

Remodelling της χρωματίνης και καρκίνος

Davis PK, Brachmann RK
Cancer Biology & Therapy 2003; 2:(1)24-31

Απόδοση στα ελληνικά: Φ. ΒΛΑΣΤΟΣ, Πνευμονολόγος, Επιμελητής Α' ΚΑΑ ΝΝΘΑ

Το δύσκολο καθήκον της ρύθμισης χιλιάδων γονιδίων, ζωτικών για την κυτταρική λειτουργία, έχει αναληφθεί από συγκεκριμένους μεταγραφικούς παράγοντες, τη μηχανή της βασικής μεταγραφής (the basal transcription machinery) και πολλά πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα του remodelling της χρωματίνης. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες πρέπει να συνεργασθούν κατάλληλα ώστε να επιτευχθεί η ενεργοποίηση και η καταστολή συγκεκριμένων γονιδίων. Εφόσον κεντρικό χαρακτηριστικό του καρκίνου αποτελεί η δυσλειτουργία του μεταγραφικού ελέγχου, δεν είναι περίεργο ότι οι μεταβολές των μονοπατιών του remodelling της χρωματίνης έχουν χαρακτηριστεί σαν μέρος της στρατηγικής των καρκινικών κυττάρων.

Εισαγωγή

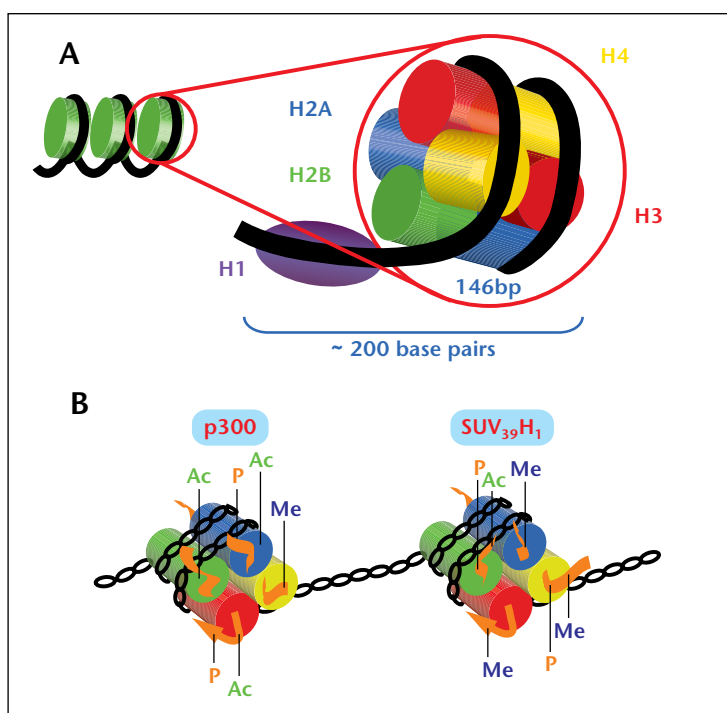
Κάθε στιγμή, στα κύτταρα των θηλαστικών, χιλιάδες γονίδια ενεργοποιούνται ή καταστέλλονται σύμφωνα με μια συγκροτημένη και πολύπλοκη διαδικασία. Με αυτόν τον τρόπο διασφαλίζονται οι φυσιολογικές λειτουργίες των κυττάρων. Εκτός από την ανάγκη για ορθή έκφραση των γονιδίων, τα κύτταρα των θηλαστικών αντιμετωπίζουν, επίσης, την ανάγκη για αποθήκευση των γενετικών πληροφοριών στα ενδότερα του πυρήνα. Η λύση αυτού του προβλήματος της φύσης είναι η δομή οργάνωσης ανώτερης τάξης (σε σχέση με αυτή του DNA) που καλείται χρωματίνη. Τα βασικά δομικά συστατικά της χρωματίνης είναι τα νουκλεοσώματα, που αποτελούνται από 146

ζεύγη βάσεων του DNA. Τα ζεύγη αυτά είναι τυλιγμένα γύρω από ένα οκταμερές που περιέχει τέσσερα ζεύγη από πυρηνικές ιστόνες, τις H2A, H2B, H3 και H4 (εικόνα 1A)¹.

Τα νουκλεοσώματα βρίσκονται με τη σειρά τους τυλιγμένα με τη βοήθεια της συνδετικής ιστόνης H1 και άλλων πρωτεϊνών, σε ένα οργανωμένο, νουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο²⁻⁴. Η χρωματίνη μπορεί να διαιρεθεί λειτουργικά σε δύο υποκατηγορίες, την ευχρωματίνη και την ετεροχρωματίνη. Η ετεροχρωματίνη είναι ένα είδος συμπυκνωμένης χρωματίνης που βρίσκεται, για παράδειγμα, σε ειδικές χρωματοσωματικές δομές, όπως τα κεντρομερή και τα τελομερή. Μόνο το 1,5% του ανθρώπινου γονιδιώματος κωδικοποιεί γονίδια⁵ και ελάχιστο τμήμα από αυτές τις κωδικοποιούσες αλληλουχίες βρίσκονται στην ετεροχρωματίνη. Η μεγάλη πλειοψηφία των γονιδίων βρίσκεται στην ευχρωματίνη, που υφίσταται συνεχώς ρυθμιστικές δομικές αλλαγές, έτσι ώστε να ενεργοποιηθούν ή να κατασταλούν συγκεκριμένα γονίδια⁶⁻⁸.

Συνεπώς, η έκφραση των γονιδίων δεν περιλαμβάνει απλώς τη λειτουργία του συνολικού μεταγραφικού μηχανισμού και συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων, αλλά, επίσης, εξαρτάται από πρωτεΐνες που είναι ικανές να μεταβάλλουν την αρχιτεκτονική της χρωματίνης.

Κατά την τελευταία δεκαετία σημειώθηκε έκρηξη πληροφοριών σχετικών με τους παράγοντες που αναδιαμορφώνουν τη χρωματίνη και τη συμμετοχή τους στη γονιδιακή ρύθμιση. Εφόσον ο μεταγραφικός έλεγχος είναι θεμελιώδης για το φυσιολογικό πολυπλοκασμό

