

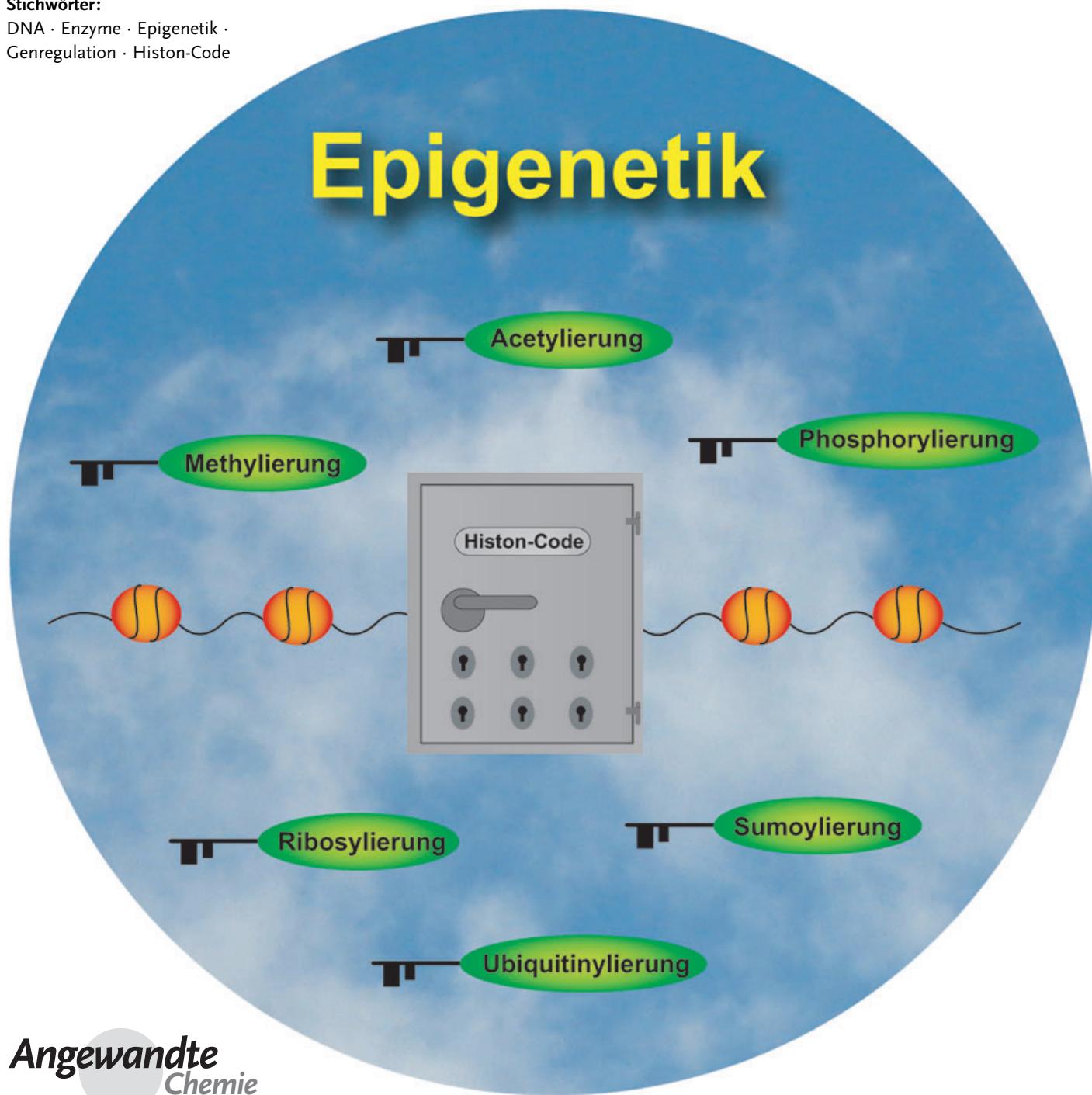
Genregulation

Epigenetik – ein Epizentrum der Genregulation: Histone und histonmodifizierende Enzyme

Markus Biel, Veit Wascholowski und Athanassios Giannis*

Stichwörter:

DNA · Enzyme · Epigenetik ·
Genregulation · Histon-Code



Die Bekämpfung von Tumorerkrankungen durch die Entwicklung neuer Therapien ist eine der größten Herausforderungen unserer Zeit. Die Entschlüsselung des menschlichen Genoms hat zu Erkenntnissen hinsichtlich der molekularen Grundlagen körperlicher Fehlfunktionen geführt, sodass in vielen Fällen ein Zusammenhang zwischen fehlerhaften Genen und den resultierenden Krankheitsbildern hergestellt werden konnte. Die Modulation epigenetischer Mechanismen ermöglicht es, den Phänotyp einer Zelle zu beeinflussen, ohne ihren Genotyp zu ändern. So wichtig oder schädlich der Informationsgehalt eines einzelnen Genes auch ist – zur Entfaltung seiner Wirkung muss es aktiv abgelesen werden. Hierbei sind epigenetische Mechanismen maßgeblich eingebunden, und die Transkriptionsrate eines Gens ist direkt vom Modifikationsmuster der umgebenden Histonproteine sowie vom Methylierungsmuster der DNA abhängig. Diese Vorgänge beruhen auf Enzymen und sollten daher durch spezifische Modulatoren gezielt beeinflussbar sein. Sicherlich stehen alle Informationen schon in Form eines Vier-Buchstaben-Codes auf der DNA geschrieben – die Epigenetik beschreibt die Kunst, zwischen den Zeilen zu lesen.

1. Einleitung

Die Gesamtheit der genetischen Information eines Organismus ist hinsichtlich der Expression einzelner Gene äußerst heterogen. Bestimmte Genabschnitte werden sehr häufig transkribiert, andere eher selten. Die genetische Information ist daher hoch organisiert, und es ist möglich, den Phänotyp einer Zelle zu verändern, ohne ihren Genotyp zu beeinflussen. Dies geschieht durch epigenetische Mechanismen, die der eigentlichen Gentranskription vorgelagert sind und durch DNA-Methylierungs- und Histon-Modifikationsmuster koordiniert werden.

1.1. Hypothese des Histon-Codes

Das eukaryontische Genom ist im Zellkern in Form des Chromatins zu Strukturen höherer Ordnung gepackt. Die grundlegende, sich wiederholende Einheit dieser Anordnung ist das Nucleosom,^[1] bei dem 145–147 Basenpaare der DNA linksgängig um ein Core-Histon gewickelt sind, das aus jeweils zwei Histonen H2A, H2B, H3 und H4 aufgebaut ist.^[2] Das Linker-Histon H1 schließt das Nucleosom ab und vermittelt den Aufbau hoch geordneter Gebilde, die während der Metaphase des Zellzyklus als Chromosomen unter dem Mikroskop erkennbar sind. Jedes Core-Histon besteht im Wesentlichen aus einer globulären Domäne,^[3] einzig der Aminoterminal wird als flexible, bezüglich der Primärstruktur hoch konservierte Kette an der Oberfläche des Nucleosoms präsentiert und ist dort Gegenstand zahlreicher posttranskriptionaler Modifikationen.^[4,5] Zu diesen gehört neben der Acetylierung spezifischer Lysinseitenketten durch Histon-Acetyltransferasen (HATs) auch die Methylierung von Lysin- und Argininresten durch Histon-Methyltransferasen (HMTs) sowie die Phosphorylierung von Serinresten

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	3249
2. Die Acetylierung von Histon	3251
3. Die Histon-Methylierung	3260
4. Die Histon-Phosphorylierung	3266
5. Die Ubiquitinierung von Histon	3269
6. Die Sumoylierung von Histon	3269
7. Die Poly-ADP-Ribosylierung von Histon	3270
8. Zusammenfassung und Ausblick	3271

durch Histon-Kinasen (HKs). Daneben wurden die Anheftung von Ubiquitin- und SUMO-Einheiten (small ubiquitin-related modifier) sowie von Poly(ADP-Ribose)-Einheiten (PAR-Einheiten) als weitere Modifikationsmöglichkeit beschrieben (Abbildung 1).

Auch die funktionell zugehörigen und zur Einstellung eines bestimmten Modifikationsgrades notwendigen Histon-Deacetylasen (HDACs), Phosphatasen (PPs), Ubiquitin-Hydrolasen (Ubps) und Poly(ADP-Ribose)-Glycohydrolasen (PARGs) wurden bereits identifiziert.^[6–8] Besonders im Fall des Histons H3 konnte gezeigt werden, dass die beschriebenen posttranskriptionalen Modifikationen in einem engen Zusammenhang mit fundamentalen zellulären Prozessen wie der Aktivierung und der Repression von Transkriptionsvorgängen stehen.^[9] So führt die Acetylierung des Histons H3 an Lysin 14 (H3-K14) ebenso wie die Phosphorylierung von H3-S10 und die Methylierung von H3-K4 im Allgemeinen zur Aktivierung von Transkriptionsvorgängen. Dagegen stehen die Deacetylierung von H3-K14 und die Methylierung von H3-K9 im Zusammenhang mit der Repression bestimmter Genabschnitte.^[10,11]

Die Histonmodifikationen beeinflussen sich in vielen Fällen gegenseitig, sodass spezifische Muster auftreten (Abbildung 2). So unterstützt in Hefe die Phosphorylierung von H3-S10, ausgeführt durch die Histon-Kinase Snf1, die yGcn5-vermittelte Acetylierung von H3-K14.^[12] Andererseits ist die Methylierung von H3-K9 direkt von einer zweiten Modifika-

[*] Dipl.-Chem. M. Biel, Dipl.-Chem. V. Wascholowski, Prof. Dr. A. Giannis
Universität Leipzig
Institut für Organische Chemie
Johannisallee 29, 04103 Leipzig (Deutschland)
Fax: (+40) 0341-973-6599
E-mail: giannis@chemie.uni-leipzig.de

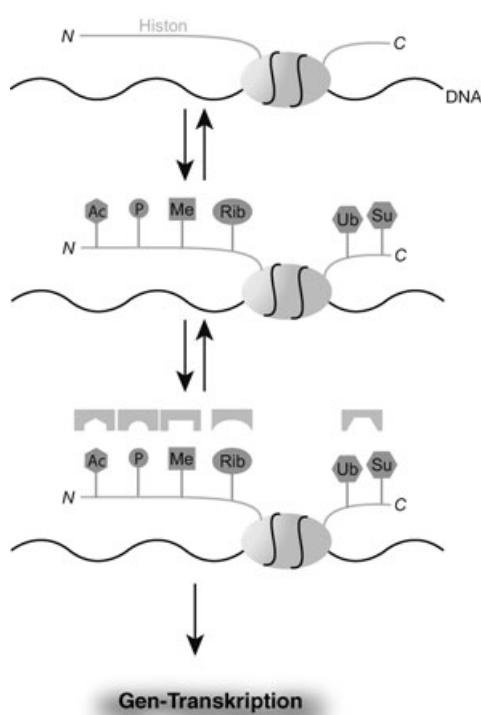


Abbildung 1. Spezifische Modifikationsmuster auf den Histon-Termini führen zur Rekrutierung von regulatorischen Einheiten, die den Histon-Code in spezifische „Downstream“-Ereignisse übersetzen.

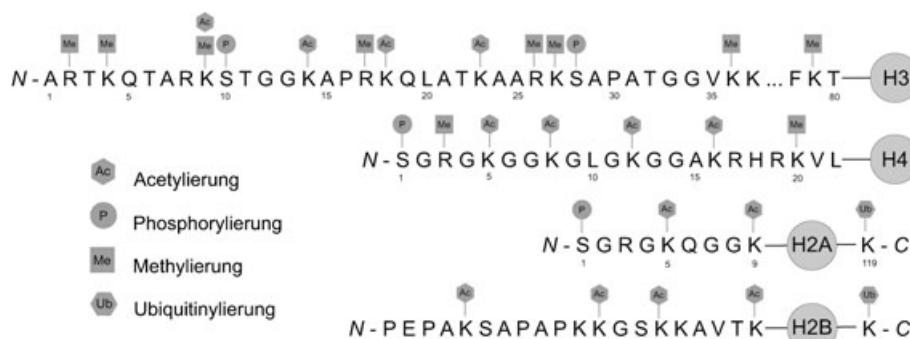


Abbildung 2. Posttranskriptionale Modifikationen an den Histonproteinen H3, H4, H2A und H2B.



Markus Biel wurde 1973 in Karlsruhe geboren. Er studierte Chemie an der dortigen Universität und erhielt sein Diplom 2000. Als Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. A. Giannis wechselte er 2002 von Karlsruhe an das Institut für Organische Chemie der Universität Leipzig. Er beschäftigt sich mit der Synthese und der biologischen Evaluierung von Inhibitoren der Histon-Acetyltransferase sowie mit Modulatoren der Protein-Palmitoylierung.



