

综述 ·

依赖 ATP 的染色质物理修饰

易霞, 尚永丰*

(北京大学医学部生物化学与分子生物学系, 北京大学肿瘤中心, 北京 100083)

摘要 染色质重塑是基因表达调控过程中一个非常重要的环节. 染色质重塑主要包括 2 种类型: 一种是依赖 ATP 的物理修饰, 另一种是依赖共价结合反应的化学修饰. 依赖 ATP 的物理修饰主要是利用 ATP 水解释放的能量, 使 DNA 超螺旋旋矩和旋相发生变化, 使转录因子更易接近并结合核小体 DNA, 从而调控基因的转录过程.

关键词 染色质重塑, 核小体, 组蛋白, ATP 酶

中图分类号 Q27, Q75

ATP-Dependent Physical Remodeling of Chromatin

YI Xia, SHANG Yong-feng*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Oncology Center, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China)

Abstract Chromatin remodeling is an integral part of the process involved in gene transcriptional regulation. Chromatin remodeling is achieved through ATP-dependent physical modifications and covalent chemical reactions. ATP-dependent chromatin remodeling factors use the energy of ATP hydrolysis to introduce superhelical torsion into DNA and to alter the rotational phasing of the DNA on the surface of the histone octamer, thus to increase the accessibility of the nucleosomal DNA to transcription factors and restriction enzymes.

Key words chromatin remodeling, nucleosome, histone, ATPase

染色质是由 DNA 双螺旋分子缠绕组蛋白八聚体(H2A、H2B、H3 和 H4 各 2 分子)形成核小体,再由核小体高度有序的排列而成. 染色质紧密的超螺旋结构限制了转录因子对 DNA 的接近与结合,从而抑制了真核细胞基因的转录过程. 基因活化和转录需要染色质发生一系列重要的变化,如染色质去凝聚,核小体变成开放式的疏松结构,使转录因子等更易接近并结合核小体 DNA,染色质这种结构的变化就是通常所说的染色质重塑(chromatin remodeling). 染色质重塑主要有 2 种类型:一种是依赖 ATP 的物理修饰:ATP 水解释放的能量使组蛋白和 DNA 的构像发生局部改变;另一种是共价化学修饰:多发生在组蛋白末端“尾巴”,包括乙酰化、磷酸化、甲基化和泛素化等. 本文将着重讨论染色质的物理修饰,关于染色质的化学修饰将另文讨论.

1 依赖 ATP 的染色质重塑复合体

染色质的物理修饰主要是通过依赖 ATP 的染色质重塑复合体来完成的. 这些复合体是一种以

ATP 酶为催化中心的多种蛋白亚基复合体,它通过 ATP 水解供能改变染色质结构,从而对基因转录进行调控. 到目前为止,依赖 ATP 的染色质重塑复合体主要有 3 类:SWI2/SNF2、ISWI 和 Mi-2/CHD. 这 3 类复合体在各种生物体内的亚基组成、各亚基的生物化学特性及功能都有所不同.

1.1 SWI2/SNF2 类

SWI2/SNF2 包括酿酒酵母 SWI/SNF(ySWI/SNF)、出芽酵母 RSC、果蝇 Brahma 复合体及人 BRM(hBRM)和 BRG1(hBRG1)复合体. 所有这些复合体

收稿日期:2003-01-08,接受日期:2003-02-18

国家高科技研究发展计划资助项目(863 计划)(No. 2002BA711A01-05)和国家杰出青年科学基金资助项目(No. 30225043)

*联系人 Tel:010-62091374, E-mail:jason@bjmu.edu.cn

易霞,女,1976 年 11 月生,硕士研究生,助教

Received: January 8, 2003; Accepted: February 18, 2003

Supported by a grant from National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2002BA711A01-05) and National Science Fund for Distinguished Young Scholars(No. 30225043)

*Corresponding author Tel:010-62091374, E-mail:jason@bjmu.edu.cn

都含有一高度保守的ATP酶亚基。

γ SWI/SNF 复合体是最早发现的染色质重塑复合体,至少由11个亚基组成,其中包括ATP酶亚基 Swi2/Snf2 和几个调控HO核酸内切酶和SUC2基因表达的亚基。研究发现, γ SWI/SNF除参与调控HO核酸内切酶和SUC2基因表达外,还参与其它酿酒酵母基因的转录调控^[1]。