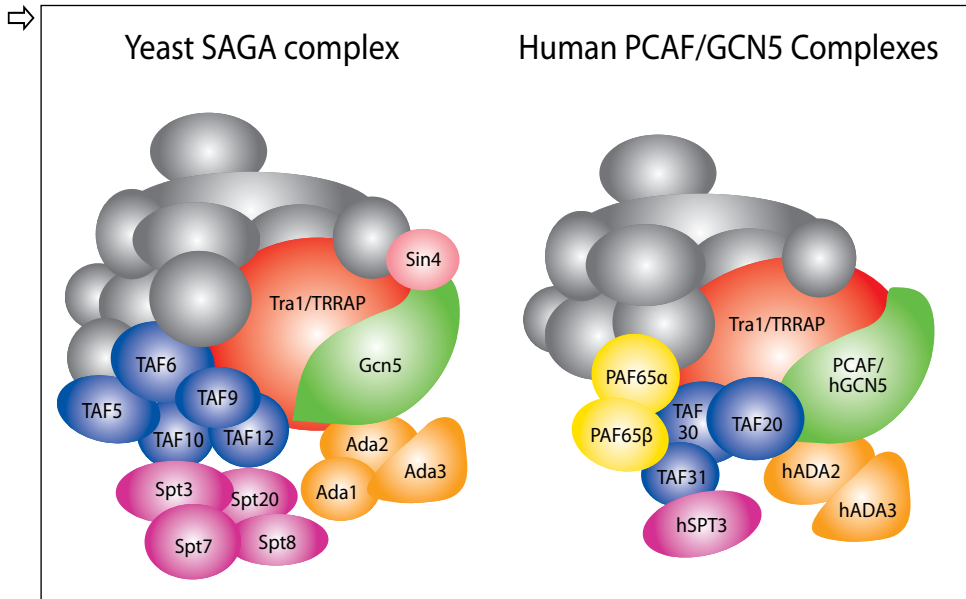


Εικόνα 1. Το νουκλεόσωμα και η ρύθμισή του μέσω των μεταβολών των απολήξεων των ιστονών.

(A) Το νουκλεόσωμα αποτελεί τη βασική δομική μονάδα για την ανώτερης τάξης δομή της χρωματίνης. Τα νουκλεοσώματα αποτελούνται από 146 ζεύγη βάσεων (base pairs-bp) του DNA τυλιγμένα γύρω από οκτώ πυρηνικές ιστόνες (από δύο H2A, H2B, H3 και H4). Η συνδετική ιστόνη H1 και άλλες μη-ιστονικές πρωτεΐνες βοηθούν στο περαιτέρω τυλίγμα των νουκλεοσωμάτων σε ένα συγκροτημένο νουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο.

(B) Οι αμινικές ομάδες στις απολήξεις των ιστονών (histone tails), ιδιαίτερα των ιστονών H3 και H4, αποτελούν μείζονα στόχο των μετα-μεταγραφικών μεταβολών, όπως η ακετυλίωση (Ac), η μεθυλίωση (Me) και η φωσφορυλίωση (P). Μπορούν, αφ' εαυτού τους, να επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό την αλληλεπίδραση μεταξύ DNA και ιστονών. Επιπλέον, συγκεκριμένοι συνδυασμοί μεταβολών των ιστονικών απολήξεων μπορεί να αντιπροσωπεύουν έναν «Κωδικό των Ιστονών» που επιτρέπει στα ένζυμα του remodelling της χρωματίνης να συνδεθούν με ορισμένες ιστόνες. Πράγματι, πολλά τέτοια ένζυμα διαθέτουν ειδικές περιοχές γι' αυτό το σκοπό. Για παράδειγμα, η p300, μια ακετυλοτρανσφεράση ιστόνης (HAT), και άλλες πρωτεΐνες διαθέτουν μια ειδική ομάδα που μπορεί να δρα άμεσα με τις ακετυλο-ημισίνες. Η SUV39H1, μια μεθυλοτρανσφεράση, και άλλες πρωτεΐνες διαθέτουν μια ειδική περιοχή που επιτρέπει την ειδική αλληλεπίδραση με τις μεθυλι-ημισίνες.





Εικόνα 2. Τα ένζυμα του remodelling της χρωματίνης δρουν στα πλαίσια μεγάλων πολυ-πρωτεϊνικών συμπλοκών. Το παράδειγμα των ζυμομυκήτων και των συμπλοκών της ανθρώπινης HAT δείχνει πόσο σύνθετη είναι η ρύθμιση των ενζύμων του remodelling και υπογραμμίζει την αξιοθαύμαστη διατήρηση αυτών των συμπλοκών κατά τη διάρκεια της εξέλιξης. Η HAT Gcn5 των ζυμομυκήτων διαθέτει δύο ομόλογα των ανθρώπινων ενζύμων, το PCAF και το hGCN5, που υπάρχουν σε διακριτά σύμπλοκα με παρόμοια σύσταση. Λειτουργικά δεδομένα για τις πρωτεΐνες των συμπλοκών προέρχονται από μελέτες των συμπλοκών SAGA (Spt-Ada-Gcn5-acetyltransferase) των ζυμομυκήτων. Πολλές πρωτεΐνες (Tra1/TRRAP, γAda2 και γAda3) μπορεί να δρουν σαν πρωτεΐνες προσαρμογής, που παρέχουν μεταγραφικούς παράγοντες που έχουν πρόσβαση στα σύμπλοκα των HAT. Άλλα ένζυμα, ιδιαίτερα οι πρωτεΐνες Spt, φαίνεται ότι παρέχουν δομική ακεραιότητα στο σύμπλοκο SAGA.

και τη διαφοροποίηση των κυττάρων, δεν είναι παράδοξο που οι γονιδιακές ανωμαλίες των παραγόντων που αναδιαμορφώνουν τη χρωματίνη έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση του καρκίνου. Το κείμενο αυτό υπογραμμίζει τις σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ χρωματίνης και καρκίνου και επιχειρεί μια γενική επισκόπηση του θέματος.

Παράγοντες που εμπλέκονται στο remodelling της χρωματίνης

Μετα-μεταγραφικές μεταβολές των απολήξεων των πυρηνικών ιστονών (histone tails) είναι γνωστό ότι εμφανίζονται σε συγκεκριμένες φάσεις της χρωματίνης¹⁵⁻¹⁶. Πολλές μελέτες υποθέτουν ότι αυτές οι μεταβολές μπορούν να επηρεάσουν την τάση σύνδεσης μεταξύ ιστονών και DNA, μειώνοντας ή αυξάνοντας τη μεταξύ τους σχέση^{10,15}.

Οι απολήξεις των πυρηνικών ιστονών μπορούν να μεταβληθούν μέσω ακετυλίωσης, μεθυλίωσης ή φωσφορυλίωσης. Η μεθυλίωση συγκεκριμένων μορίων ιλυσίνης στις ιστόνες H3 και H4 θεωρείται υπεύθυνη ενίσχυσης της σχέσης τους με το DNA^{17,18}, γεγονός που συμφωνεί με τη συσχέτιση μεταξύ καταστολής γονιδίων και μεθυλίωσης των ιστονών. Για πολλά χρόνια, η φωσφορυλίωση της σερίνης των ιστονών H1 και H3 έχει ενοχοποιηθεί για το φαινόμενο της χρωματοσωματικής συμπύκνωσης κατά τη διάρκεια της μίτωσης¹⁹. Η ακετυλίωση των ιστονικών ιλυσινών έχει συνδεθεί με αυξημένη μεταγραφή. Η ακετυλίωση των ιστονών θεωρείται υπεύθυνη για το συνολικό θετικό φορτίο των απολήξεων, γεγονός που προκαλεί μια χαλαρή κατάσταση του DNA μέσα στο νουκλεόσωμα, μέσω μείωσης των ηλεκτροστατικών επαφών μεταξύ ιστονών και DNA^{14,20}. Οι αρχικές μελέτες συσκοτίστηκαν από την έλλειψη γνώσης σχετικής με τους παράγοντες που ευθύνονται γι' αυτές τις μεταβολές. Το σκηνικό, όμως, άλλαξε με το χαρακτηρισμό της πρώτης ακετυλοτρανσφεράσης των ιστονών (histone acetyltransferase - HAT) στο μικροοργανισμό *Tetrahymena thermophila*, ο οποίος συνοδεύθηκε από την ανακάλυψη πολλών άλλων ενζύμων και παραγόντων που επηρεάζουν τη χρωματίνη²¹.