Veit Wascholowski wurde 1975 in Braunschweig geboren. Er studierte Chemie an der Universität Karlsruhe (TH) und schloss 2000 mit dem Diplom ab. Seitdem ist er Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. A. Giannis, zuerst in Karlsruhe und seit 2002 an der Universität Leipzig. Zu seinen Interessensgebieten zählen Fragen der chemischen Biologie. So beschäftigt er sich mit der Synthese und der biologischen Bewertung von neuen Ceramid-Analoga, sowie mit Modulatoren der Apoptose.

Dieser Aufsatz beschreibt die bekannten Histonmodifikationen und diskutiert die Einsatzmöglichkeiten von Modulatoren der histonmodifizierenden Enzyme in Biologie und Medizin.

2. Die Acetylierung von Histonen

Die Histon-Acetylierung zählt zu den am besten verstandenen Histonmodifikationen. Dabei werden die ϵ -Amino-Funktionen konservierter Lysinreste acetyliert.^[17] Durch die aufeinander abgestimmte Aktivität der Histon-Acetyltransferasen (HATs) und Histon-Deacetylasen (HDACs) stellt sich ein spezifischer Acetylierungsgrad ein.^[18] Zu den ersten Entdeckungen im Zusammenhang mit dem Histon-Code gehört, dass dekondensierte Bereiche des Chromatins (Euchromatin) stärker an den Histonen acetyliert sind und in weitaus höherem Maße transkribiert werden als die stark kondensierten Chromatinregionen (Heterochromatin), die für die Transkriptionsmaschinerie nicht zugänglich sind.^[19,20] Das Ausmaß der temporären Transkription eines Gens hängt davon ab, ob es sich in einer zugänglichen oder nicht zugänglichen Chromatinumgebung befindet; dieser Effekt wird als „position effect variegation“ (PEV) bezeichnet.^[10,21–23] Solche Gene, deren Produkte die PEV und damit die Transkription unterdrücken, werden zur Su(var)-Gruppe (suppressors of variegation) gerechnet, zu der neben den HDACs auch das Heterochromatin-assoziierte Protein HP1 gehört.^[24,25] Dagegen zählen PEV-verstärkende Modulatoren zur E(var)-Gruppe (enhancers of variegation), z.B. die HATs.^[26,27]

2.1. Histon-Acetyltransferasen (HATs)

Viele der bekannten Transkriptionsfaktoren zeigen eine intrinsische HAT-Aktivität.^[28] Aufgrund eingehender Analysen wurden diese Proteine in Enzymfamilien eingeteilt, die sich sowohl durch Übereinstimmungen in der biologischen Funktion als auch durch Sequenzhomologien auszeichnen (Tabelle 1).^[29]

Die GNAT-Familie umfasst HATs für eine überschaubare Reihe von Transkriptionsaktivatoren. Sie tragen am C-Terminus einer aus etwa 160 Aminosäuren aufgebauten HAT-



Athanassios Giannis wurde 1954 in Drama (Griechenland) geboren. Von 1972 bis 1980 studierte er Chemie und von 1978 bis 1988 Medizin an der Universität Bonn. Nach seiner Diplomarbeit bei Prof. M. T. Reetz promovierte er 1986 über die Synthese von C-Glycosiden bei Prof. K. Sandhoff. Er habilitierte 1992 für Organische Chemie und Biochemie und erhielt 1997 einen Ruf an die Universität Karlsruhe. Seit Mai 2002 ist er Professor für Organische Chemie und Naturstoffchemie an der Universität Leipzig. Er beschäftigt sich mit biologischen Prozessen wie Angiogenese und Apoptose, epigenetischen Mechanismen und Signaltransduktionswegen, und erforscht neuartige Tumortherapeutika.

Tabelle 1: HAT-Familien und die Funktionen einzelner Mitglieder.

HAT	Organismus	Funktion
GNAT-Familie		
Gcn5	Hefe, Mensch	Coaktivator
PCAF	Mensch	Coaktivator
Elp3	Hefe	Elongation
ATF-2	Hefe, Mensch	Aktivator
MYST-Familie		
MOZ	Mensch	Coaktivator
Ybf2/Sas3	Hefe	Elongation
Sas2	Hefe	Inaktivierung
Tip60	Mensch	DNA-Reparatur, Apoptose
Esa1	Hefe	Zellzyklusprogression
MOF	Fruchtfliege	„dosage compensation“ ^[a]
CBP/p300-Familie		
CBP/p300	Wurm, Mensch	globaler Coaktivator

[a] „dosage compensation“: ein regulatorischer Prozess, der sicherstellt, dass weibliche und männliche Organismen die gleiche Menge an X-Chromosom-Genprodukten aufweisen.

Domäne noch eine Bromodomäne für die spezifische Erkennung von acetylierten Lysinresten.^[30–32] Die Mitglieder der CBP/p300-Familie sind weitaus weniger substratspezifisch und daher globale Regulatoren der Transkription.^[33] Sie enthalten eine aus etwa 500 Aminosäuren aufgebaute HAT-Domäne, eine Bromodomäne und ein cysteinreiches Motiv, das wahrscheinlich Protein-Protein-Wechselwirkungen vermittelt.^[34] Die Mitglieder der MYST-Familie nehmen an einem breiteren Spektrum von biologischen Prozessen teil^[35–38] und verfügen außer einer aus 250 Aminosäuren bestehenden katalytischen Domäne, in die eine zinkbindende Domäne integriert ist, zusätzlich über eine cysteinreiche Region, die durch eine N-terminale Chromodomäne zur spezifischen Erkennung von methylierten Lysinresten ergänzt wird.^[39,40] Über diese drei HAT-Hauptgruppen hinaus sind noch mehr als ein Dutzend weiterer Proteine mit Acetyltransferase-Aktivität bekannt.^[41]

In vivo liegen HATs immer in Form von Multiproteinkomplexen vor, die im Allgemeinen ihre Substratselektivität bestimmen.^[42] So ist die in Hefe vorkommende HAT yGcn5 ein Teil der Multiproteinkomplexe Ada und SAGA,^[43] in denen sie zusammen mit den Proteinen Ada2 und Ada3 die katalytische Untereinheit bildet.^[44] Rekombinante Gcn5 acetyliert zwar freie Histone, die Modifikation der nativen, nucleosomalen Histone gelingt in der Regel jedoch nur mithilfe der großen Proteinkomplexe. Diese bestimmen neben der Substratselektivität auch die Substratspezifität: Während freies Gcn5 bei Histonproteinen hauptsächlich H3-K14 acetyliert, wird das Spektrum durch Einbindung in den Ada-Komplex auf die Lysinreste 9, 14 und 18 erweitert.^[45] Darüber hinaus steuert die Komplexierung der HATs auch ihre Funktion bei der Transkription: In Abhängigkeit des jeweils gebildeten Komplexes werden die HATs über die Wechselwirkung mit verschiedenen Aktivatoren an spezifische Promotorregionen transportiert, um dort durch die Acetylierung der umliegenden Histone die Transkription einzuleiten. Zur Herstellung von solchen Kontakten mit Aktivatoren dient in Hefe das Protein Tra1, das ein Teil der Komplexe SAGA und NuA4 ist.^[46,47] Das menschliche Homologe TRAP findet sich unter anderem in den Komplexen

STAGA^[48] und Tip60,^[49] wo es den Kontakt zum Zellzyklus-regulierenden c-Myc-Protein sowie zu Aktivatoren der E2F-Familie herstellt.^[50,51]

Letztlich mündet eine solche Zusammenlagerung funktioneller Einheiten in die Transkription des betreffenden Gens. Dies wird anhand der Regulation der menschlichen Interferon(IFN)-β-Gene deutlich (Abbildung 3). Nach einer viralen Infektion zeigt sich die fortschreitende Acetylierung der Histone im Bereich des IFN-β-Genpromotors.^[52] Eine Enhancer-Region, „upstream“ von der betreffenden Genregion, bindet einen Multiproteinkomplex aus drei Transkriptionsfaktoren (NF-κB, IRFs, ATF-2/c-Jun) und einem Gerüstprotein HMG I(Y).^[53] Dieses „Enhanceosom“ rekrutiert die HAT Gcn5, die zur Acetylierung von H4-K8 sowie H3-K9 führt. Weiterhin wird davon ausgegangen, dass eine Kinase H3-S10 phosphoryliert und damit die Voraussetzung zur Acetylierung von H3-K14 schafft. Anschließend wird der entstandene Histon-Code durch eine, über Bromodomänen vermittelte, Bindung der Transkriptionskomplexe SWI/SNF und TFIID abgelesen, und die Transkription wird eingeleitet.^[54] Die Acetylierung von H4-K8 ist dabei notwendig, um SWI/SNF zu rekrutieren, während die Acetylierung von H3-K9 und H3-K14 für die Bindung des Transkriptionsfaktors TFIID unerlässlich ist. Diese beiden Ergebnisse stützen die Existenz des Histon-Codes.^[55]

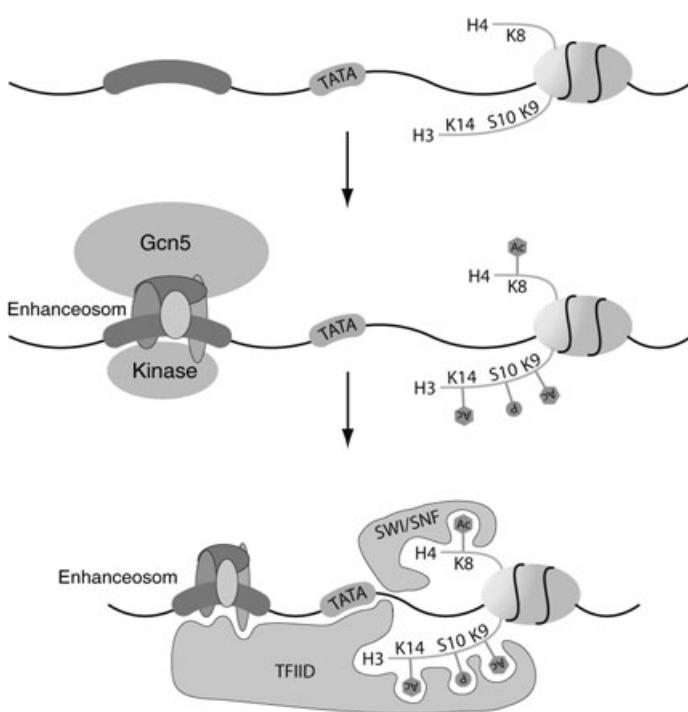


Abbildung 3. Steuerung der Transkription durch die spezifische Acetylierung von Histonen am Beispiel der menschlichen Interferon-β-Gene: Nach einer Virusinfektion bildet sich am Enhancer ein Multiproteinkomplex (Enhanceosom), der die HAT Gcn5 rekrutiert, die anschließend H4-K8 und H3-K9 sowie – nach Phosphorylierung von H3-S10 durch eine noch zu identifizierende Kinase – H3-K14 acetyliert. Der dadurch gebildete Histon-Code führt zur Anlagerung der Transkriptionskomplexe SWI/SNF und TFIID. Beide Proteine verfügen über die dafür notwendigen Bromodomänen. TFIID geht zusätzlich Wechselwirkungen mit dem TATA-Box-Element der DNA und dem Enhanceosom ein.

Der Einfluss von HATs auf chromatinabhängige Vorgänge wie die Transkription deutet an, dass auch andere, die DNA betreffende Mechanismen durch HATs gesteuert werden können.^[56] Hierzu zählen Zellzyklusprogression,^[57–61] DNA-Rekombination^[62,63] sowie DNA-Reparatur und Apoptose.^[49] Daneben werden HATs mit der DNA-Replikation^[59] und der Elongation,^[64,65] aber auch mit der Inaktivierung von Genen^[66,67] in Verbindung gebracht. Weiterhin akzeptieren einige HATs außer den Histonen auch andere Proteine als Substrate. So acetyliert p300 das Tumorsuppressorprotein p53^[68–70] und beeinflusst dadurch dessen Wechselwirkung mit DNA. Aber auch die Transkriptionsfaktoren TFIIβ und TFIIIF,^[71] die DNA bindenden Transkriptionsfaktoren GATA-1,^[72] GATA-3,^[73] ELKF,^[74] MyoD,^[75] E2F,^[76] cMyb^[77] und dTCF^[78] sowie die Chromatin-assoziierten Proteine HMG(Y),^[79] HMG-14,^[80] HMG-17,^[81] CDP/cut^[82] und HIV-Tat^[83] werden durch die Acetylierung in ihrer Aktivität moduliert, sodass Parallelen zur Phosphorylierung gezogen werden können, die in Kinasekaskaden ebenfalls die Aktivität einzelner Proteine moduliert.

Dieses Bild einer breiten Präsenz von HATs in unterschiedlichen biologischen Prozessen bestätigen einige Krankheiten, bei denen es aufgrund von Mutationen zur Fehlfunktion einzelner HATs kommt. Das Rubinstein-Taybi-Syndrom (RTS) wurde im Jahre 1957 erstmals erwähnt, aber erst 1963 haben Rubinstein und Taybi eine Studie an sieben Kindern beschrieben, denen breite Daumen und breite große Zehen, typische Gesichtszüge und eine verzögerte geistige Entwicklung gemeinsam waren. Diese Erkrankung ist auf eine Mutation in den crebbp-Genen zurückzuführen,^[84,85] die für die Histon-Acetyltransferase CBP codieren.