RSC复合体最初是从出芽酵母中鉴定出来的,含有15个亚基,其中至少有2个亚基与 γ SWI/SNF的亚基相同,其余亚基与 γ SWI/SNF亚基属同源物。RSC复合体的生物化学特性与 γ SWI/SNF相似。不同的是,RSC复合体包含维持酵母生命所必需的亚基,而SWI/SNF不含有这种必需亚基^[2]。

果蝇Brahma复合体主要有以下几个亚基,包括ATP酶Brm和Brm结合蛋白(Brm-associated proteins) Bap45/Snr1、Bap47、Bap60、Bap74、Bap111和Bap155/Moira^[3]。其中Bap155/Moira与酿酒酵母Swi3、人Baf155和Baf170在结构上有3个区域相似。第一个区域富含脯氨酸、疏水区和芳香族氨基酸;第二个区域为富含色氨酸的SANT区域(因该区域存在于Swi3、Ada2、N-CoR和TFIIB而得名)。目前Moira SANT域的功能还不清楚,推测可能和Moira与Brm结合有关。第三个区域是亮氨酸拉链基序,可能参与Moira分子之间的结合^[4]。

人的BRM(hBRM)和BRG1(hBRG1)复合体有不同的ATP酶—hBRG1和hBRM亚基。二者氨基酸序列的相似性超过70%,且与Swi2/Snf2的基因结构高度同源。在hBRM和hBRG1复合体中,与hBRG1及hBRM亚基相结合的蛋白即BAFs和BRG1-结合蛋白也极其相似。有学者认为,人SWI/SNF类似复合体可能有多种,不同的细胞可能有不同的复合体,每种复合体可能由不同BAF蛋白组成,其共性是都用hBRG1或hBRM作为催化亚基。BAF蛋白及果蝇Moira都含有一myb样色氨酸重复域,即上面所说的SANT域,可能是DNA结合域。SANT域也见于依赖Gcn5的组蛋白乙酰转移酶(HAT)复合体的Ada2亚基和果蝇ISWI复合体的亚基中,提示该域有不同于DNA结合的其它染色质重塑功能。

1.2 ISWI类

这类依赖ATP的染色质重塑复合体的ATP酶亚基称为ISWI蛋白亚基。其中研究最多的是利用ATP的染色质装配和重塑因子(ATP-utilizing chromatin assembly and remodeling factor,简称ACF)、核小体重塑因子(nucleosome-remodeling factor,简称

NURF)和染色质接近复合体(chromatin accessibility complex,简称CHRAC)。这3种复合体都是从果蝇中鉴定出来的。ISWI只在ATP酶区域与Swi2/Snf2同源,ISWI类复合体比SWI/SNF复合体小,包含亚基数量也少。例如,ACF复合体只有220kD大小,由ISWI亚基和Acf1亚基组成;NURF或CHRAC复合体中没有Acf1亚基,NURF复合体的分子量约500kD,包括ISWI、p215、Nurf-55、Nurf-38和NURF301等。有报道认为,Nurf-38为一无机焦磷酸酶。重组Nurf-38和纯化NURF复合体均有无机焦磷酸酶的活性,但是该活性与NURF重塑染色质的能力无关^[5]。在体研究也发现,NURF是转录活化必需因子,缺少NURF301的动物热休克蛋白hsp70和hsp26转录缺失。不仅如此,NURF亚基突变还与恶性黑色素瘤发生有关^[6]。CHRAC复合体的分子量约为670kD,含有5个亚基,其中ISWI和拓扑异构酶被认为是ATP酶^[7]。