Οι ακετυλοτρανσφεράσες και οι δεακετυλάσες των ιστονών

Οι HATάσες στα κύτταρα των θηλαστικών έχουν καταταγεί σε οικογένειες, σύμφωνα με τις ομολογίες τους^{11,22,23}. Πολλές απ' αυτές μπορούν να διακριθούν περαιτέρω με βάση την ικανότητά τους να ακετυλιώνουν συγκεκριμένες ιλυσίνες των ιστονών και με βάση τα πολυ-πρωτεϊνικά σύμπλοκα στα οποία βρίσκονται. Σε γε-

νικές γραμμές, η ενζυμική τους δράση βοηθά τους μεταγραφικούς παράγοντες και γι' αυτό περιγράφονται ενίοτε ως συν-ενεργοποιητές (coactivators).

Η οικογένεια της Gcn5-related N-acetyltransferase (GNAT) είναι η περισσότερο γνωστή από τις οικογένειες των HAT. Περιλαμβάνει τις HATάσες των θηλαστικών, την Gcn5 και τον παράγοντα που συνδέεται με την p300/CBP (p300/CBP-associated factor - PCAF)¹¹. Ομόλογες ουσίες της Gcn5 υπάρχουν σε πολλούς οργανισμούς, όπως στη μύγα, στο ποντίκι και στον άνθρωπο, γεγονός που υποδηλώνει διατήρησή της σε όλη την εξελικτική αλυσίδα.

Η οικογένεια MYST των HATάσων περιλαμβάνει το human monocytic leukaemia zinc finger (MOZ), τον MOZ-related factor (MORF), την histone acetyltransferase bound to origin of recognition complex (HBO1) και την TAT-interactive protein 60 (Tip60). Η Tip60 ήταν η πρώτη ανθρώπινη MYST HAT που ανακαλύφθηκε και πρόσφατα ανακοινώθηκε ότι παίζει ρόλο στην επιδιόρθωση του DNA και στην απόπτωση²⁶. Οι MOZ και MORF είναι σε υψηλό βαθμό ομόλογες και φαίνεται ότι σχετίζονται με την ανάπτυξη των οστών, αλλά και με την ανάπτυξη λεμφώματος από T λεμφοκύτταρα²⁷.

Η οικογένεια CBP/p300 αποτελείται από τις ομόλογες σε υψηλό βαθμό πρωτεΐνες CREB-binding protein (CBP) και p300. Και οι δύο φαίνεται ότι ρυθμίζουν μια ποικιλία βιολογικών αντιδράσεων, όπως η κυτταρική διαφοροποίηση, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η απόπτωση^{14,30}. Είναι, επίσης, σημαντικές για την ανάπτυξη, όπως φάνηκε από την αυξημένη θνητότητα των πειραματοζώων που δεν τις διέθεταν³¹.

Η ομάδα των HATάσων που ενεργοποιούν τους πυρηνικούς υποδοχείς αλληλεπιδρούν με τους ορμονικούς, πυρηνικούς υποδοχείς και αυξάνουν την ενεργοποίησή τους κατά τρόπο εξαρτώμενο από τη συνδεδεμένη ουσία¹⁴. Τα τρία μέλη της οικογένειας αυτής, ο steroid receptor coactivator-1 (SRC-1), ο SRC-2 (γνωστός επίσης και ως TIF2 και GRIP1) και ο SRC-3 (γνωστός επίσης και ως ACTR, AIB1, pCIP, RAC3 και TRAM-1) μπορούν να αλληλεπιδρούν με πολλούς πυρηνικούς υποδοχείς¹⁴. Η δραστηριότητά του ως HAT έχει καταδειχθεί μόνο για τον SRC-1 και τον SRC-3.

Ο TAFII250 (TATA-binding protein-associated factor) είναι ένας από τους πολλούς TAFs που βρίσκονται στο βασικό μεταγραφικό σύμπλοκο TFIID, αλλά είναι ο μόνος που εμφανίζει δραστηριότητα HAT¹². Το TFIID συνδέεται αρχικά με την επαγωγική αλληλουχία (promoter sequence) μέσω της πρωτεΐνης της (TATA binding protein - TBP). Αυτή η σύνδεση επιστρατεύει το μεταγραφικό σύμπλοκο (RNA polymerase II transcription pre-initiation complex)³². Ένας ⇨

δυνतिकός ρόλος του TAFII250 μπορεί να είναι η διευκόλυνση της προσέγγισης της TBP στις επαγωγικές αλληληλουχίες, μέσω της ακετυλίωσης των ιστονών H3 και H4³².

Μερικές από τις HATs είναι ικανές να ακετυλιώνουν μη ιστονικές πρωτεΐνες και γι' αυτό αποκαλούνται και FATs (factor acetyltransferases)³⁰. Τα περισσότερα γνωστά μη ιστονικά υποστρώματα ακετυλιώνονται από τις PCAF, p300 ή CBP και είναι, συνήθως, μεταγραφικοί παράγοντες, γεγονός που αποτελεί έναν επιπλέον μηχανισμό μεταγραφικής ρύθμισης. Οι ακετυλιούμενες πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τους βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες TFIIIB και TFIIIF, την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (pRB), τους παράγοντες που σχετίζονται με τη χρωματίνη HMG-14, HMG-17 και HMG I(Y), τους πυρηνικούς μεταγωγικούς παράγοντες importin-α και Rch1, κ.ά. Η ακετυλίωση πολλών από αυτούς τους παράγοντες καταλήγει σε τροποποίηση της σύνδεσης του DNA, όπως έχει καταδειχθεί από μελέτες in vitro και in vivo^{31,33-35}. Η ακετυλίωση του κατασταλτικού των όγκων p53, σαν απόκριση σε ποικίλα κυτταρικά στρες, έχει ήδη διερευνηθεί επαρκώς. Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου η ακετυλίωση ενεργοποιεί πλήρως το p53 δεν έχει διευκρινισθεί.

