNλ pueden inhibir la infección por VIH-1 de los macrófagos y las células T *in vitro*, su efecto en la replicación viral es limitada *in vivo* [6, 7]. A pesar de ello, varios estudios han analizado la asociación entre el *IFN4* y la susceptibilidad o progresión de la infección por el VIH-1, obteniendo resultados contradictorios (7-11). Por esa razón es necesario realizar estudios adicionales de asociación con el fin de aclarar el efecto específico de este gen en la susceptibilidad de infección por VIH-1. Por lo tanto, el objetivo de este estudio será analizar la interacción epistática de *IFN4* con otros genes de inmunidad innata (complemento, receptores del complemento, péptidos antimicrobianos y ruta de señalización de Vitamina D) y la susceptibilidad a la infección por VIH-1 en una cohorte bien caracterizada de usuarios de drogas intravenosas incluyendo altamente expuestos seronegativos (HESN) y VIH-1. |
| 6. HIPÓTESIS DE TRABAJO |
| Determinar si *IFN4* interacciona epistáticamente con genes de la inmunidad innata para condicionar la resistencia a la infección por VIH y VHC. Debido a que actualmente se utiliza la tecnología Taqman para diagnósticar el SNP rs368234815 de IFN4 sería interesante optimizar el diagnóstico mediante otra tecnología más barata como HRM.  |
| 7. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES A REALIZAR |
| Fase 1: Ensamblaje de las bases de datos genéticas de pacientes VIH+ y Expuestos no infectados. Incluye 3 genotipados masivos de las rutas del complemento, inmunidad innata y LDLR. Fase 2: Estudios de asociación genética de marcadores simples utilizando el software Plink y Haploview Fase 3: Imputación de haplotipos y cálculo de asociación haplotípica Fase 4:Estudios de interacción epistática entre IFNL4 y todos los marcadores disponibles tanto para la infección por VIH como VHC.Fase 5: Puesta a punto del diagnóstico del polimorfismo de IFNL4 mediante HRM. |
| 8. DOCUMENTACIÓN/BIBLIOGRAFÍA |
| 1. O'Brien TR, Prokunina-Olsson L, Donnelly RP. IFN-lambda4: The Paradoxical New Member of the Interferon Lambda Family. J Interferon Cytokine Res 2014,34:829-838.
2. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. Nature 2009,461:399-401.
3. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. Nature 2009,461:798-801.
4. Prokunina-Olsson L, Muchmore B, Tang W, Pfeiffer RM, Park H, Dickensheets H, et al. A variant upstream of IFNL3 (IL28B) creating a new interferon gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus. Nat Genet 2013,45:164-171.
5. Bibert S, Roger T, Calandra T, Bochud M, Cerny A, Semmo N, et al. IL28B expression depends on a novel TT/-G polymorphism which improves HCV clearance prediction. J Exp Med 2013,210:1109-1116.
6. Liu MQ, Zhou DJ, Wang X, Zhou W, Ye L, Li JL, et al. IFN-lambda3 inhibits HIV infection of macrophages through the JAK-STAT pathway. PLoS One 2012,7:e35902.
7. Tian RR, Guo HX, Wei JF, Yang CK, He SH, Wang JH. IFN-lambda inhibits HIV-1 integration and post-transcriptional events in vitro, but there is only limited in vivo repression of viral production. Antiviral Res 2012,95:57-65.
8. Real LM, Neukam K, Herrero R, Guardiola JM, Reiberger T, Rivero-Juarez A, et al. IFNL4 ss469415590 variant shows similar performance to rs12979860 as predictor of response to treatment against Hepatitis C Virus genotype 1 or 4 in Caucasians. PLoS One 2014,9:e95515.
9. de la Torre MS, Torres C, Nieto G, Vergara S, Carrero AJ, Macias J, et al. Vitamin D receptor gene haplotypes and susceptibility to HIV-1 infection in injection drug users. J Infect Dis 2008,197:405-410.
10. Caruz A, Neukam K, Rivero-Juarez A, Herrero R, Real LM, Camacho A, et al. Association of low-density lipoprotein receptor genotypes with hepatitis C viral load. Genes Immun 2014,15:16-24.
11. Martin MP, Qi Y, Goedert JJ, Hussain SK, Kirk GD, Hoots WK, et al. IL28B polymorphism does not determine outcomes of hepatitis B virus or HIV infection. J Infect Dis 2010,202:1749-1753.
12. Rallon NI, Restrepo C, Naggie S, Lopez M, Del Romero J, Goldstein D, et al. Interleukin-28B gene polymorphisms do not influence the susceptibility to HIV-infection or CD4 cell decline. AIDS 2011,25:269-271.
13. Salgado M, Kirk GD, Cox A, Rutebemberwa A, Higgins Y, Astemborski J, et al. Protective interleukin-28B genotype affects hepatitis C virus clearance, but does not contribute to HIV-1 control in a cohort of African-American elite controllers/suppressors. AIDS 2011,25:385-387.
14. Machmach K, Abad-Molina C, Romero-Sanchez MC, Abad MA, Ferrando-Martinez S, Genebat M, et al. IL28B single-nucleotide polymorphism rs12979860 is associated with spontaneous HIV control in white subjects. J Infect Dis 2013,207:651-655.
15. Machmach KA-M, C.; Romero-Sánchez, M.C.; Dominguez-Molina, B.;, Moyano MR, MdM.; Benhnia, M.R.; Jimenez-Mejias, M.E.; Vidal, F.; Muñoz-Fernández, M.A.; Genebat,, M.; Viciana PG-E, M.F.; Leal, M.; Ruiz-Mateos, E. IFNL4 ss469415590 polymorphism is associated with unfavourable clinical and immunological status in HIV-infected individuals. Clinical Microbiology and Infection 2014.
 |
| 9. CRONOGRAMA PROVISIONAL |
| En función de la disponibilidad del alumno y del laboratorio, este trabajo será realizado en horario de mañana o tarde.El cronograma semanal provisional puede establecerse de la siguiente forma:**Semanas I**: Ensamblaje de las bases de datos genéticas disponibles.**Semanas II-IV**: Estudios de asociación e interacción génica de IFNL4 con genes del complemento, tanto a nivel de marcador simple como de haplotipos.**Semana V-VI**: HRM para el genotipado de IFN4  |