Ein Charakteristikum menschlicher Leukämien ist die durch chromosomal Translokationen verursachte Expression von Fusionsproteinen. Diese haben gegenüber dem Wildtyp-Enzym veränderte Eigenschaften, und die Gentranskription, die durch diese HATs im gesunden Organismus kontrolliert wird, verläuft fehlerhaft. Bei der akuten myelogenen Leukämie (AML)^[36,86] wird beispielsweise das MOZ-Protein – eine HAT aus der MYST-Familie – mit dem Aminoterminus von CBP verknüpft und es entsteht ein für die ursprüngliche Aufgabe unbrauchbares Konstrukt.

2.1.1. Struktur und Katalysemechanismus von Gcn5

Die Ergebnisse von Kinetikstudien zeigen,^[87–90] dass die Acetylierung von Histonen im Fall der Gcn5 über einen ternären Komplex aus Enzym, Histon H3 und Acetyl-CoA verläuft.^[91] Infolgedessen wird die Acetylgruppe direkt auf die Aminofunktion des Lysinrests übertragen, ohne dass sich intermediär eine acetylierte Enzymspezies bilden kann. Die Core-Domäne des Enzyms bestimmt dabei den Katalysevorgang und die Acetyl-CoA-Bindung, während die N- und C-terminalen Segmente für die Wechselwirkung mit dem Histonsubstrat notwendig zu sein scheinen.

Röntgenstrukturanalysen^[92–96] zufolge sind die Pantothenekette und die Pyrophosphatgruppen für die Bindung von Acetyl-CoA zuständig, wohingegen die Adeninbase keinen nennenswerten Beitrag leistet. Das H3-Substrat der Gcn5 aus *Tetrahymena* (*tGcn5*) bindet in eine Furche oberhalb der

Core-Domäne und wird an den Seiten durch die C- und N-terminalen Proteinketten flankiert. Dabei treten hauptsächlich Kontakte mit dem H3-Rückgrat auf, von denen Dreiviertel wiederum auf K14 und die fünf C-terminal dazu stehenden Reste zurückgehen, sodass sich die H3-Erkennungssequenz auf das Motiv GKXP reduzieren lässt. Weiterhin wurde in tGcn5 mit Glu122 eine hoch konservierte Base identifiziert, die in einer hydrophoben Umgebung und nahe einem Bereich mit negativem elektrostatischem Potential liegt. Dies erhöht einerseits den pK_a -Wert von Glu122, andererseits erleichtert es die Bindung der positiv geladenen Lysinseitenkette. Zwischen der generellen Base Glu122 und der protonierten Aminofunktion von K14 befindet sich ein Wassermolekül, das durch Wasserstoffbrücken zu Tyr160 und zum Rückgrat von Val123 fixiert wird. Im Verlauf der Katalyse wird die Ammoniofunktion von H3-K14 durch Glu122 deprotoniert, und ein direkter Angriff auf das ideal positionierte Acetyl-CoA folgt (Abbildung 4). Die entstehende tetraedrische Zwischenstufe stabilisiert sich zusätzlich durch eine Wasserstoffbrücke zur Rückgrat-Amidbindung von Leu126 und zerfällt unter Freisetzung der gewünschten Produkte.

2.1.2. Modulatoren der HAT-Aktivität

Im Jahr 2000 wurden erstmals selektive peptidische Inhibitoren der HATs p300 und PCAF beschrieben.^[97–99] Strukturell gesehen sind dies Disubstratanaloga aus H3-

Anteilen und Acetyl-CoA. Das Inhibitionsmuster orientiert sich an den Substratspezifitäten der getesteten HATs: Während p300 bereits durch Lys-CoA (**1**) inhibiert wird, gelingt dies bei PCAF erst durch das aus 20 Aminosäuren aufgebauten H3-CoA-20 (**2**; Abbildung 5). Der entscheidende Nachteil dieser Inhibitoren liegt in ihrer schlechten Zellgängigkeit und der geringen metabolischen Stabilität, weshalb sie sich nur eingeschränkt für In-vivo-Untersuchungen eignen.^[100] Im Jahr 2003 wurde bei einem Screening von Pflanzenextrakten mit Antitumoreigenschaften der Naturstoff Anacardinsäure (**3**) als HAT-Inhibitor identifiziert.^[101] Damit wurde erstmals ein kleines Molekül als Leitstruktur für Inhibitoren von p300 und PCAF beschrieben. Die Amidierung der Säurefunktion führte zu **4**, einem Aktivator von p300. Allerdings wurde Anacardinsäure bereits zuvor als DNA-Polymerase- β -Inhibitor erkannt,^[102] sodass ihre biologische Selektivität eingeschränkt ist.

Inzwischen hat unsere Gruppe für die humane HAT Gcn5 den kleinen, zellgängigen Inhibitor MB-3 (**5**) entwickelt,^[103] dessen Grundgerüst auf das in zahlreichen Naturstoffen vorkommende α -Methylen- γ -butyrolacton-Motiv zurückgeht.^[104] Diese privilegierte Struktur bewährte sich bereits beim Design eines Inhibitors für die ebenfalls Acetyl-CoA übertragende Fettsäure-Synthase.^[105] Durch Derivatisierung wurde ein Gcn5-Inhibitor identifiziert, ohne dass ein willkürliches Screening großer Bibliotheken erforderlich war. Dabei ist die Länge der aliphatischen Seitenkette entscheidend für die biologische Aktivität.

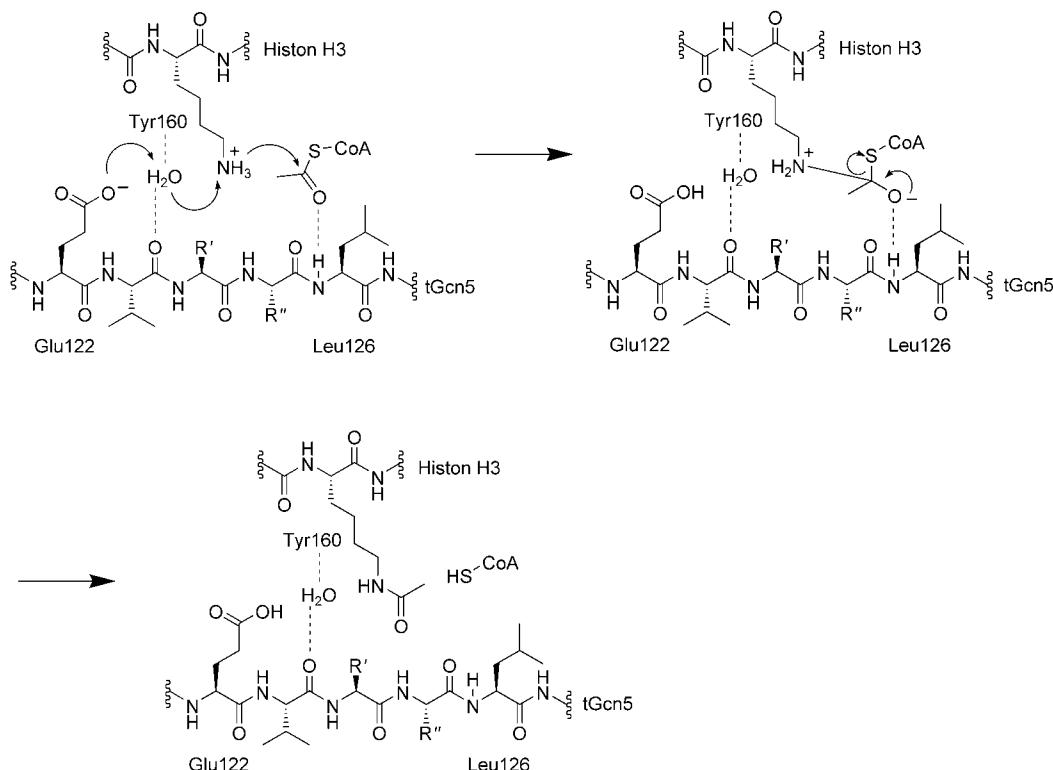


Abbildung 4. Katalysemechanismus der HATs am Beispiel von tGcn5. Glu122 wirkt als Base und unterstützt den nucleophilen Angriff der ϵ -Aminofunktion eines Lysinrests auf das vorkoordinierte Acetyl-CoA. Der Übergangszustand wird durch die Amidfunktion von Leu126 stabilisiert und zerfällt unter Bildung von CoASH und dem acetylierten Lysinrest (nach Lit. [94]).

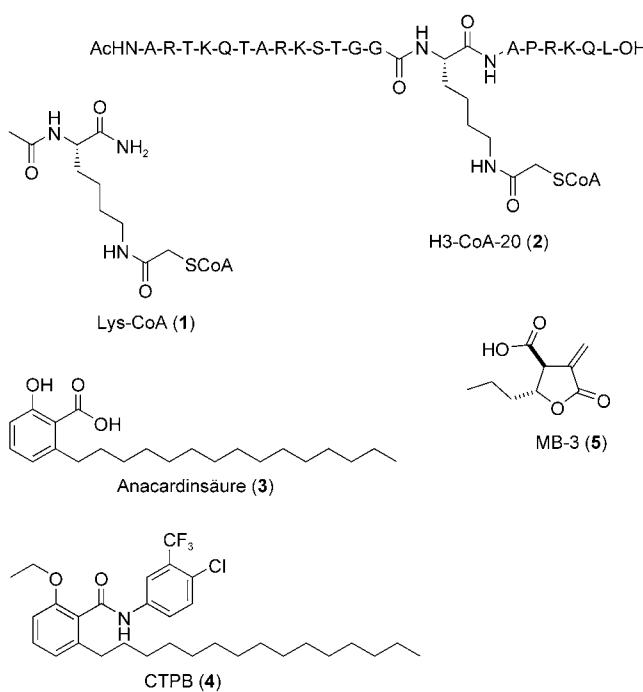


Abbildung 5. Modulatoren der HATs: Das Disubstratanalogon Lys-CoA (1) inhibiert die HAT p300, während H3-CoA-20 (2) als Inhibitor der PCAF beschrieben wird. Anacardinsäure (3) inhibiert sowohl p300 als auch PCAF, das amidierte Derivat CTPB (4) ist hingegen ein Aktivator dieses Enzyms. MB-3 (5) ist ein kleiner, zellgängiger Inhibitor der menschlichen Gcn5.

Daneben hat die Natur selbst Möglichkeiten zur Modulation der HAT-Aktivität vorgesehen, die im Fall von CBP/p300 über verschiedene posttranskriptionale Modifikationen gesteuert werden kann.^[106] So wird CBP nach Phosphorylierung durch Cyclin E/CDK2 stimuliert und die Progression der Zelle durch die S-Phase ermöglicht.^[107] Eine weitere Phosphorylierung in einem anderen Bereich des Enzyms (der „GF-Box“) ermöglicht die Bindung an den Transkriptionsfaktor AP1,^[108] während eine Methylierung innerhalb der CREB-Bindungsdomäne die Affinität zu phosphoryliertem CREB verringert.^[109] Darüber hinaus wird p300 nach einer Sumoylierung zur Wechselwirkung mit HDAC6 befähigt.^[110]

2.2. Histon-Deacetylasen (HDACs)

Histon-Deacetylasen katalysieren als Teil von Multiproteinkomplexen die Abspaltung der Acetylgruppen von Proteinen, insbesondere von Histonen.^[111] Die Bedeutung dieser Enzyme wird dadurch unterstrichen, dass sie von den Insekten bis hin zum Menschen evolutionär konserviert sind.^[112] Es wurden bereits 18 humane HDACs identifiziert, die aufgrund von Sequenzhomologien in drei Klassen eingeteilt wurden.^[113] Enzyme der Klasse I leiten sich von der aus Hefe stammenden HDAC yRPD3 ab und umfassen beim Menschen die HDACs 1, 2, 3, 8 und 11.^[114] Ihnen ist eine kompakte Struktur gemeinsam, und sie sind vorwiegend im Zellkern der meisten Gewebe und Zelllinien lokalisiert.^[115] Zu den Enzymen der Klasse II werden die Homologen von

yHDA1 gerechnet, die nur in einer begrenzten Anzahl von Zelltypen exprimiert werden und nicht ausschließlich im Zellkern, sondern auch im Zellplasma nachgewiesen wurden.^[113,116] Beide Klassen verfügen über eine hoch konservierte katalytische Domäne aus etwa 390 Aminosäuren, unterscheiden sich jedoch in Zusammensetzung und Größe. Die hydrolytische Spaltung der Acetylgruppe erfolgt über die Aktivierung eines Wassermoleküls durch ein Zinkion des aktiven Zentrums.^[117] Die Enzyme der Klasse III (Sirtuine) gehen auf den Transkriptionsrepressor Sir2 (silent information regulator 2) der Hefe zurück; aufgrund von Sequenzhomologien werden sie in fünf Unterklassen gegliedert.^[118] Das aktive Zentrum besteht aus 275 Aminosäuren und benötigt zur Katalyse NAD⁺ als Cofaktor.^[119] Weiterhin verfügt das Enzym zur Vermittlung von Protein-Protein- oder Protein-DNA-Kontakten über zwei CXXC-Motive (Zinkfingerdomänen) sowie mindestens eine hydrophobe Region (Leucin-Zipper).^[118,120]

2.2.1. HDACs der Klassen I und II

Die Deacetylierung von Histonen führt zu geschlossenen Chromatinstrukturen, die nicht mehr für die Transkriptionsmaschinerie zugänglich sind. Damit HDACs diese Inaktivierung vermitteln, müssen sie aktiv an die entsprechenden Promotorregionen rekrutiert werden, da die Enzyme selbst nicht direkt mit der DNA oder den zugehörigen Histonproteinen wechselwirken.^[121,122] HDACs sind daher immer Teil von Proteinkomplexen, die spezifisch an bestimmte DNA-Regionen binden (Abbildung 6).