Η δράση των HATs αντirroπείται από αυτήν των ιστονικών δεακετυλάσων (HDACs). Με βάση τις ομοιότητες τους προς τις πρωτεΐνες των ζυμομυκήτων, τρεις ομάδες από ανθρώπινες HDACs έχουν ταυτοποιηθεί. Οι δεασετυλάσες αυτές μπορεί να προκαλούν γονιδιακή καταστολή μέσω ακετυλίωσης των ιστονών. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τις HDAC1, HDAC2, HDAC3 και HDAC8, ενώ η δεύτερη αποτελείται από τις HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7 και HDAC9^{41,42}. Οι HDACs της τρίτης ομάδας είναι ομόλογες με την πρωτεΐνη των ζυμομυκήτων Sir2 (silent information regulator 2) και εξαρτώνται από τη δραστηριότητα της NAD⁺. Υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα για το ρυθμιστικό ρόλο των HDACs των θηλαστικών. Ωστόσο, μελέτες στους ζυμομύκητες υποδηλώνουν ότι οι ουσίες αυτές έχουν ποικίλες βιολογικές δράσεις, από την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου έως τη χρωματοσωματική σταθερότητα.

Οι κινάσες

Η φωσφορυλίωση της ιστόνης H3 στη θέση της σερίνης 10 και, ενδεχομένως, στη θέση της σερίνης 28 έχει θεωρηθεί σαν σημαντικό συμβάν για τη συμπύκνωση της χρωματίνης κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Η φωσφορυλίωση αυτή της σερίνης 10 ίσως υποβοηθείται από την κινάση IPL1/Aurora¹⁰. Ωστόσο, η φωσφορυλίωση της σερίνης 10 της ιστόνης H3 έχει συσχετισθεί με τη γονιδιακή ενεργοποίηση.

Η έκθεση των ινοβλαστών στον επιδερμοειδή παράγοντα καταλήγει στη φωσφορυλίωση της ιστόνης H3 μέσω της επαγωγής των γονιδίων πρώιμης απόκρισης¹⁰. Η ειδική φωσφορυλίωση της ιστόνης H3 πιθανότατα λειτουργεί σαν σήμα για την ακετυλίωση των γειτονικών θυσινών, εφόσον η ακετυλίωση in vitro των φωσφορυλιωμένων ιστονών H3 στη θέση σερίνη 10 είναι πέντε έως δέκα φορές μεγαλύτερη από αυτή των μη φωσφορυλιωμένων ιστονών H3¹⁰. Δύο κινάσες ίσως εμπλέκονται στη φωσφορυλίωση της ιστόνης H3 μετά από διέγερση με τον αυξητικό παράγοντα, η Rsk-2 και η MSK1, αλλά οι συγκεκριμένοι ρόλοι και οι μηχανισμοί παραμένουν αδιευκρίνιστοι⁴⁵. Η εμπλοκή της φωσφορυλίωσης της σερίνης 10, τόσο κατά την ενεργοποίηση, όσο και κατά την καταστολή των γονιδίων, υποδηλώνει τη σημασία των μεταβολών των ιστονών και των παραγόντων που συμμετέχουν στο γονιδιακό περιβάλλον.

Οι μεθυλτρανσφεράσες

Όπως και η ακετυλίωση, η μεθυλίωση περιλαμβάνει, επίσης, πολλές ιστόνες H3 και H4¹⁰. Η ανθρώπινη μεθυλτρανσφεράση

SUV39H1, η οποία αφθονεί στην περιοχή της ετεροχρωματίνης, μπορεί να μεθυλιώσει την ιστόνη H3. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ένα σημαντικό ρόλο της ιστονικής μεθυλίωσης για τις λειτουργίες της ετεροχρωματίνης. Επιπλέον, ενισχυτικά στοιχεία για την παραπάνω υπόθεση έρχονται από μια μελέτη που έδειξε ότι μια άλλη πρωτεΐνη που σχετίζεται με την ετεροχρωματίνη, η HP1, συνδέεται ισχυρά με τη μεθυλιωμένη ιστόνη H3. Αυτή η αλληλεπίδραση καταλύεται από την περιοχή chromodomain της HP1, μια περιοχή που βρίσκεται και στην SUV39H1¹⁸. Η περιοχή αυτή (chromodomain) είναι μια αλληλουχία περίπου 50 αμινοξέων που διατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της εξέλιξης, η οποία βρίσκεται σε μια μεγάλη ποικιλία πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη γονιδιακή καταστολή. Συνεπώς, η περιοχή αυτή (chromodomain) μπορεί να επιτρέψει σε πολλές πρωτεΐνες που καταστέλλουν γονίδια να στοχεύσουν συγκεκριμένες περιοχές της χρωματίνης. Όπως και η φωσφορυλίωση, η μεθυλίωση φαίνεται ότι παίζει, επίσης, αντίθετους ρόλους στη γονιδιακή ρύθμιση, εφόσον εμπλέκεται τόσο στην καταστολή, όσο και στην ενεργοποίηση. Έχει δειχθεί ότι η CARM1 μεθυλτρανσφεράση μεθυλιώνει την ιστόνη H3 in vitro. Η εμπλοκή της ιστονικής μεθυλίωσης στη μεταγραφική ενεργοποίηση απορρέει από το ρόλο της CARM1 ως συν-ενεργοποιητή (coactivator), ο οποίος δρα σε συνεργασία με την ομάδα των συν-ενεργοποιητών p160¹⁷. Η σχετιζόμενη μεθυλτρανσφεράση PRMT1 είναι πιθανότατα υπεύθυνη για τη μεθυλίωση της ιστόνης H4, ένα δεύτερο είδος μεθυλίωσης που σχετίζεται με τη γονιδιακή ενεργοποίηση, εφόσον διευκολύνει την ακετυλίωση μέσω των HAT και του συν-ενεργοποιητή p300¹⁷.

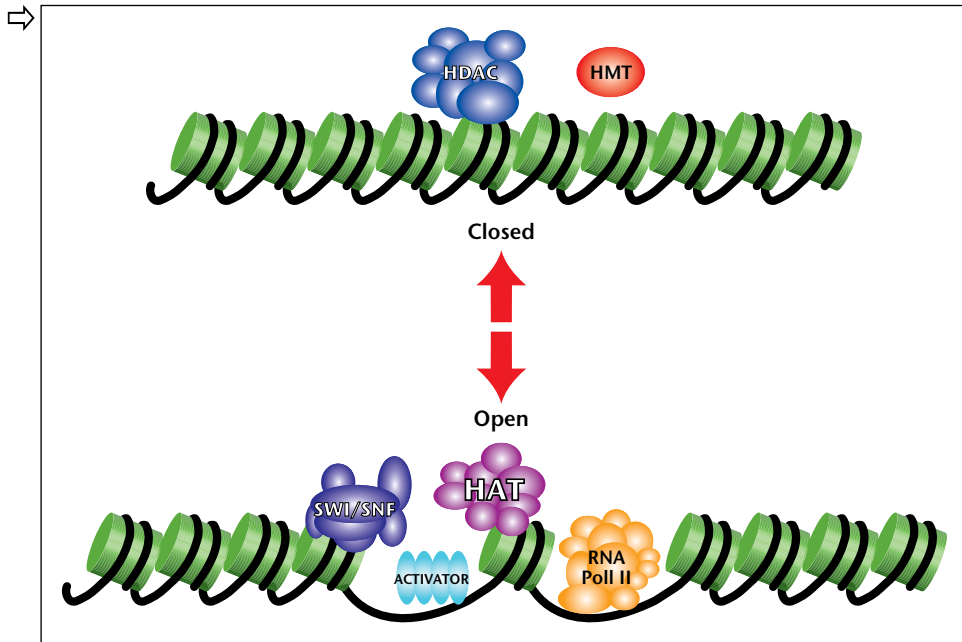
Ο «Κωδικός των Ιστονών» σαν ενοποιούσα υπόθεση για τη ρύθμιση της χρωματίνης