目前为止,在所分析的所有真核细胞生物包括酵母、植物、线虫类、果蝇、牛、鼠和人中,均发现ISWI复合体的同源物,提示这些蛋白在真核细胞中起重要作用。

1.3 Mi-2类

不同实验室采用不同方法分离得到了此类复合体,分别命名为NURD、NuRD和NRD,组成这些复合体的亚基组分差异不大。NURD含有HDAC1和HDAC2、视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)结合蛋白RbAp46和RbAp48以及Swi2/Snf2 ATP酶同源物CHD4,后者又称Mi-2。Mi-2复合体不仅有染色质重塑的作用,还有组蛋白脱乙酰基的活性,可能是分别通过Mi-2/CHD亚基和HDAC来实现的。由于染色质重塑复合体通常为转录激活所必须,而组蛋白脱乙酰基往往与转录抑制相关,因而Mi-2复合体既有ATP酶的活性又有组蛋白脱乙酰基的活性似乎没有道理。但有人认为,NURD复合体依赖ATP的染色质重塑活性是为了更有利于组蛋白脱乙酰基。此外,Mi-2复合体还存在MTA1和/或MTA2亚基,这2种亚基通常存在于有转移能力的癌细胞中^[8,9]。

在人和爪蛙Mi-2复合体中存在甲基化CpG结合蛋白,说明Mi-2复合体特异作用于基因组的甲基化区域,而此区域往往是基因转录的不活跃区。在爪蛙卵抽提物中也得到一与NURD相关的Mi-2复合体,与人类Mi-2复合体不同的是,爪蛙Mi-2复合体含有Sin3。最近,在爪蛙Mi-2复合体中又鉴定出了2个新亚基^[10],分别为35kD和66kD。其中35kD的

亚基与哺乳动物含甲基化 CpG 结合域蛋白 (methyl-CpG binding domain-containing protein, 简称 MBD3) 同源; 66 kD 的亚基为一 MTA 样蛋白。有研究表明, 爪蛙 MBD3 具有在甲基化 DNA 上征集 Mi-2 复合体, 引起组蛋白脱乙酰基和染色质重塑的活性^[10]。人 NURD 复合体也含有 MBD3^[9], 但人 MBD3 和 NURD 都不能结合甲基化 DNA, 而 MBD3 的同源物 MBD2 能结合甲基化 DNA^[9]。

2 依赖 ATP 的染色质重塑过程

2.1 依赖 ATP 的染色质重塑复合体与染色质结合

在激活基因转录前, 染色质重塑复合体首先识别和结合核小体。SWI/SNF 及相关 RSC 复合体与核小体有高度亲和性^[11]。例如, 酵母 SWI2/SNF2 因子是 SWI/SNF 复合体的 ATP 酶亚基, SWI/SNF 能够以很低的亲和力与 DNA 和核小体结合, 并利用其水解 ATP 产生的能量减弱核小体中 DNA-组蛋白的结合力。这时, 尽管核小体的整体结构只发生了极微小的变化, 但却使核小体部位的 DNA 同转录活化因子的亲和力增加了 30 倍以上^[12]。ySWI/SNF 复合体与 DNA 的结合与 HMG (high mobility group) 蛋白相似, 可以非特异地与一些特殊空间结构的 DNA, 特别是与四道连接和十字形 DNA 结合。此外, ySWI/SNF 与核小体的结合可能发生在 DNA 双螺旋小沟, 因为结合的复合体可以被 2 种小沟结合物偏端霉素 A 或阿布拉霉素 B 从 DNA 上解脱^[11]。

SWI/SNF 与核小体的亲和力略高于它与裸露 DNA 的亲和力, 说明 SWI/SNF 与核心组蛋白之间存在额外的相互作用, 这种作用可能是重塑复合体结合底物的基础。研究表明, H2B 氨基末端有抑制基因转录的作用, 而 SWI/SNF 复合体能克服这种作用。当 H2A/H2B 二聚体发生体内 (突变) 或体外 (加入 H2A/H2B 伴侣) 缺失时, 基因的转录不再需要 SWI/SNF^[13]; 此外, H2B 氨基末端的定点突变产生的 SWI/SNF 非依赖性突变体能缓解 SWI/SNF 缺失所引起的缺陷^[14]。

与之相反, 人类 SWI/SNF (hSWI/SNF) 能够重塑无组蛋白氨基末端的单核小体以及核小体矩阵, 提示 hSWI/SNF 引起的核小体重塑不依赖于核心组蛋白尾部^[15]。对 ISWI 类复合体的研究表明, NURF 复合体与核小体的结合可能是通过与核心组蛋白尾巴结合, 但二者能否形成稳定复合体还有待于进一步研究。重组 ISWI 本身有一些核小体重塑活性^[16], 说明该亚基可直接和核小体相互作用。