So sind Beispiele bekannt, in denen die HDACs direkt mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren Komplexe bilden und an die DNA rekrutiert werden. HDAC1 assoziiert beispielsweise mit YY1,^[123] während die HDACs 4, 5, 7 und 9 an Transkriptionsfaktoren der MEF-Familie binden, die mit spezifischen Promotorregionen wechselwirken und die Enzyme so zu ihrem Einsatzbereich führen.^[124] Im Fall von MEF2 konkurrieren HDAC4 und die HAT p300 um dieselbe Bindungsstelle, und der Transkriptionsfaktor kann je nach Bindungspartner als Repressor oder Aktivator der Genexpression fungieren. Ein solches Umschalten der Aktivität geschieht calciumabhängig: Bei HDAC4 überlappt die Bindungsstelle für MEF2 mit einer weiteren für Calmodulin, sodass die Deacetylase in Abhängigkeit von der Calciumkonzentration an Calmodulin bindet und nicht mehr mit MEF2 wechselwirken kann. Der Transkriptionsfaktor rekrutiert dann p300 und aktiviert die Genexpression durch Acetylierung des Chromatins.^[124] Daneben weist HDAC4 genauso wie HDAC5 und HDAC7 insgesamt drei 14-3-3-Bindungsstellen auf, in denen bestimmte Serinreste phosphoryliert werden können. Dies führt zur Unterbrechung des HDAC-MEF-Kontakts und ermöglicht die Bindung von 14-3-3-Proteinen, sodass die HDAC aus dem Kern in das Zellplasma transportiert und dort in einem inaktiven Zustand gehalten wird. Auch in diesem Fall bindet anschließend p300 an den Transkriptionsfaktor und aktiviert die Genexpression.^[124] Weiterhin deuten die Assoziation von HDAC4 mit Erk1 oder Erk2 und die Beobachtung, dass die Aktivierung des Ras-MAPK-Pfades eine verstärkte Lokalisation der

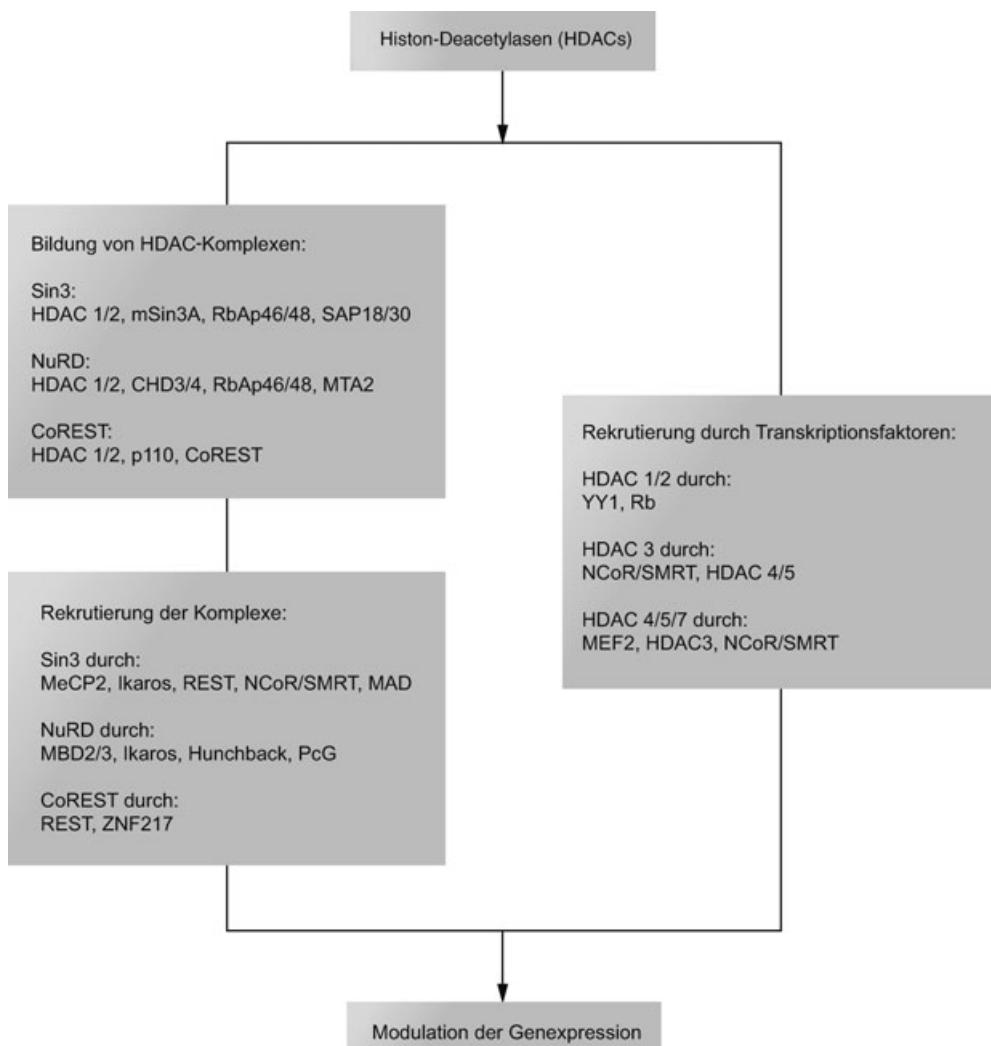


Abbildung 6. HDACs lagern sich mit anderen Proteinen zu Komplexen zusammen, die biologische Funktionen erfüllen. So bilden HDAC1 oder 2 zusammen mit mSin3A, RpAp46/48 und SAP18/30 den Sin3-Komplex, der beispielsweise von MeCP2 an die DNA rekrutiert wird und dort zur Inaktivierung des betreffenden Genabschnitts führt. Ähnliches gilt für NuRD und CoREST. Außerdem können HDACs mit anderen HDACs direkt mit Transkriptionsfaktoren wie YY1, MEF2 oder mit nuclearen Corepressoren wie NCoR wechselwirken.

Deacetylase im Zellkern zur Folge hat, darauf hin, dass zwischen beiden Wegen ein Zusammenhang bestehen könnte.^[125]

In anderen Beispielen binden HDACs nicht direkt, sondern erst in Form von Proteinkomplexen an bestimmte Transkriptionsfaktoren. Für HDAC1 und HDAC2 sind die Komplexe Sin3,^[126,127] NuRD^[128] und CoREST^[129–131] charakterisiert worden. Sin3 besteht aus HDAC1/2 und den Histon-Bindungsproteinen RpAp46/48, die zusammen den Core-Komplex bilden, der auch im NuRD-Komplex zu finden ist. Hinzu kommen die Stabilisatoren SAP18 und SAP30 sowie mSin3A, welche die Wechselwirkung mit zahlreichen DNA-bindenden Proteinen vermitteln und den Komplex so an bestimmte DNA-Regionen dirigieren.

Die Strukturen^[117] von Enzymen der HDAC-Klassen I und II bestehen aus einer einzigen Domäne, die strukturell den offenen α/β -Hydrolasen verwandt ist. Eine tiefe, röhren-

förmige Tasche weitert sich im Inneren des Enzyms zu einem Hohlraum, der das aktive Zentrum beherbergt. Während die kanalartige Struktur mit zahlreichen hydrophoben Aminosäureresten ausgekleidet ist, verfügt das aktive Zentrum zur Koordination des Zinkions über polare Histidin- und Aspartatreste. Der Katalysemechanismus^[112] ähnelt dem anderer Metallo- oder Serin-Proteasen: Das Carbonyl-Sauerstoffatom der Acetylgruppe koordiniert an das Zinkion und wird in der Nähe eines Wassermoleküls positioniert, das seinerseits für einen nucleophilen Angriff an der Carbonylgruppe aktiviert ist (Abbildung 7). Intermediär bildet sich ein Oxyanion, das wahrscheinlich durch die Wechselwirkung mit dem Zinkion und eine Wasserstoffbrücke zu einem benachbarten Tyrosinrest stabilisiert wird. Beim Zerfall dieser Zwischenstufe werden die gewünschten Produkte freigesetzt, und ein neuer Katalyzyklus kann beginnen.

Bereits 1976 wurde der Naturstoff Trichostatin A (TSA, **6**) (Abbildung 8) aus *Streptomyces hygroscopicus* isoliert und als fungistatisches Antibiotikum be-

schrieben.^[132] Erst knapp 20 Jahre später konnte **6** als potenter Inhibitor der HDAC-Klassen I und II identifiziert werden ($K_i = 3.4 \text{ nM}$).^[133] Davor waren kurzkettige Fettsäuren wie der Antiepilepsie-Wirkstoff Valproinsäure (**14**) oder Phenylbutyrat (**15**) mit IC_{50} -Werten im millimolaren Bereich die einzigen bekannten HDAC-Inhibitoren.^[134,135] Hydroxamsäurederivate wie TSA (**6**), SAHA (**7**) und CBHA (**8**) inhibieren das Enzym hingegen in nanomolaren Konzentrationen bei längeren Halbwertszeiten und besserer Bioverfügbarkeit.

Die Potenz der Inhibitoren zeigt sich auch in der Röntgenstrukturanalyse eines Cokristallisats aus HDAC und TSA^[117] durch eine nahezu perfekte Einpassung: Die terminale Hydroxamsäure-Funktion koordiniert optimal an das für die Katalyse essenzielle Zinkion des aktiven Zentrums (Abbildung 9). Die zu TSA analoge Trichostatinsäure erwies sich in biologischen Untersuchungen erwartungsgemäß als weitgehend inaktiv.^[136]

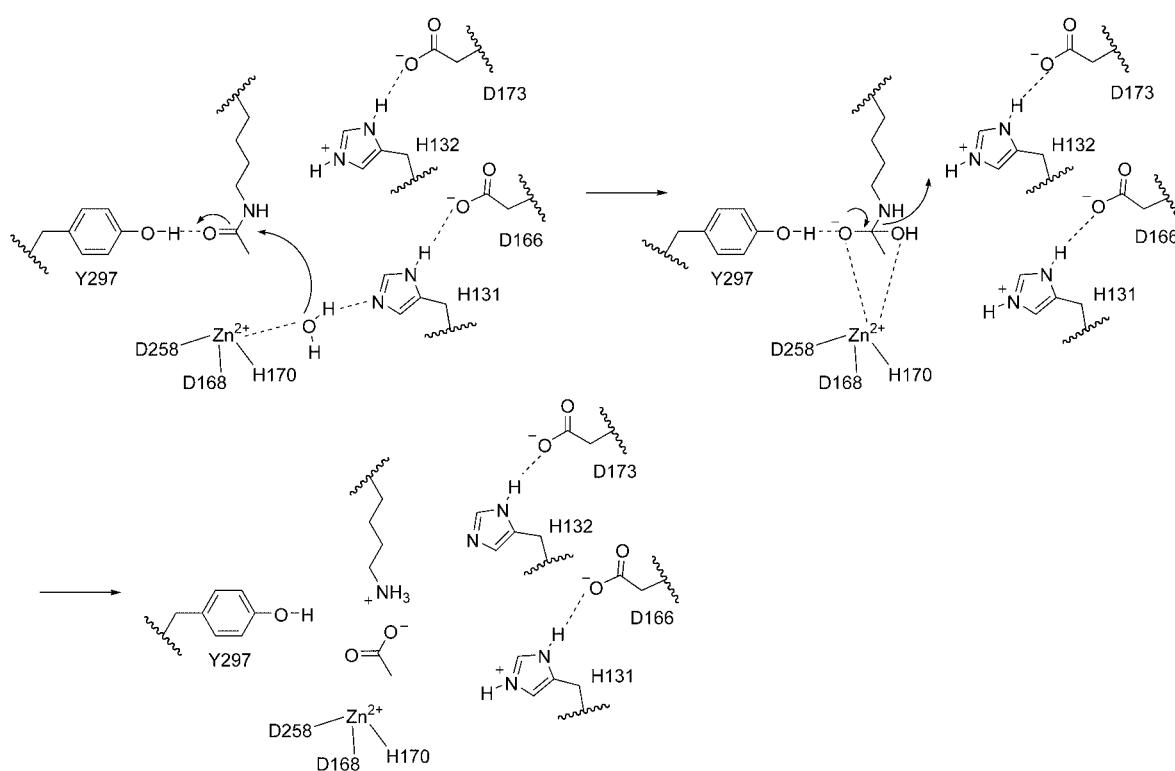


Abbildung 7. Katalysemechanismus von HDACs der Klassen I und II: Das acetylierte Substrat wird durch die Wechselwirkung mit Y297 aktiviert, während die Nucleophilie des zur Hydrolyse notwendigen Wassermoleküls durch ein Zinkion und das Basensystem H131-D166 erhöht wird. Zur Stabilisierung der tetraedrischen Zwischenstufe bildet das Oxyanion eine Wasserstoffbrücke zu Y297 und koordiniert zusätzlich an das Zinkion. Das für den Zerfall notwendige Proton wird durch das System H132-D173 bereitgestellt.