Το γεγονός ότι η μεταβολή μιας μόνο ομάδας της ιστόνης, μέσω φωσφορυλίωσης ή μεθυλίωσης, μπορεί να συνδεθεί με δύο αντίθετα αποτελέσματα στο επίπεδο του μεταγραφικού ελέγχου υποδηλώνει ότι άλλοι παράγοντες πρέπει να συμβάλλουν ώστε να προκύψει το τελικό αποτέλεσμα. Εφόσον οι μεταβολές των απολήξεων των ιστονών συχνά υπακούουν σε ορισμένα πρότυπα, η απαιτούμενη ειδικότητα μπορεί να κωδικοποιείται μέσω συνδυαστικών μετα-μεταγραφικών μεταβολών στις απολήξεις των ιστονών, γεγονός που οδήγησε στην υπόθεση της ύπαρξης ενός «Κωδικού των Ιστονών» (εικόνα 1B)^{45,47}. Μια ορισμένη μεταβολή των ιστονικών απολήξεων μπορεί να είναι ο «κωδικός» για την επιλεγμένη αλληλεπίδραση με συγκεκριμένες πρωτεΐνες που μεταβάλλουν τη χρωματίνη.

Πράγματι, αρκετές πρωτεΐνες που μπορούν να επιδράσουν στη χρωματίνη περιέχουν ειδικές περιοχές (bromodomains και chromodomains) για την αλληλεπίδραση με συγκεκριμένα νουκλεοσώματα (εικόνα 1B)^{45,47}. Η επιγενετική πληροφορία των προτύπων των ιστονικών μεταβολών μπορεί, λοιπόν, να είναι κρίσιμη για την οργάνωση και τη διατήρηση της χρωματίνης και μπορεί να παρέχει μια κεντρική μέθοδο της μεταγραφικής ρύθμισης.

Το εξαρτώμενο από το ATP remodelling της χρωματίνης

Εκτός από τις μετα-μεταγραφικές μεταβολές των απολήξεων των ιστονών, η σημασία μιας δεύτερης σειράς αντιδράσεων έχει φανεί καθαρά: πρόκειται για το εξαρτώμενο από το ATP remodelling της χρωματίνης. Τα σύμπλοκα του εξαρτώμενου από το ATP remodelling υδρολύουν το ATP ώστε να επαναδιευθετηθούν τα νουκλεοσώματα κατά μήκος του DNA, δημιουργώντας έτσι περιοχές χωρίς νουκλεοσώματα για την ενεργοποίηση των γονιδίων^{48,49}. Έχουν ανακαλυφθεί δύο ανθρώπινα σύμπλοκα, τα hBRM και hBRG1⁵¹⁻⁵³. Τα σύμπλοκα περιέχουν μια ATPάση και άλλες υποομάδες, π.χ. hSNF5, BAF250, BAF170, BAF155, BAF60a, BAF53, BAF57 και BAF180¹³. Τα σύμπλοκα του εξαρτώμενου από το ATP remodelling στοχεύουν τις επαγωγικές



Εικόνα 3. Τα σύμπλοκα του remodelling της χρωματίνης και η γονιδιακή ρύθμιση. Για να συμβεί η μεταγραφή, το DNA που είναι «πακεταρισμένο» μέσα στα νουκλεοσώματα πρέπει να καταστεί προσβάσιμο στην αντιγραφική μηχανή. Για το σκοπό αυτό, η δομή του νουκλεοσώματος μεταβάλλεται δυναμικά μεταξύ δύο φάσεων, «ανοιχτό» και «κλειστό», ώστε να επιτρέψει ή να απαγορεύσει την πρόσβαση στα γονίδια. Τα «κλειστά» νουκλεοσώματα διατηρούνται με τη βοήθεια των μεταβολών των ιστονών, όπως η δεακετυλίωση και η μεθυλίωση που πραγματοποιούνται με τη βοήθεια των δεακετυλάσων (HDACs) και των μεθυλτρανσφερασών (HMTs) των ιστονών. Ο μηχανισμός της RNA πολυμεράσης II (RNA Pol. II) αποκτά πρόσβαση στα γονίδια, ενώ το νουκλεόσωμα βρίσκεται στην «ανοιχτή» φάση του. Το «ανοιχτό» νουκλεόσωμα προϋποθέτει την συντονισμένη δράση ανάμεσα στους μεταγραφικούς παράγοντες (ενεργοποιητές), στα σύμπλοκα του remodelling εξαρτώμενα από το ATP (SWI/SNF) και στις ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (HATs).

περιοχές των γονιδίων μέσω αλληλεπιδράσεων με μεταγραφικούς παράγοντες και σε συνδυασμό με την RNA πολυμεράση II, αλλά, επίσης, έχει φανεί ότι συνδέονται και με άλλους τροποποιητές της χρωματίνης, όπως οι HATs και οι HDACs¹³. Όπως συμβαίνει και με τα ένζυμα που τροποποιούν τις ιστόνες, η παρουσία διαφορετικών συμπλόκων για το εξαρτώμενο από το ATP remodelling της χρωματίνης υποδηλώνει ότι έχουν πολύ συγκεκριμένους ρόλους τόσο για τη μεταβολή της δομής της χρωματίνης, όσο και για τη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων.

Το remodelling της χρωματίνης και οι σχέσεις του με τον καρκίνο

Ο συντονισμός των μεταγραφικών παραγόντων και των πρωτεϊνών του remodelling της χρωματίνης παρέχει μια σύνθετη πολύπτυχη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Για να προκύψει ανωμαλία της ρύθμισης της μεταγραφής, τα γονίδια θα έπρεπε να εκφραστούν με ανώμαλο τρόπο ή να σιγήσουν. Η παραπάνω ανωμαλία μπορεί να οδηγήσει σε ανώμαλη κυτταρική λειτουργία ή ασθένεια. Η αδρανοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων που είναι κρίσιμοι για τη φυσιολογική κυτταρική μίτωση και τη διαφοροποίηση είναι μια σημαντική στρατηγική για την ανάπτυξη νεοπλασιών, όπως υποδηλώνει η παρουσία μεταλλάξεων στο κατασταλτικό των όγκων γονίδιο p53, στο ήμισυ περίπου των ανθρώπινων καρκίνων⁵⁴. Πρόσφατα στοιχεία υποδεικνύουν ότι οι καρκίνοι απορυθμίζουν τη μεταγραφική ρύθμιση, στοχεύοντας τα μονοπάτια του remodelling της χρωματίνης⁵⁵⁻⁵⁷.