2.2 依赖 ATP 的核小体解离

体外试验证明, ISWI 复合体可以通过重塑核小体的空间构象激活基因的转录, SWI/SNF 和 RSC 复合体可以破坏核小体核心颗粒上 DNA 的旋转相, 进而激活转录因子和核小体的结合^[13, 17], NURF 也能够改变核小体核心区 DNA 的旋转相, 但作用方式与 SWI/SNF 略有不同^[18]。总之, 这些复合体都是以依赖 ATP 的方式改变组蛋白和 DNA 的结合相, 使 DNA 结合蛋白更易接近核小体 DNA。由于 ISWI 复合体和核小体之间没有稳定的结合, 因而, 此类复合体如 NURF 和 CHRAC 的 ISWI 复合体可能通过“打了就跑” (“hit-and-run”) 的方式沿着核小体移动发挥作用^[16, 19]。

人类 Swi2/Snf2 同源物 BRG1 和 hBRM 在无其它亚基的情况下也可以重塑核小体, 但另外 3 个亚基 INII、BAF155 及 BAF170 的存在对核小体的重塑效率更高^[20]。当核小体解离时, 组蛋白与 DNA 的相互作用被降低或稳定性下降, 而致转录因子对 DNA 的亲和力增加。SWI/SNF 或 RSC 复合体不但能够引起的核小体的解离, 而且能够加速解离的核小体回到原始状态^[11], 可见这些复合体能催化这 2 种核小体构象之间的相互转变^[21, 22]。

2.3 染色质重塑

染色质重塑过程中核小体的重排有 2 种模型: 一种是组蛋白的反式移位, 另一种是组蛋白八聚体沿 DNA 顺式滑行。组蛋白的反式移位已在 RSC 和 SWI/SNF 复合体的研究中得到证明^[22], 反式移位需要组蛋白的承受体 (acceptors) 或组蛋白伴侣 (chaperones)。在反式移位的过程中, 转录因子的结合进一步改变了组蛋白和 DNA 的相互作用, 促进了反式移位。

与 SWI/SNF 和 RSC 复合物引起的组蛋白反式移位相反, ISWI 复合体 NURF 和 CHRAC 引起的是核小体顺式移动, 这个过程被称作核小体滑动 (sliding)^[16, 19], 在这个过程中不发生组蛋白八聚体从 DNA 上的置换。SWI/SNF 复合体有时也可以引起核小体的滑动, 不过, 当核小体的滑动遇到障碍时, SWI/SNF 复合体仍然能够反式置换组蛋白^[23]。目前比较统一的观点认为, ISWI 复合体和 SWI/SNF 主要都是引起核小体在 DNA 上滑动, 一旦滑动受阻, SWI/SNF 复合体会使核小体组蛋白反式移位。

3 依赖 ATP 的染色质重塑的机制

染色质的物理修饰主要是通过依赖 ATP 水解

释放的能量,使DNA超螺旋旋矩和旋相发生变化,使转录因子更易接近并结合核小体DNA,从而调控基因的转录过程。

3.1 依赖ATP的染色质重塑活性导致超螺旋扭转,引起核小体重塑

依赖ATP的染色质重塑复合体都含有一个具有DNA激活的ATP酶活性部位,即ATP酶亚基,其核心功能是水解ATP并利用ATP水解释放的能量去减弱核小体中DNA-组蛋白的结合力。ATP酶与DNA依赖的解旋酶序列相似。然而,研究显示,在SWI/SNF和含有NURF的ISWI中染色质重塑复合体没有解旋酶的作用^[14, 24]。而纯化的SWI/SNF复合体可以以ATP依赖方式在线性DNA重复区形成十字突起。通常十字突起只在超螺旋质粒即闭环区可以看到,说明在线性DNA中SWI/SNF复合体形成一个结构域,在这里DNA通过绕轴旋转不能消除其扭转,从而形成稳定的十字突起。由于目前已知的所有染色质重塑复合体引起的DNA拓扑结构改变都是依赖能量的过程,因此,这些已知的核小体重塑ATP酶很有可能是以形成十字突起的方式发挥作用。因此,通过监测DNA超螺旋扭转可以确定染色质重塑复合体是否引起了DNA结构的改变^[25],同时还可以对裂解这种结构的酶进行监测。