Die aliphatische Kette von TSA ermöglicht zahlreiche Van-der-Waals-Kontakte mit den Aminosäureresten innerhalb des röhrenförmigen Kanals der HDACs, während die aromatische Funktion als Mimetikum für die im natürlichen Substrat an den Lysinrest angrenzenden Aminosäuren dient und als Oberflächenelement wie eine „Kappe“ den Kanal zum aktiven Zentrum abschließt. Dieses Aufbauprinzip von TSA (Oberflächenelement-aliphatische Kette-chelatisierende Gruppe) bildete die Grundlage für neue Inhibitoren.^[137,138]

Neben den Hydroxamsäuren sind auch Inhibitoren mit Phenylendiamin- (MS-275 **16**) oder Epoxid-Einheiten (Trapoxin A **23**) als funktionellen Gruppen beschrieben worden. Während die Länge der aliphatischen Kette auf fünf bis sechs Kohlenstoffatome begrenzt bleiben muss (in **6**, **7**), kann sie isoster durch einen Arenring (in **8**) ersetzt werden.^[139–143] Die „Kappe“ sollte eine kleine planare Gruppe (in **6**) oder eine Tetrapeptid-Struktur wie in Apicidin (**22**) sein; dabei beeinflusst der Strukturtyp die Aktivität des Inhibitors: Eine kleine planare Gruppe als „Kappe“ führt in Kombination mit einer Carboxygruppe als funktioneller Einheit zu einem unwirksamen Inhibitor, während die gleiche Verbindung mit einem Tetrapeptid-Oberflächenelement ein potenter Wirkstoff ist.^[139,140] Kehrt man die Konfiguration von TSA (**6**) um, so erhält man einen inaktiven Inhibitor.^[136,144] Das synthetische Hybrid CHAP (**21**) mit einer Hydroxamsäure-Funktion und einer Tetrapeptid-„Kappe“ ist in nanomolaren Konzentrationen ein potenter Inhibitor.^[145,140] Andere Naturstoffe wie das

mäßig aktive Depudecin (**24**) leiten sich nicht von der TSA-Struktur ab.^[146–148]

Um die biologische Funktion der einzelnen HDACs zu evaluieren, müssen selektive Inhibitoren bereitgestellt werden. Die strukturelle Grundlage hierfür liegt in der Variation derjenigen Aminosäuren, die nicht direkt mit TSA wechselwirken: Durch eine gezielte Änderung der Struktur der „Kappe“ könnte ein Zugang zu selektiven Inhibitoren geschaffen werden.^[112] In diesem Sinne wird HDAC6 von keinem der Inhibitoren mit cyclischen Peptiden als Oberflächenelement erkannt, denn HDAC6 unterscheidet sich deutlich von allen anderen HDACs im Bereich von Tyr91, einer Aminosäure am Kanaleingang, die direkt mit der „Kappe“ von TSA wechselwirkt.

Der Grund für die Suche nach besseren HDAC-Inhibitoren ist in ihrer Verwendung als Tumortherapeutika zu sehen. Während die Histon-Acetylierung die Regulation der gesamten Genexpression betrifft, wird durch HDAC-Inhibitoren immer nur die Transkription einer kleinen Gruppe von Genen beeinflusst, die an der Kontrolle des Zellwachstums beteiligt sind.^[149] Dieser begrenzte Wirkungsbereich dürfte darauf zurückzuführen sein, dass, entsprechend dem Modell des Histon-Codes, auch andere kovalente Histonmodifikationen Auswirkungen auf die Transkription haben können.^[8] Neben der Histon-Deacetylierung führt auch die Histon-Methylierung zu einer Inaktivierung von Genen, die durch die Gabe von HDAC-Inhibitoren nicht aufgehoben werden

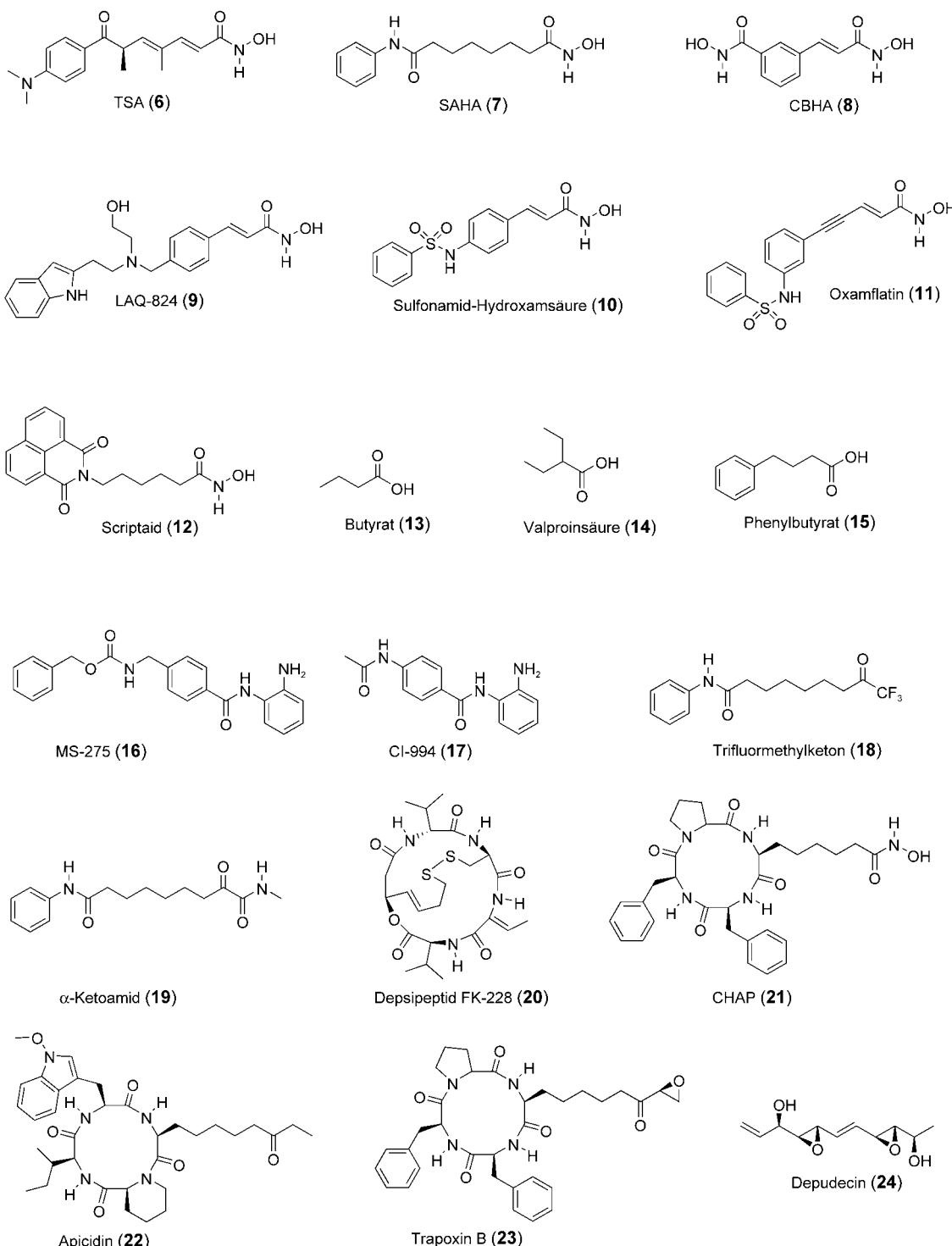


Abbildung 8. HDAC-Inhibitoren lassen sich in fünf Strukturklassen einteilen: Hydroxamate (6–12), aliphatische Carbonsäuren (13–15), Benzamide (16, 17), elektrophile Ketone (18, 19), cyclische Tetrapeptide (20–23) und sonstige Verbindungen (z. B. 24).

kann. Gleichermaßen gilt für die DNA-Methylierung (Abschnitt 3.1.2.).^[150]

Trotzdem können HDAC-Inhibitoren bei Leukämien und soliden Tumoren einen Proliferationsstopp induzieren und die Differenzierung einleiten. Die molekularen Grundlagen hierfür sind bisher nur ansatzweise verstanden.^[138, 151–154] In den meisten Fällen wird in Tumorzellen durch die HDAC-

Inhibition die Transkription des CDK-Inhibitors WAF1 (p21, codiert durch CDKN1A) aktiviert,^[155] und die Inhibition verschiedener Cycline sowie die Hypophosphorylierung des Retinoblastom-Tumorsuppressor-Proteins Rb führen letztlich zur Unterbindung der S-Phasen-Progression und damit zum Zellzyklusstop an G1.^[156] Dies blockiert die Apoptose und leitet die Zellen in die Differenzierung. Diejenigen Tumor-

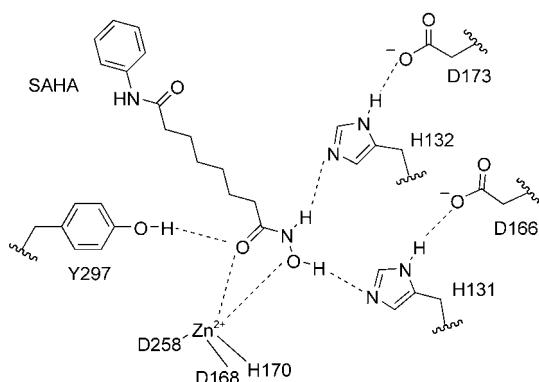


Abbildung 9. Das von TSA abgeleitete SAHA (7) zeigt ein perfektes Wechselwirkungsmuster mit den Kontaktstellen im aktiven Zentrum der HDAC.

zellen, bei denen nach Behandlung mit HDAC-Inhibitoren kein G1-Arrest induziert wird^[157,158] (z.B. solche ohne CDKN1A), replizieren ihre DNA bis zum doppelten Chromosomensatz und gehen dann in die Apoptose über.^[159–162] Eine Erklärung dieses Phänomens ist möglicherweise darin zu finden, dass die Hyperacetylierung der Histone die Centromer- und Kinetochorfunktion stört, was letztlich den Tod der Zelle bewirkt. Bei normalen Zellen führen die HDAC-Inhibitoren hingegen zur Induktion eines G2-Kontrollpunkts und damit zu einem Zellzyklusstop mit geringer Cytotoxizität (Abbildung 10).^[159]

Die Behandlung einer Vielzahl von Tumorzellen mit HDAC-Inhibitoren führt zur Apoptose.^[152,156,160,161,163] Dabei wird sowohl die extrinsische als auch die intrinsische Apoptose-Signalkaskade aktiviert. So stimulieren Apicidin (22) und CBHA (8) die Expression des Todesrezeptors CD95 und seines Liganden CD95L.^[161,162] Weiterhin führt die Gabe von HDAC-Inhibitoren zu einer Zunahme der Expression von pro-apoptotischen Bcl2-Proteinen (BAX/BAK) und einer Abnahme der anti-apoptotischen Vertreter.^[154,164,165] Beide beschriebenen Wege münden letztlich in die Aktivierung von Caspasen.

Daneben zeigen HDAC-Inhibitoren weitere Antitumor-effekte. So verbessert die Transkription von MHC-I- und MHC-II-Genen die Immunzellen-Erkennung.^[166–169] TSA (6) inhibiert darüber hinaus die durch Hypoxie induzierte Expression von VEGF und unterbindet damit die Angiogenese.^[170]

Diese Untersuchungen zeigen, dass HDAC-Inhibitoren potente Antitumorwirkstoffe sind, die sich durch ein Minimum an Nebenwirkungen auszeichnen und die Behandlung solcher Erkrankungen tiefgreifend verändern könnten. Mit SAHA (7), dem Depsipeptid FK-228 (20), MS-275 (16) sowie LAQ-824 (9) befinden sich bereits einige erfolgversprechende Substanzen in den Phasen I und II der klinischen Prüfung.