Εξαρτώμενα από το ATP σύμπλοκα του remodelling και καρκίνος

Οι μελέτες σε ραβδοειδείς όγκους (κυρίως παιδιατρικοί όγκοι στον εγκέφαλο και σε μαλακούς ιστούς) έχουν δώσει στοιχεία υπέρ μιας στενής σχέσης μεταξύ καρκίνου και remodelling της χρωματίνης. Η πλειοψηφία αυτών των όγκων εμφανίζουν μεταλλάξεις στο hSNF5/INI1, ένα συστατικό του συμπλόκου του εξαρτώμενου από το ATP της χρωματίνης⁵⁸.

Οι μεταλλάξεις του hSNF5/INI1 βρίσκονται επίσης και σε άλλους παιδιατρικούς καρκίνους, όπως στο καρκίνωμα του χοριοειδούς πλέγματος, σε κεντρικούς πρωτογενείς νευροεκτοδερματικούς όγκους⁵⁹, καθώς επίσης και σε ορισμένες οξείες λευχαιμίες⁶⁰. Αυτά τα ευρήματα και η παρατήρηση ότι οι ετεροζυγώτες ποντικοί που δεν διαθέτουν το γονίδιο hSNF5/INI1 εμφανίζουν όγκους, υπο-

στηρίζουν την κατάταξη του γονιδίου αυτού στα κατασταλτικά των όγκων γονίδια⁶¹⁻⁶³.

Επίσης, έχουν καταγραφεί μεταλλάξεις στις ATPάσες των συμπλόκων του εξαρτώμενου από το ATP της χρωματίνης, σε καρκινικές κυτταρικές σειρές, γεγονός που υποδηλώνει ότι μπορεί να αποτελούν στόχο στον καρκίνο⁶⁴.

Μεθυλτρανσφεράσες και καρκίνος

Αν και δεν έχουν βρεθεί μεταλλάξεις στις μεθυλτρανσφεράσες των ιστονών σε καρκινικά κύτταρα, πειραματόζωα που δε διαθέτουν τη μεθυλτρανσφεράση SUV39H1 εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο λόγω αστάθειας της χρωματίνης⁶⁶. Έμμεσες ενδείξεις που συνδέουν τη μεθυλίωση των ιστονών με τον καρκίνο αναφέρονται σε μια μελέτη που δείχνει μια άμεση συσχέτιση μεταξύ αλληλαγής θέσης της ιστόνης HP1 και μεταστατικού καρκίνου του μαστού¹⁸. Εφόσον η HP1 περιέχει μια ειδική περιοχή (chromodomain), είναι πιθανό ότι η μεταβολή της θέσης της HP1 σε ορισμένους όγκους του μαστού συνδέεται με ανώμαλη μεθυλίωση των ιστονών και γονιδιακή σιγή. Πρόσφατα, καταδείχθηκε μια συσχέτιση μεταξύ υπερμεθυλίωσης DNA (συνήθως σχετιζόμενης με γονιδιακή σιγή και εντοπιζόμενης στις επαγωγικές περιοχές των κατασταλτικών γονιδίων στους ανθρώπινους καρκίνους) και μεθυλίωσης της ηυσίνης 9 της ιστόνης H3 σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου⁶⁸.

HATάσες, HDACάσες και καρκίνος

Οι περισσότερες από τις διασυνδέσεις μεταξύ χρωματίνης και καρκίνου αφορούν σε παράγοντες που επιδρούν στην ακετυλίωση των ιστονών. Η οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία σχετίζεται συχνά με χρωμοσωματική μετάθεση^{15,17}, που καταλήγει σε σύντηξη μέρους του υποδοχέα του ρετινοϊκού οξέος (RAR) με το προϊόν του γονιδίου της προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (PML). Ανώμαλη γονιδιακή καταστολή μέσω συνεχούς επιστράτευσης των HDACs έχει, επίσης, παρατηρηθεί στα non-Hodgkin λεμφώματα. Συνεκτιμούμενα, όλα τα σχετικά δεδομένα δείχνουν καθαρά ότι τα σύμπλοκα του remodelling της χρωματίνης είναι ένας στρατηγικός στόχος για την ανάπτυξη των όγκων. Πιθανότατα, η απενεργοποίηση των πρωτεϊνών του remodelling της χρωματίνης κατά την καρκινογένεση περιλαμβάνει τις HATs. Ωστόσο, οι HATs βρίσκονται μέσα στα μεγάλα πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα. Αυτές οι μη ενζυματικές πρωτεΐνες των συμπλόκων των HAT μπορεί να προσφέρει επιπλέον στρατηγικούς στόχους για την ανάπτυξη των όγκων.

Συμπέρασμα

Το δύσκολο καθήκον της ρύθμισης χιλιάδων γονιδίων, ζωτικών για την κυτταρική λειτουργία, έχει αναληφθεί από συγκεκριμένους μεταγραφικούς παράγοντες, τη μηχανή της βασικής μεταγραφής (the basal transcription machinery) και πολλά πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα του remodelling της χρωματίνης. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες πρέπει να συνεργασθούν ώστε να επιτευχθεί η ενεργοποίηση και η καταστολή συγκεκριμένων γονιδίων (εικόνα 3). Εφόσον κεντρικό χαρακτηριστικό του καρκίνου αποτελεί η δυσλειτουργία του μεταγραφικού ελέγχου, δεν είναι περίεργο ότι οι μεταβολές των μονοπατιών του remodelling της χρωματίνης έχουν χαρακτηριστεί σαν μέρος της στρατηγικής των καρκινικών κυττάρων. Μέχρι σήμερα, ο στόχος της έρευνας σχετικά με το remodelling της χρωματίνης ήταν η ταυτοποίηση και ο χαρακτηρισμός των ενζύμων που αποτελούν τα κλειδιά για το remodelling της χρωματίνης, όπως οι ATPάσες στα εξαρτώμενα από το ATP σύμπλοκα του remodelling της χρωματίνης, οι HATs, οι HDACs και οι μεθυλτρανσφεράσες.

Συνεπώς, η έρευνα που σχετίζεται με τις γενετικές ανωμαλίες των μονοπατιών του remodelling της χρωματίνης στους ανθρώπινους καρκίνους έχει στραφεί προς αυτά τα ένζυμα-κλειδιά. Αυτή η στροφή είναι απολύτως δικαιολογημένη, εφόσον η μεγαλύτερη κατανόηση του ρόλου αυτών των ενζύμων κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης προσφέρει την προοπτική της δημιουργίας νέων αντικαρκινικών φαρμάκων. Καταστρέφοντας τη νεοδημιουργηθείσα ισορροπία μεταξύ γονιδιακής ενεργοποίησης και καταστολής, που επιτρέπει στο καρκινικό κύτταρο να προχωρήσει στη φονική του αναζήτηση, θα μπορούσε κανείς να βελτιώσει τη θεραπευτική προσέγγιση πολλών νεοπλασιών. Αυτή η στρατηγική εφαρμόζεται στους αναστολείς των HDAC που δοκιμάζονται σήμερα εναντίον των οξέων θλιευαίων^{41,42}. Η θεραπεία με αυτές τις ουσίες προκαλεί αυξημένη ακετυλίωση των ιστονών και, ίσως, οδηγεί σε εκ νέου έκφραση κατασταλημένων γονιδίων με αντινεοπλασματική δράση.