3.2 依赖ATP的染色质重塑复合体被招募到启动子并与组蛋白修饰酶协同作用

由于核小体发生了上述重塑,使得各种染色质重塑ATP酶征集到特异DNA位点如启动子上,与DNA结合蛋白如转录因子发生直接相互作用,激活基因转录过程。此外,在核心组蛋白氨基末端,组蛋白乙酰化通常和基因表达活化有关^[26],而组蛋白脱乙酰化,在基因抑制中发挥作用^[27]。研究发现,依赖ATP的染色质重塑复合体可以与组蛋白修饰酶(例如组蛋白乙酰基转移酶和脱乙酰化酶)发生协同作用。NURD和相关复合物在核小体重塑过程中伴随着组蛋白乙酰化的发生,在体外试验中,核小体重塑过程可以辅助组蛋白脱乙酰化。在转录激活过程中,一些酵母的启动子需要SWI/SNF和HAT Gcn5的协同作用;SWI/SNF复合体比Gcn5优先结合到启动子上,其活性影响Gcn5对组蛋白的乙酰化作用,在转录因子结合后的过程中二者的活性都是必需的^[28]。

4 展望

随着人们对依赖ATP的染色质重塑复合体的深入研究,新的复合体不断涌现,例如X染色体遗

传的 地中海贫血/精神发育迟缓综合征相关蛋白ATR-X^[29]就是其中之一。但是各种复合体的生物功能和作用机理的区别与联系,还有待于进一步研究。除转录调控之外,依赖ATP的染色质重塑复合体在染色质装配本身中起一定作用,这可能与DNA重组、复制及损伤修复有关。此外,越来越多的研究表明,依赖ATP的染色质重塑复合体和肿瘤的形成发展有关^[30],因此,对染色质重塑复合体及其作用机制的研究对揭示基因转录的调控、基因表达的抑制、DNA重组、复制和损伤修复以及肿瘤等一些疾病的发生发展有极为重要的意义。

参考文献 (References)

- Holstege F C, Jennings E G, Wyrick J J, Lee T I, Hengartner C J, Green M R, Glub T R, Lander E S, Young RA. Dissecting the regulatory circuitry of a eukaryotic genome. *Cell*, 1998, **95**:717 ~ 728
- Cairns B R, Lorch Y, Li Y, Zhang M, Lacomis L, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Du J, Laurent B, Kornberg R D. RSC, an essential, abundant chromatin-remodeling complex. *Cell*, 1996, **87**:1249 ~ 1260
- Papoulas O, Beek S J, Moseley S L, McCallum C M, Sarte M, Shearn A, Tamkun J W. The Drosophila trithorax group proteins BRM, ASH1 and ASH2 are subunits of distinct protein complexes. *Development*, 1998, **125**:3955 ~ 3966
- Crosby M A, Miller C, Alon T, Watson K L, Verrijzer C P, Goldman Levi R, Zak N B. The trithorax group gene moira encodes a brahma-associated putative chromatin-remodeling factor in *Drosophila melanogaster*. *Mol Cell Biol*, 1999, **19**:1159 ~ 1170
- Gdula D A, Sandaltzopoulos R, Tsukiyama T, Ossipow V, Wu C. Inorganic pyrophosphatase is a component of the Drosophila nucleosome remodeling factor complex. *Genes Dev*, 1998, **12**:3206 ~ 3216
- Badenhorst P, Voas M, Rebay I, Wu C. Biological functions of the ISWI chromatin remodeling complex NURF. *Genes Dev*, 2002, **16**:3186 ~ 3198
- Varga-Weisz P D, Wilm M, Bonte E, Dumas K, Mann M, Becker P B. Chromatin-remodelling factor CHRAC contains the ATPases ISWI and topoisomerase. *Nature*, 1997, **388**:598 ~ 602
- Xue Y, Wong J, Moreno G T, Young M K, Cote J, Wang W. NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell*, 1998, **2**:851 ~ 861
- Zhang Y, Ng H H, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Bird A, Reinberg D. Analysis of the NuRD subunits reveals a histone deacetylase core complex and a connection with DNA methylation. *Genes Dev*, 1999, **13**:1924 ~ 1935
- Wade P A, Cegonne A, Jones P L, Ballestar E, Aubry F, Wolffe A P. Mi-2 complex couples DNA methylation to chromatin remodelling and histone deacetylation. *Nat Genet*, 1999, **23**:62 ~ 66
- Cote J, Peterson C L, Workman J L. Perturbation of nucleosome core structure by the SWI/SNF complex persists after its detachment, enhancing subsequent transcription factor binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**:4947 ~ 4952