2.2.2. HDACs der Klasse III: Sirtuine

Der Namensgeber aller Sirtuine ist der „stille Informationsrepressor 2“ (Sir2) aus Hefe, dessen NAD⁺-abhängige Histon-Deacetylase-Aktivität nicht durch TSA inhibiert

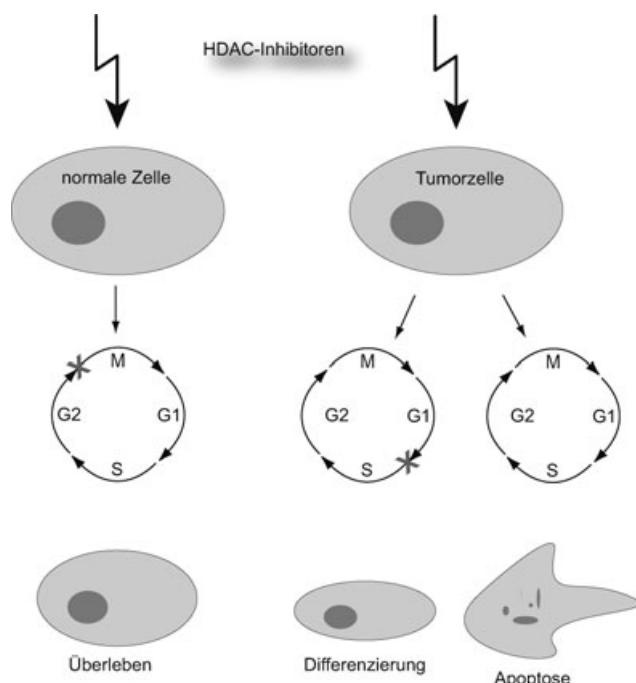


Abbildung 10. Biologische Wirkungen der HDAC-Inhibitoren: In normalen Zellen führt die Gabe von HDAC-Inhibitoren zur Induktion eines G2-Kontrollpunktes und damit zu einem Zellzyklusstop mit geringer Toxizität. Bei Tumorzellen wird unter dem Einfluss von HDAC-Inhibitoren in vielen Fällen die Transkription des CDK-Inhibitors WAF1 verstärkt, der mit einem Zellzyklusstop an G1 in Verbindung steht und die Zeldifferenzierung auslöst. Diejenigen Zellen, die nicht mit einem G1-Arrest reagieren, replizieren ihre DNA und leiten dann die Apoptose ein.

wird.^[118,171] Erste Untersuchungen zeigten, dass zur Entfernung einer Acetylgruppe von einem acetylierten Lysinrest die stöchiometrische Menge an NAD⁺ notwendig ist, das in diesem speziellen Fall nicht als Redoxfaktor wirkt, sondern nach Hydrolyse der Nicotinamid-Funktion als Acetylacceptor.^[172] Ausführliche Strukturuntersuchungen haben gezeigt, dass Sir2 über eine Core-Domäne verfügt, die an ihren Enden durch eine Rossmann-Fold und ein flexibles Zinkbindungs-motiv abgeschlossen wird. Beide Strukturelemente sind über eine Reihe von Schleifen miteinander verbunden; diese bilden in der zentralen Region der Core-Domäne eine Furche, an deren gegenüberliegenden Seiten Acetyllysin und das Cosubstrat NAD⁺ gebunden werden.^[173–176]

Die Röntgenstrukturanalyse eines Sir2-Homologen aus *Saccharomyces cerevisiae* (yHst2), cokristallisiert mit acetyliertem H4 und carba-NAD⁺ (einem hydrolysebeständigen NAD⁺-Derivat, das anstelle des Riboseringes eine 2,3-Dihydroxycyclopantan-Einheit enthält), lieferte neue Einsichten in den Katalysemechanismus (Abbildung 11).^[177] Auf der Grundlage dieser Ergebnisse wurde postuliert, dass Nicotinamid im ersten Schritt hydrolytisch abgespalten wird und das entstehende Oxykation durch ein an Asn116 koordiniertes Wassermolekül stabilisiert wird. In einem zweiten Schritt greift das Carbonyl-Sauerstoffatom des Acetyllysinsrests nukleophil am aktivierten Ribosering an, und das entstehende Imin-artige Intermediat wird durch einen von His135 unterstützten Angriff der Ribose-2'-OH-Funktion abgefangen. Die

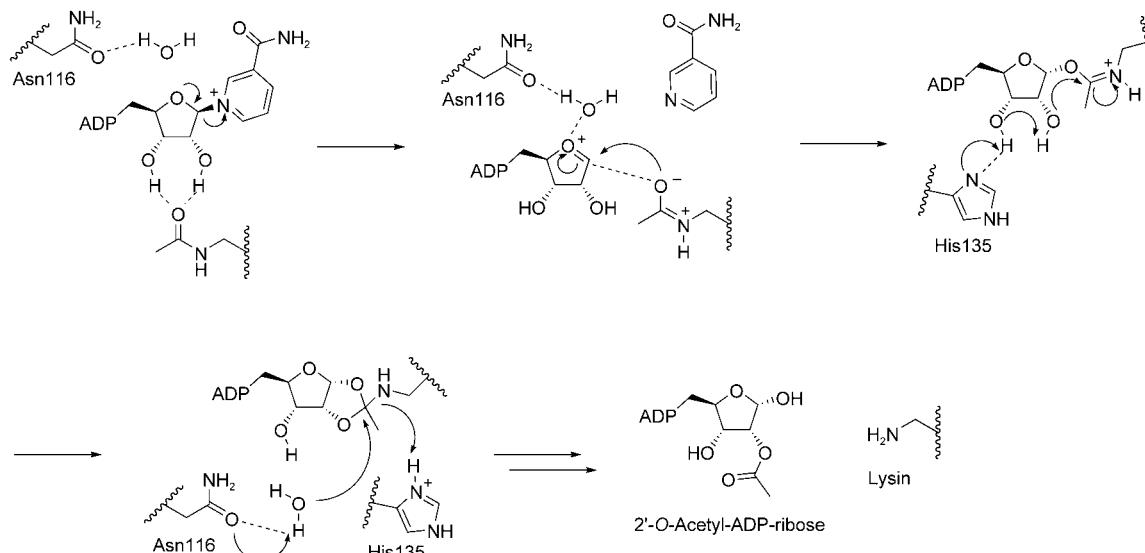


Abbildung 11. Katalysemechanismus der Sirtuine: Während das Acetyl-Lysin-Substrat an den beiden Hydroxylfunktionen des Riboseringes koordiniert wird, erfolgt die Abspaltung von Nicotinamid unter dem Einfluss eines an Asn116 gebundenen Wassermoleküls, das zur Stabilisierung des intermediär gebildeten Ribose-Oxykations dient. Der nucleophile Angriff des Acetyl-Lysins führt zu einer Imin-artigen Struktur, die unter Vermittlung von His135 durch die 2'-OH-Funktion des Riboseringes nucleophil abgefangen wird. Eine abschließende Hydrolyse liefert den freien Lysinrest und 2'-O-Acetyl-ADP-ribose.

Acetal-analoge Struktur wird nachfolgend durch das an Asn116 koordinierte Wassermolekül und unter Beteiligung des protonierten His135, zum freien Lysin und zur 2'-O-Acetyl-ADP-ribose hydrolysiert. Während dieser Reaktionssequenz ändern sowohl der Ribosering des Cosubstrats, als auch die hoch konservierte $\beta_1\text{-}\alpha_2$ -Schleife des Enzyms deutlich ihre Positionen.

Sir2 steht mit der Inaktivierung bestimmter Gene in Verbindung.^[178] Im Fall von ySir2p sind diesbezüglich drei Regionen innerhalb des Hefegenoms zu berücksichtigen: Gene, die sich entweder angrenzend zu den Telomeren, im Bereich ribosomaler DNA (rDNA) oder am „silent mating type loci“ befinden.^[179] Sir2 liegt dazu in Form von zwei

unterschiedlichen Komplexen vor.^[179] Der erste Komplex Sir2/Sir3/Sir4 (SIR-Komplex) bewirkt die Inaktivierung an der Telomerenregion und dürfte eine wichtige Rolle bei deren Stabilisierung als Heterochromatin spielen.^[180] Eine Deletion in Sir3 oder Sir4 führt zur Verkürzung der Telomere und zu einer fehlgeleiteten Mitose, während die Überexpression von Sir4 eine Verlängerung der Telomere zur Folge hat (Abbildung 12).^[180]

Der zweite Komplex, Sir2/Net1/Cdc14, führt zur Bildung geschlossener Chromatinstrukturen an der ribosomalen DNA (rDNA).^[179] Dort existieren ungefähr 100–200 Kopien von Genen, die für rRNA codieren. Die Vielzahl sich wiederholender DNA-Sequenzen ermöglicht einen Spleißprozess

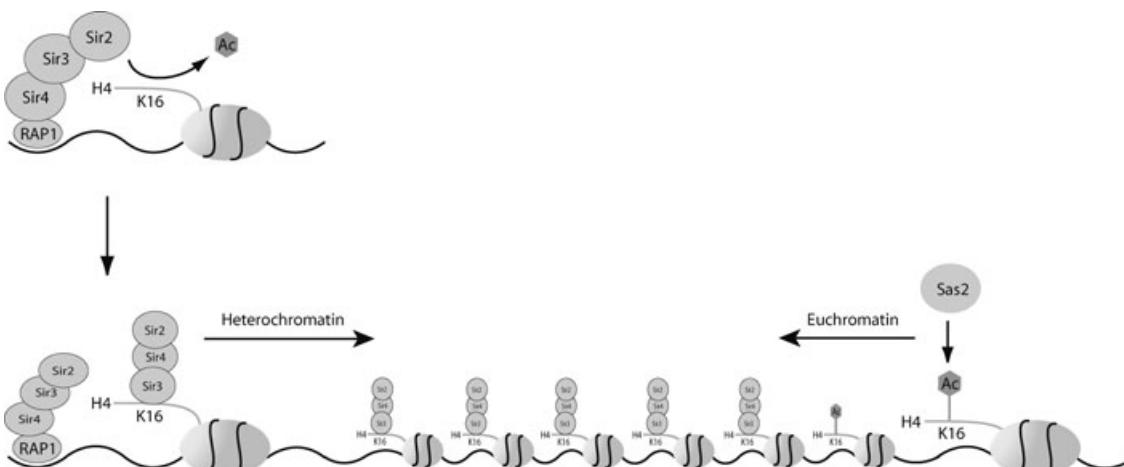


Abbildung 12. Sir2-vermittelte Inaktivierung von Genen an der Telomerenregion: Das DNA-Bindungsprotein Rap1 rekrutiert Sir4, Sir3 und Sir2.^[181–184] Letzteres deacetyliert das nächstliegende Histon H4 an K16 und schafft so einen Ankerpunkt für die Bildung des nächsten Sirtuinkomplexes, und der Zyklus wiederholt sich.^[185–187] Die damit verbundene Ausbreitung des Heterochromatins wird durch einen zweiten Prozess beschränkt: Die HAT Sas2 wirkt der Sirtuin-funktion entgegen, indem sie H4-K16 acetyliert.^[188–190] Die Lage des Gleichgewichts zwischen diesen gegenläufigen Vorgängen bestimmt, wieviel Heterochromatin an der Telomerenregion vorliegt.

unter Bildung von extrachromosomalen DNA-Ringen (ERCs), die für die Zelle toxisch sind und deren Lebensspanne verkürzen.^[191] Dies lässt sich durch die künstliche Einführung von ERCs beweisen. Umgekehrt erhöht die Einführung einer weiteren Kopie von Sir2 die Lebensspanne, da durch Inaktivierung der rDNA-Regionen die Bildung von ERCs unterdrückt wird.^[192] Erstaunlicherweise erhöht auch ein Glucose-Entzug bei vielen Organismen die Lebensspanne.^[193] Dies kann dadurch erklärt werden, dass der Stoffwechselzustand einer Zelle über den NAD⁺-Spiegel direkt mit der Sir2-Aktivität gekoppelt ist.^[194] Eine geringe Glucosaufnahme führt zu einer geringeren Stoffwechselaktivität und damit zur Oxidation von NADH zu NAD⁺. Die höhere NAD⁺-Konzentration steigert direkt die Sir2-Aktivität, und durch Inaktivierung der rDNA wird die Bildung toxischer extrachromosomaler DNA-Ringe unterdrückt. Das Kontrollexperiment zeigt: Eine Mutation im NAD⁺-Biosyntheseweg der Hefe verkürzt die Lebensspanne, was sich weder durch eine Mutation im Glucosepfad noch von Sir2 aufhalten lässt.^[194]

Die biologische Funktion der Sirtuine kann im Sinne eines chemisch-genetischen Ansatzes nur mithilfe geeigneter Modulatoren erforscht werden. Als erster Inhibitor wurde ein nicht hydrolysierbares NAD⁺-Analogon beschrieben, das nicht zellgängig und somit nur bedingt einsetzbar war.^[172] Der Gruppe um Schreiber gelang hingegen die Identifikation von Sirtinol (**25**), einem Inhibitor mit zentraler 2-Hydroxy-1-naphthyl-Einheit als notwendigem und für die Inhibition hinreichendem Strukturelement (Abbildung 13).^[193] Weiterhin ergab das Screening einer Bibliothek mit 6000 Substanzen, dass Splitomicin (**28**) in mikromolaren Konzentrationen als Inhibitor von Sir2 wirkt.^[195] Daneben wurde mit Resveratrol (3,5,4'-Trihydroxy-(E)-stilben, **29**) inzwischen auch ein potenter Stimulator der Sirtuine entdeckt.^[196] Dieser Inhaltsstoff des Rotweins wird zur großen Gruppe der sekundären Pflanzenmetabolite gerechnet.^[197] Aus dieser Familie konnten

mit dem Chalkonderivat Butein (**30**) und dem Flavonderivat Quercetin (**31**) weitere, wenn auch im Vergleich zu Resveratrol **29** weniger wirksamere, Sirtuin-Aktivatoren (sirtuin activating compounds, STACs) identifiziert werden.