Τα ένζυμα του remodelling της χρωματίνης βρίσκονται σε μεγάλα πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα, των οποίων ο ακριβής ρόλος παραμένει υπό μελέτη, εφόσον ίσως αποτελούν επιπλέον στόχους μεταλλάξεων στις ανθρώπινες νεοπλασίες. Το αρχικό γεγονός που οδηγεί στην ανάπτυξη του όγκου πρέπει να παρέχει κάποιο πλεονέκτημα για την ανάπτυξη του καρκινικού κυττάρου, έτσι ώστε αυτό να περάσει ανενόχλητο τα σημεία ελέγχου ανωμαλιών κατά την κυτταρική μίτωση, στα οποία αλλιώς θα έπρεπε να είχε δοθεί η εντολή για τη διακοπή της μίτωσης ή την απόπτωση του εν λόγω κυττάρου.

Η απευθείας στόχευση των ενζύμων του remodelling της χρωματίνης από τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να οδηγεί σε μια γενικευμένη απορρύθμιση του μεταγραφικού ελέγχου. Συνεπώς, μια περισσότερο επιτυχημένη στρατηγική εναντίον των καρκίνων θα ήταν ίσως η γενετική τροποποίηση των μη ενζυματικών συστατικών αυτών των συμπλόκων που φαίνεται ότι εμποδίζουν το μεταγραφικό έλεγχο μιας μικρής ομάδας γονιδίων. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου hSNF5/INI1 στους όγκους ίσως αποτελεί ένα παράδειγμα αυτής της στρατηγικής, καθώς αντιπροσωπεύει ένα μη ενζυματικό συστατικό του εξαρτώμενου από το ATP συμπλόκου για το remodelling της χρωματίνης SWI2/SNF2. Άλλοι ελκυστικοί γενετικοί στόχοι πρέπει να αναζητηθούν επίσης. Τα επόμενα χρόνια αναμένεται να μας προσφέρουν νέα στοιχεία σχετικά με το συναρπαστικό κόσμο του ελέγχου της έκφρασης των γονιδίων και του remodelling της χρωματίνης. Αναμφίβολα, η γνώση μας σχετικά με τη «σκοτεινή πλευρά» του remodelling της χρωματίνης θα αυξηθεί ανάλογα με την ικανότητά μας να αναπτύξουμε νέες τεχνικές μελέτης των τρόπων με τους οποίους το καρκινικό κύτταρο νικά τη φύση.

Βιβλιογραφία

- Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 1997; 389:251-60.
- Belmont AS, Dietzel S, Nye AC, Strukov YG, Tumber T. Large-scale chromatin structure and function. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11:307-11.
- Woodcock CL, Dimitrov S. Higher-order structure of chromatin and chromosomes. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11:130-5.
- Hayes JJ, Hansen JC. Nucleosomes and the chromatin fiber. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11:124-9.
- Horvath JE, Bailey JA, Locke DP, Eichler EE. Lessons from the human genome: transitions between euchromatin and heterochromatin. *Hum Mol Genet* 2001; 10(20):2215-23.
- Han M, Grunstein M. Nucleosome loss activates yeast downstream promoters in vivo. *Cell* 1988; 55:1137-45.
- Wolffe AP, Guschin D. Review: chromatin structural features and targets that regulate transcription. *J Struct Biol* 2000; 129:102-22.
- Knezetic JA, Luse DS. The presence of nucleosomes on a DNA template prevents initiation by RNA polymerase II in vitro. *Cell* 1986; 45:95-104.
- Schreiber SL, Bernstein BE. Signaling network model of chromatin. *Cell* 2002; 111:771-8.
- Marmorstein R. Protein modules that manipulate histone tails for chromatin regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2:422-32.
- Roth SY, Denu JM, Allis CD. Histone acetyltransferases. *Annu Rev Biochem* 2001; 70:81-120.
- Naar AM, Lemon BD, Tjian R. Transcriptional coactivator complexes. *Annu Rev Biochem* 2001; 70:475-501.
- Vignali M, Hassan AH, Neely KE, Workman JL. ATP-dependent chromatin-remodelling complexes. *Mol Cell Biol* 2000; 20:1899-910.
- Sterner DE, Berger SL. Acetylation of histones and transcription-related factors. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64:435-59.
- Wolffe AP, Hayes JJ. Chromatin disruption and modification. *Nucleic Acids Res* 1999; 27:711-20.
- Luger K, Richmond TJ. The histone tails of the nucleosome. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8:140-6.
- Zhang Y, Reinberg D. Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev* 2001; 15:2343-60.
- Rice JC, Allis CD. Histone methylation versus histone acetylation: new insights into epigenetic regulation. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13:263-73.
- Cheung P, Allis CD, Sassone-Corsi P. Signaling to chromatin through histone modifications. *Cell* 2000; 103:263-71.
- Struhl K. Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes Dev* 1998; 12:599-606.
- Brownell JE, Zhou J, Ranalli T, Kobayashi R, Edmondson DG, Roth SY et al. Tetrahymena histone acetyltransferase A: a homolog to yeast Gcn5p linking histone acetylation to gene activation. *Cell* 1996; 84:843-51.
- Marmorstein R, Roth SY. Histone acetyltransferases: function, structure and catalysis. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11:155-61.
- Chen H, Tini M, Evans RM. HATs on and beyond chromatin. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13:218-24.
- Candau R, Zhou JX, Allis CD, Berger SL. Histone acetyltransferase activity and interaction with ADA2 are critical for GCN5 function in vivo. *Embo J* 1997; 16:555-65.
- Kamine J, Elangovan B, Subramanian T, Coleman D, Chinnadurai G. Identification of a cellular protein that specifically interacts with the essential cysteine region of the HIV-1 Tat transactivator. *Virology* 1996; 216:357-66.
- Ikura T, Ogrzyzko VV, Grigoriev M, Groisman R, Wang J, Horikoshi M et al. Involvement of the TIP60 histone acetylase complex in DNA repair and apoptosis. *Cell* 2000; 102:463-73.
- Pelletier N, Champagne N, Stifani S, Yang XJ. MOZ and MORF histone acetyltransferases interact with the runt-domain transcription factor Runx2. *Oncogene* 2002; 21:2729-40.
- Thomas T, Voss AK, Chowdhury K, Gruss P. Querkopf, a MYST family histone acetyltransferase, is required for normal cerebral cortex development. *Development* 2000; 127:2537-48.
- Iizuka M, Stillman B. Histone acetyltransferase HBO1 interacts with the ORC1 subunit of the human initiator protein. *J Biol Chem* 1999; 274:23027-34.
- Vo N, Goodman RH. CREB-binding protein and p300 in transcriptional regulation. *J Biol Chem* 2001; 276:13505-8.
- Goodman RH, Smolik S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. *Genes Dev* 2000; 14:1553-77.
- Wassarman DA, Sauer F. TAF(II)250: a transcription toolbox. *J Cell Sci* 2001; 114:2895-902.
- Sano Y, Ishii S. Increased affinity of c-Myb for CREB-binding protein (CBP) after CBP-induced acetylation. *J Biol Chem* 2001; 276:3674-82.
- Caillaud A, Prakash A, Smith E, Masumi A, Hovanessian AG, Levy DE et al. Acetylation of interferon regulatory factor-7 by p300/CREB-binding protein (CBP)-associated factor (PCAF) impairs its DNA binding. *J Biol Chem* 2002; 277:49417-21.
- Chen LF, Mu Y, Greene WC. Acetylation of RelA at discrete sites regulates distinct nuclear functions of NF-kappaB. *Embo J* 2002; 21:6539-48.
- Prives C, Manley JL. Why is p53 acetylated? *Cell* 2001; 107:815-8.
- Avantaggiati ML, Ogrzyzko V, Gardner K, Giordano A, Levine AS, Kelly K. Recruitment of p300/CBP in p53-dependent signal pathways. *Cell* 1997; 89:1175-84.
- Gu W, Shi XL, Roeder RG. Synergistic activation of transcription by CBP and p53. *Nature* 1997; 387:819-23.
- Lill NL, Grossman SR, Ginsberg D, DeCaprio J, Livingston DM. Binding and modulation of p53 by p300/CBP coactivators. *Nature* 1997; 387:823-7.
- Ito A, Lai CH, Zhao X, Saito S, Hamilton MH, Appella E et al. p300/CBP-mediated p53 acetylation is commonly induced by p53-activating agents and inhibited by MDM2. *Embo J* 2001; 20:1331-40.
- Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat Rev Cancer* 2001; 1:194-202.
- Cress WD, Seto E. Histone deacetylases, transcriptional control and cancer. *J Cell Physiol* 2000; 184:1-16.
- Frye RA. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 273:793-8.
- Lu J, McKinsey TA, Zhang CL, Olson EN. Regulation of skeletal myogenesis by association of the MEF2 transcription factor with class II histone deacetylases. *Mol Cell* 2000; 6:233-44.
- Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000; 403:78-81.