- 12 Zhang Z, Buchman A R. Identification of a member of a DNA-dependent ATPase family that causes interference with silencing. *Mol Cell Biol*, 1997, **17**:5461 ~ 5472
- 13 Cote J, Quinn J, Workman J L, Peterson C L. Stimulation of GAL4 derivative binding to nucleosomal DNA by the yeast SWI/SNF complex. *Science*, 1994, **265**:53 ~ 60
- 14 Recht J, Osley M A. Mutations in both the structured domain and N-terminus of histone H2B bypass the requirement for Swi-Snf in yeast. *EMBO J*, 1999, **18**:229 ~ 240
- 15 Guyon J R, Narlikar G J, Sif S, Kingston R E. Stable remodeling of tailless nucleosomes by the human SWI-SNF complex. *Mol Cell Biol*, 1999, **19**:2088 ~ 2097
- 16 Hamiche A, Sandaltzopoulos R, Gdula D A, Wu C. ATP-dependent histone octamer sliding mediated by the chromatin remodeling complex NURF. *Cell*, 1999, **97**:833 ~ 842
- 17 Cairns B R, Lorch Y, Li Y, Zhang M, Lacomis L, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Du J, Laurent B, Kornberg R D. RSC, an essential, abundant chromatin-remodeling complex. *Cell*, 1996, **87**:1249 ~ 1260
- 18 Tsukiyama T, Wu C. Purification and properties of an ATP-dependent nucleosome remodeling factor. *Cell*, 1995, **83**:1011 ~ 1020
- 19 Langst G, Bonte E J, Corona D F, Becker P B. Nucleosome movement by CHRAC and ISWI without disruption or trans-displacement of the histone octamer. *Cell*, 1999, **97**:843 ~ 852
- 20 Phelan M L, Sif S, Narlikar G J, Kingston R E. Reconstitution of a core chromatin remodeling complex from SWI/SNF subunits. *Mol Cell*, 1999, **3**:247 ~ 253
- 21 Kingston R E. A shared but complex bridge. *Nature*, 1999, **399**:199 ~ 200
- 22 Lorch Y, Zhang M, Kornberg R D. Histone octamer transfer by a chromatin-remodeling complex. *Cell*, 1999, **96**:389 ~ 392
- 23 Whitehouse I, Flaus A, Cairns B R, White M F, Workman J L, Owen-Hughes T. Nucleosome mobilization catalysed by the yeast SWI/SNF complex. *Nature*, 1999, **400**:784 ~ 787
- 24 Shen X, Mizuguchi G, Hamiche A, Wu C. A chromatin remodelling complex involved in transcription and DNA processing. *Nature*, 2000, **406**:541 ~ 544
- 25 Havas K, Flaus A, Phelan M, Kingston R, Wade P A, Lilley D M, Owen-Hughes T. Generation of superhelical torsion by ATP-dependent chromatin remodeling activities. *Cell*, 2000, **103**:1133 ~ 1142
- 26 Berger S L, Felsenfeld G. Chromatin goes global. *Mol Cell*, 2001, **8**:263 ~ 268
- 27 Strahl B D, Allis C D. The language of covalent histone modifications. *Nature*, 2000, **403**:41 ~ 45
- 28 Krebs J E, Fry C J, Samuels M L, Peterson C L. Global role for chromatin remodeling enzymes in mitotic gene expression. *Cell*, 2000, **102**:587 ~ 598
- 29 Picketts D J, Higgs D R, Bachoo S, Blake D J, Quarrell O W, Gibbons R J. ATRX encodes a novel member of the SNF2 family of proteins: mutations point to a common mechanism underlying the ATR-X syndrome. *Hum Mol Genet*, 1996, **5**:1899 ~ 1907
- 30 Roberts C W, Leroux M M, Fleming M D, Orkin S H. Highly penetrant, rapid tumorigenesis through conditional inversion of the tumor suppressor gene Snf5. *Cancer Cell*, 2002, **2**:415 ~ 425