3. Die Histon-Methylierung

Die Histon-Methylierung wurde bereits vor über 30 Jahren entdeckt,^[198] rückte allerdings erst in jüngster Zeit als wichtiger Bestandteil der Regulation der Genexpression in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses. Seit dem Jahr 2000 wurde eine Vielzahl von Histon-Methyltransferasen (HMTs) identifiziert und Wechselwirkungen zwischen den Histonmodifikationen nachgewiesen.^[199,200]

Die spezifische Methylierung von Lysinresten findet am Histon H3 an den Positionen K4, K9, K27, K36 und K79 sowie am Histon H4 an K20 statt. Die Arginin-Methylierung erfolgt am Histon H3 an R2, R17 und R26 sowie am Histon H4 an R3. Ebenso wurde über eine K-Methylierung am H1-Aminoterminus^[201] und über die Methylierung von Nicht-Histoneproteinen^[202,203] berichtet.

Die Histon-Methylierung ist eine stabile epigenetische Markierung, die zwar die Gesamtladung der Histone nicht ändert, jedoch in Abhängigkeit des Methylierungsgrads (Abbildung 14)^[8] die Basizität, die Hydrophobie und die Affinität gegenüber anionischen Molekülen wie DNA beeinflusst.^[204,205] Die HMTs sind erstaunlich spezifisch bezüglich des Methylierungsgrads, dem kürzlich eine Bedeutung bei der Transkription zugesprochen wurde.^[206]

Ebenso wie die Acetylierung kann die Histon-Methylierung die Wechselwirkung mit DNA und Chromatin-assoziierten Proteinen modulieren, was zu veränderten nucleosomalen Strukturen und Funktionen führt und in den verschiedensten biologischen Wirkungen resultiert.^[207]

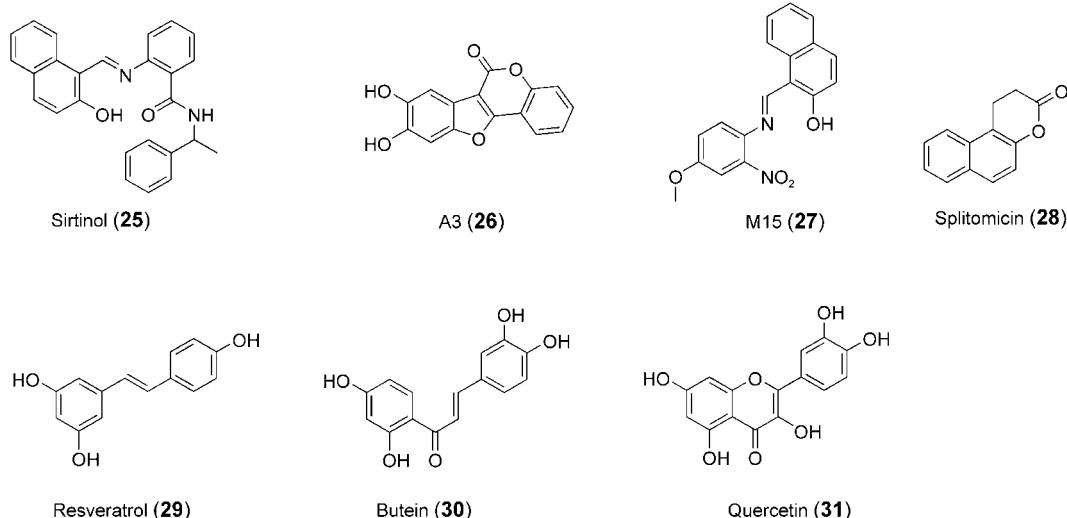


Abbildung 13. Sirtuin-Modulatoren: Sirtinol (**25**), A3 (**26**), M15 (**27**) und Splitomicin (**28**) sind Sirtuin-Inhibitoren, während Resveratrol (**29**), Butein (**30**) und das Flavonderivat Quercetin (**31**) als Aktivatoren wirken.

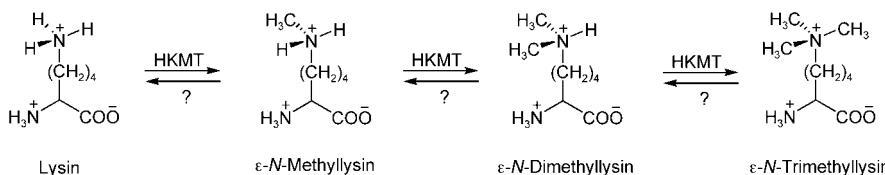


Abbildung 14. Die Stufen der Lysin-Methylierung. HKMT: Histon-Lysin-Methyltransferase; ?: unbekannter Demethylierungsmechanismus.

3.1. Histon-Lysin-Methyltransferasen (HKMTs)

Im Jahre 2000 konnte SUV39 in *Drosophila* als erste Histon-Lysin-Methyltransferase identifiziert und ihre direkte Aktivität bezogen auf H3-K9 nachgewiesen werden.^[13] Die HKMTs verwenden S-Adenosylmethionin (SAM) als Cofaktor,^[207] ihre Cofaktor-Bindungsstelle ist erstaunlicherweise jedoch nicht mit den klassischen SAM-Bindungstaschen von DNA- und Arginin-Methyltransferasen verwandt.^[208]

Die katalytische Domäne liegt innerhalb einer hoch konservierten globulären Struktur aus ungefähr 130 Aminosäureresten, die in Anlehnung an die drei *Drosophila*-Gene, die in epigenetische Prozesse involviert sind, als SET-Domäne (*Su(var)3-9*, *Enhancer-of-zeste*, *Trithorax*) bezeichnet wird. Für die enzymatische Aktivität sind cysteinreiche, weniger stark konservierte Sequenzen (PRE-SET- oder POST-SET-Domänen) essenziell, welche die SET-Domäne flankieren.^[200,208,209] Durch Sequenzvergleiche wurden drei hoch konservierte Aminosäuren identifiziert (Asn241, His242 und Tyr283), die mit der enzymatischen Aktivität in Verbindung stehen.^[208,210-212] Ein Austausch von Asn241 beeinflusst darüber hinaus auch die SAM-Bindung.^[208]

Bisher sind mehr als 300 Proteine mit einer SET-Domäne identifiziert worden;^[199] sie wurden in vier Hauptklassen unterteilt: SUV39, SET1, SET2 und RIZ-SET. Die Klassifizierung basiert einerseits auf der Sequenzhomologie zwischen den einzelnen SET-Domänen und andererseits auf ihrem Verwandtschaftsgrad zu den SET-Domänen in der Hefe *S. cerevisiae*.^[200,213] Die Mitglieder einzelner Enzymfamilien zeigen weitere gleichartige Strukturmerkmale wie Bromo-, Chromo-, PRE-SET- oder POST-SET-Domänen, und ihre Substratspezifität scheint ähnlich zu sein.^[200,208,209]

So verfügt nur die SUV39-Familie über eine PRE-SET- und eine Chromodomäne, die kein methyliertes H3-K9 binden kann, aber wahrscheinlich andere methylierte Lysinreste oder Proteine erkennt.^[200] Solche Unterschiede in der Bindungsspezifität der Chromodomänen sind von anderen Proteinen bekannt, und möglicherweise reguliert der Methylierungsgrad die Bindung.^[214,215] Die zur SET1-Familie gehörende HKMT MLL verfügt über eine Bromodomäne und eine methylbindende Domäne (MBD).^[216] Auch ASH1 aus der SET2-Familie weist eine Bromodomäne auf und kann genauso wie MLL^[217] mit der CBP-Acetyltransferase assoziieren (Abschnitt 2.1.).^[218]

Die Mitglieder der RIZ-Familie (retinoblastoma-interacting zinc finger) sind Transkriptionsregulatoren, die bei der Differenzierung eine Kontrollfunktion ausüben und bei einer Vielzahl von Tumoren nachgewiesen wurden.^[200,219-222] Bis-

lang ist jedoch für kein RIZ-Protein eine HMT-Aktivität bekannt.

Inzwischen liegen einige Kristallstrukturanalysen von HKMTs vor (z.B. Dim-5,^[210] Clr4,^[223] LSMT^[212] und vier SET7/9-Strukturen in verschiedenen Konfigurationen^[211,224-226]). Allerdings sind nicht alle SET-Proteine auch HKMTs, sie könnten aber evolutionär desaktivierte HKMTs darstellen.^[10,209]

Im Jahre 2002 wurde mit Dot1 erstmals eine H3-K79-spezifische HKMT ohne SET-Domäne identifiziert.^[227] Aus diesem Grund sollten HKMTs nach epigenetischen Gesichtspunkten nicht mehr in sequenzhomologe Klassen eingeteilt, sondern bezüglich ihrer Histspezifität betrachtet werden (Tabelle 2).

Bislang ist nicht geklärt, wie HKMTs die Mono-, Di- oder Trimethylierung katalysieren und wie sich diese unterschiedlichen Substitutionsmuster auf die Transkription auswirken.^[228]

Tabelle 2: Spezifität der Histon-Lysin-Methyltransferasen.

Spezifität	Histon-Lysin-Methyltransferase ^[a]
H3-K4	ySet1, ^[229] Trx, ^[230] Ash1, ^[230,231] Set7/9, ^[224,232] ALL-1, ^[233] MLL, ^[234] ALR, ^[235] ALR-1, ^[235] SMYD3 ^[236]
H3-K9	SUV39, ^[237] Suv39h1, ^[13,238] Suv39h2, ^[239] Clr4, ^[13,215,240] Dim-5, ^[210,241] G9a, ^[242] Eu-HMTase I, ^[243] ESET, ^[244] SETDB1, ^[245] Ash1 ^[230,231]
H3-K27	E(Z), ^[b] Ezh2, ^[247] G9a ^[242]
H3-K36	ySet2, ^[248] NSD1 ^[249]
H3-K79	Dot1, ^[227,250] Dot1L, ^[227,251] Dot1p ^[252]
H4-K20	PR-Set7, ^[c] Ash1, ^[230,231] NSD1, ^[249] Suv4-20h1/2 ^[254]

[a] ALL-1: acute lymphoblastic leukaemia 1, ALR: ALL related gene, Ash1: absent, small, or homeotic discs 1, Clr4: cryptic loci regulator, Dot1: disrupter of telomeric silencing, Dot1L: disrupter of telomeric silencing like, E(Z): enhancer of zeste, ESET: ERG(ets-related gene)-associated protein with SET domain, Eu-HMTase I: euchromatic histone methyltransferase 1, Ezh2: enhancer of zeste homolog 2, ySet1: yeast SET domain containing 1, ySet2: yeast SET domain containing 2, MLL: mixed-lineage leukemia, NSD1: nuclear receptor-binding SET-domain protein 1, PR-Set7: PR-SET containing protein 07, Set7/9: SET domain containing 7/9, SET 8: SET domain containing 8, SETDB1: SET domain bifurcated 1, SMYD3: SET- and MYND-domain-containing protein 3, SUV39: suppressor of variegation 3-9, Suv39h: SUV39 homolog, Trx: Trithorax. [b] Im nativen Komplex ist auch die H3-K9-Methylierung von E(Z) beschrieben worden.^[255] [c] Auch als SET8 bezeichnet.

3.1.1. Histon-Methylierung und Genrepression (H3-K9, H3-K27, H4-K20)

Die Histonposition H3-K9 scheint eine überaus wichtige epigenetische Modifikationsstelle zu sein: Sie kann sowohl acetyliert als auch methyliert werden, und je nach Modifikation wird die Bildung von Euchromatin oder Heterochromatin unterstützt. Methylierungen an H3-K27 und H4-K20

stehen ebenfalls mit der Genrepression in Verbindung, z.B. bei der Inaktivierung des X-Chromosoms.

Bei der epigenetischen Inaktivierung durch die Bildung von Heterochromatin scheint das histonbindende Protein HP1 (heterochromatin-associated Protein 1) eine entscheidende Rolle zu spielen. Bei diesem konservierten Prozess kooperieren HDACs, HKMTs und HP1 (Abbildung 15).