- ⇒ 403:41-5.
46. Simon JA, Tamkun JW. Programming off and on states in chromatin: mechanisms of Polycomb and trithorax group complexes. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12:210-8.
47. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* 2001; 293:1074-80.
48. Flaus A, Owen-Hughes T. Mechanisms for ATP-dependent chromatin remodelling. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11:148-54.
49. Becker PB. Nucleosome sliding: facts and fiction. *Embo J* 2002; 21:4749-53.
50. Eisen JA, Sweder KS, Hanawalt PC. Evolution of the SNF2 family of proteins: subfamilies with distinct sequences and functions. *Nucleic Acids Res* 1995; 23:2715-23.
51. Wang W, Cote J, Xue Y, Zhou S, Khavari PA, Biggar SR et al. Purification and biochemical heterogeneity of the mammalian SWI-SNF complex. *Embo J* 1996; 15:5370-82.
52. Wang W, Xue Y, Zhou S, Kuo A, Cairns BR, Crabtree GR. Diversity and specialization of mammalian SWI/SNF complexes. *Genes Dev* 1996; 10:2117-30.
53. Kwon H, Imbalzano AN, Khavari PA, Kingston RE, Green MR. Nucleosome disruption and enhancement of activator binding by a human SW1/SNF complex. *Nature* 1994; 370:477-81.
54. Soussi T, Beroud C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 2001; 1:233-40.
55. Neely KE, Workman JL. The complexity of chromatin remodelling and its links to cancer. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1603:19-29.
56. Cairns BR. Emerging roles for chromatin remodelling in cancer biology. *Trends Cell Biol* 2001; 11:S15-21.
57. Chakraborty S, Senyuk V, Nucifora G. Genetic lesions and perturbation of chromatin architecture: a road to cell transformation. *J Cell Biochem* 2001; 82:310-25.
58. Versteeg I, Sevenet N, Lange J, Rousseau-Merck MF, Ambros P, Handgretinger R, et al. Truncating mutations of hSNF5/INI1 in aggressive paediatric cancer. *Nature* 1998; 394:203-6.
59. Sevenet N, Lellouch-Tubiana A, Schofield D, Hoang-Xuan K, Gessler M, Birnbaum D et al. Spectrum of hSNF5/INI1 somatic mutations in human cancer and genotype-phenotype correlations. *Hum Mol Genet* 1999; 8:2359-68.
60. Grand F, Kulkarni S, Chase A, Goldman JM, Gordon M, Cross NC. Frequent deletion of hSNF5/INI1, a component of the SWI/SNF complex, in chronic myeloid leukemia. *Cancer Res* 1999; 59:3870-4.
61. Klochendler-Yeivin A, Fiette L, Barra J, Muchardt C, Babinet C, Yaniv M. The murine SNF5/INI1 chromatin remodelling factor is essential for embryonic development and tumor suppression. *EMBO Rep* 2000; 1:500-6.
62. Guidi CJ, Sands AT, Zambrowicz BP, Turner TK, Demers DA, Webster W et al. Disruption of Ini1 leads to peri-implantation lethality and tumorigenesis in mice. *Mol Cell Biol* 2001; 21:3598-603.
63. Roberts CW, Galusha SA, McMenamin ME, Fletcher CD, Orkin SH. Haploinsufficiency of Snf5 (integrase interactor 1) predisposes to malignant rhabdoid tumors in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:13796-800.
64. Wong AK, Shanahan F, Chen Y, Lian L, Ha P, Hendricks K et al. BRG1, a component of the SWI-SNF complex, is mutated in multiple human tumor cell lines. *Cancer Res* 2000; 60:6171-7.
65. Bultman S, Gebuhr T, Yee D, La Mantia C, Nicholson J, Gilliam A et al. A Brg1 null mutation in the mouse reveals functional differences among mammalian SWI/SNF complexes. *Mol Cell* 2000; 6:1287-95.
66. Peters AH, O'Carroll D, Scherthan H, Mechtler K, Sauer S, Schofer C et al. Loss of the Suv39h histone methyltransferases impairs mammalian heterochromatin and genome stability. *Cell* 2001; 107:323-37.
67. Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 2000; 16:168-74.
68. Kondo Y, Shen L, Issa JP. Critical role of histone methylation in tumor suppressor gene silencing in colorectal cancer. *Mol Cell Biol* 2003; 23:206-15.
- ⇒