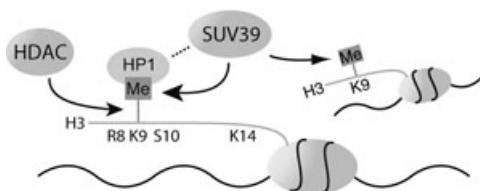


Abbildung 15. Inaktivierung von Genen durch Histon-Methylierung: HDACs deacetylieren H3-K9, das anschließend durch SUV39 methyliert werden kann. HP1 erkennt und bindet das methyierte H3-K9. Nach dem gleichen Schema werden weitere Histone methyliert und von HP1 gebunden. Dieser Prozess führt zur Bildung von Heterochromatin und zur Genrepression.

Nach Methylierung von H3-K9 durch SUV39 kann der Transkriptionsrepressor HP1 (ein Produkt eines zweiten SU[VAR]-Gens, Su(var)2-5) durch seine Chromodomäne selektiv binden.^[214,215,256] Das HP1-Protein enthält zwei hoch konservierte Regionen, die Chromodomäne und die Chromo-Shadow-Domäne.^[257] Mit der Chromodomäne erkennt HP1 methyliertes H3-K9 und bindet selektiv, während die Chromo-Shadow-Domäne die Wechselwirkung mit Proteinen wie SUV39 vermitteln könnte.^[256-259] Diese Wechselwirkung führt zu weiteren H3-K9-Methylierungen, und die HP1-Proteine verteilen sich unter Bildung von Heterochromatin über weite Chromosomenbereiche.^[260]

Auch bei der Inaktivierung von Genen in Hefe ist die Rekrutierung von HP1 an centromerem Chromatin durch das SUV39-Homologe Clr4 nachweislich wichtig.^[215,240c] Auf welchem Wege HP1 jedoch die hoch kompakten Chromatinstrukturen generiert und die Transkription hemmt, ist noch nicht geklärt.^[10,261] Zwei Moleküle HP1 könnten durch Wechselwirkungen der Chromo-Shadow-Domänen dimerisieren und dadurch die Bildung von Heterochromatin induzieren.^[207]

Die H3-Methylierung, besonders die H3-K9- und die H3-K27-Methylierung, stehen mit der X-Chromosom-Inaktivierung (Xi) im Zusammenhang.^[262-266] Jedoch weist dieser Prozess keine Rekrutierung von HP1 auf, und es scheint, dass Xi durch einen RNA-abhängigen Prozess induziert wird. Dieser rekrutiert einen Ezh2-Komplex mit HKMT-Aktivität, der nachfolgend die H3-K27- und H3-K9-Methylierungen vollzieht.^[247a,255,266-272] Jedoch muss die grundlegende Beziehung zwischen Histon-Methylierung und X-Chromosom-Inaktivierung noch vollständig aufgeklärt werden.

RNA-Anteile sind auch bei der Bildung von Heterochromatin beteiligt, z.B. könnten sie Bindungsstellen für HMTs bereitstellen oder den Aufbau höher geordneter Chromatinstrukturen vermitteln.^[273,274]

Die Acetylierung von H3-K9 und H3-K14 sowie die Phosphorylierung von H3-S10 verhindern im Allgemeinen die Bildung von Heterochromatin (Abschnitt 1.1).^[13,240c,275]

Weiterhin entstehen durch die spezifische Methylierung von H3 Bindungsstellen für bestimmte Repressorproteine, die ihrerseits einen Repressorkomplex bilden können. Die spezifische Genrepression durch HKMTs, die H3-K9, H3-K27 und H4-K20 methylieren, ist jedoch noch weitgehend unverstanden.

Beispielsweise kann das Polycomb(PC)-Protein über seine Chromodomäne spezifisch an methyliertes H3-K27 binden, und dieses Ereignis führt spezifisch zu einem aktiven Polycomb-Repressor-Komplex.^[247a,255,269,276-278]

Ein weiteres Beispiel für die Repression der Transkription am Euchromatin ist das Retinoblastom(Rb)-Protein, das den hemmenden SUV39/HP1-Komplex an Zellzyklus-kontrollierende Gene wie Cyclin E rekrutiert (Abbildung 16).^[259,279,280] Cyclin E ist wichtig für die Regulation des Zellzyklus beim Übergang von der G1- zur S-Phase. Die Senkung der Cyclin-E-Aktivität führt zur Proliferation und somit möglicherweise auch zum Tumorwachstum.^[281]

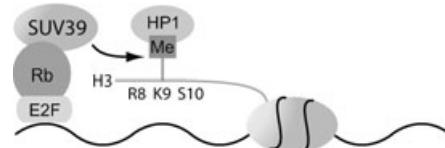


Abbildung 16. Histon-Methylierung und Repression der Transkription: Durch E2F/Rb wird die Histon-Lysin-Methyltransferase SUV39 an bestimmte Promotorsequenzen lokalisiert. Das Protein HP1 initiiert daraufhin eine Repression der Transkription am Euchromatin.

Hierbei wird Rb durch die Wechselwirkung mit dem Zellzyklus-regulierenden, DNA-spezifischen Bindungsprotein E2F an die entsprechenden Promotoren rekrutiert.^[282,283] Nachfolgend wird SUV39 gebunden, entsprechende Histon H3-Anteile werden methyliert und HP1 wird an diese sehr speziellen Promotorregionen lokalisiert. HP1 unterdrückt somit die Transkription ohne verstärkte Bildung von Heterochromatin.

Durch Mutation des Rb-Proteins ist die Assoziation von Rb und SUV39 gestört, der Cyclin-E-Promotor an H3-K9 untermethyliert, und als Folge ist HP1 nicht mit dem Cyclin-E-Promotor verbunden.^[259] Diese Ergebnisse legen nahe, dass die H3-K9-Methylierung durch die Vermittlung von Repressorproteinen, hier Rb, an ganz bestimmten Promotorstellen stattfindet. Wahrscheinlich wird bei diesem Prozess auch eine Deacetylase rekrutiert, die H3-K9 vor der Methylierung deacetyliert.^[13,237b,284]

Unklar ist allerdings weiterhin die Bedeutung von HP1. Wenn die SUV39-Methylierung für die Repression von Cyclin E und anderen Rb-regulierten Genen, z.B. des Dihydrofolat-Reduktase(DHFR)-Promotors, nötig ist, sollte die nachfolgende Bindung von HP1 zur Repression führen.^[242,279] Im Einzelnen könnte diese Inaktivierung dadurch vermittelt werden, dass HP1 weitere Regulatoren, wie Deacetylase und ATPasen, an die Promotoren rekrutiert.^[257] HP1 könnte alternativ die H3-K9-Methylierungen vor einem Abbau, z.B.

durch bisher nicht bekannte Demethylasen, schützen. Wenn allerdings HP1 an der Inaktivierung von Cyclin E beteiligt ist, kann die Assoziation mit dem Promotor nur vorübergehend sein, weil Cyclin E in der S-Phase aktiviert wird. Dies könnte über Phosphorylierungen vermittelt werden, da HP1 hoch phosphoryliert werden kann.^[258] Allerdings könnte auch die Phosphorylierung von Rb die Assoziation mit SUV39 aufheben, sodass hier auch andere Kinasen beteiligt sein können.^[279] Als Folge der Phosphorylierung wird E2F freigesetzt und die Transkription aktiviert.^[285] HP1 spielt nicht nur bei der Regulation von Rb-abhängigen Genen eine Rolle, sondern es assoziiert auch mit Transkriptionsregulatoren^[257] wie dem Ikaros-Protein^[286,287] oder KAP1 (KRAB-associated protein 1).^[288–290]

Auch die H4-K20-Methylierung wird mit der Repression der Transkription in Verbindung gebracht. So führt die spezifische Methylierung an H4-K20 durch PRSet7 zu kondensierten Chromosomenbereichen bei *Drosophila*.^[253a,b,291] Weiterhin konnten In-vitro- und In-vivo-Studien zeigen, dass eine H4-K20-Methylierung die H4-K16-Acetylierung inhibieren kann, die für das hyperaktive männliche X-Chromosom bei *Drosophila*^[292] und die aktivierte Transkription bei humanen Zellen steht.^[293] Weitere Studien müssen klären, weshalb H4-K20 in mono-, di- und trimethyliertem Zustand vorliegen kann.^[294]

3.1.2. Histon- und DNA-Methylierung

Die anomale DNA-Methylierung von Promotor-Regionen scheint erheblich zur Tumorentstehung beizutragen.^[295–299] Diese könnte beispielsweise von Fehlern bei der DNA-Methylierung nach der Replikation, der De-novo-DNA-Methylierung oder falschen DNA-Reparaturmechanismen abhängen.^[300] Die enzymatische Übertragung von Methylgruppen auf die C5-Position der Cytosin-Nucleotide bei der DNA-Methylierung führt unmittelbar zur Inaktivierung von Genen, die zugrunde liegenden Mechanismen sind jedoch weitgehend unbekannt.

Kürzlich wurde nachgewiesen, dass die DNA-Methylierung bei dem Pilz *Neurospora crassa* auch von spezifischen Histon-Methylierungen abhängt;^[301,302] ein ähnlicher Zusammenhang wurde für *Arabidopsis thaliana* beschrieben.^[303] In *N. crassa* konnte weiterhin eine H3-K9-spezifische Methyltransferase – Dim-5 – identifiziert werden, die für die DNA-Methylierung und die Inaktivierung von Genen essenziell ist.^[241a]

Auch SUV39 und G9a sind mit der DNA-Methylierung in Zusammenhang gebracht worden.^[304–307] Weiterhin ist bekannt, dass DNA-Methyltransferasen (DNMT) mit HP1-Homologen assoziieren können.^[303,308–310]

So könnte Dim-5 im ersten Schritt H3-K9 trimethylieren^[311] und HP1 über seine Chromodomäne binden. HP1 rekrutiert dann weitere DNMTs^[312,313] an das Chromatin, die daraufhin die DNA methylieren. Erst kürzlich wurde nachgewiesen, dass sowohl die H3-K9-Trimethylierung,^[311] als auch HP1^[314] für eine DNA-Methylierung bei *N. crassa* erforderlich sind. HP1 könnte daher eine Verbindung zwischen Histon-Methylierung und DNA-Methylierung herstellen.

In einer weiteren Phase der Inaktivierung könnten zusätzlich methylbindende Proteine (MBPs), mit ihrer MB-Domäne, die methylierte DNA erkennen. MBPs wie MeCP2 rekrutieren daraufhin HDACs, die Lysinreste deacetylieren und für weitere Methylierungen zugänglich machen (Abschnitt 2.2.1.).^[315–318] In vitro und in vivo konnte nachgewiesen werden, dass MeCP2 nicht nur HDACs rekrutieren, sondern auch Histon-Methyltransferasen binden kann, die H3-K9 selektiv methylieren.^[319] Welche HKMT hierbei rekrutiert wird, ist bisher nicht bekannt, jedoch wechseltwirkt MBP mit dem Suv39h1-HP1-Komplex.^[320] Mutationen in Gensequenzen, die für MeCP2 codieren, führen zum Rett-Syndrom, das sich in der geistigen Retardiertheit von jungen Mädchen äußert.^[321–323] Hierbei kommt es bemerkenswerterweise nicht zu einer globalen Derepression von Genen, sondern die Auswirkungen beschränken sich nur auf neuronale Gene, die zum entsprechenden Krankheitsbild führen.^[324,325]

Ebenso sind auch Methyltransferasen beschrieben worden, die MB-Domänen zur Erkennung von DNA-Methylierungen enthalten, z.B. die humane SETDB1 und ihr Homologes ESET in Mäusen.^[315] SETDB1 wird ebenfalls mit der H3-K9-Methylierung während der DNA-Replikation in Verbindung gebracht.^[326] Weiterhin ist mit SMYD3 eine neue HKMT identifiziert worden, die an bestimmte DNA-Sequenzen bindet.^[327] Erstaunlicherweise können auch DNMTs in vitro und in vivo H3-K9-spezifische HKMTs wie Suv39h1 rekrutieren und somit weitere Histon-Methylierungen möglich machen.^[308] Diese fortwährenden Zyklen von Histon- und DNA-Methylierung weiten die Gen-Inaktivierung aus (Abbildung 17).^[200]

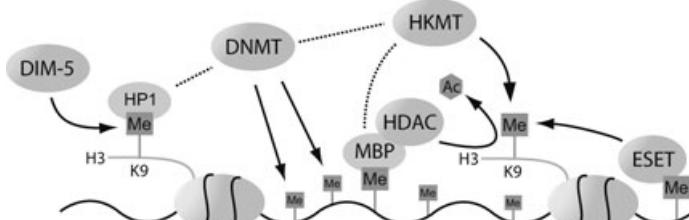


Abbildung 17. Das komplexe Zusammenspiel von Histon- und DNA-Methylierung: Nach Bindung von HP1 an methyliertes H3-K9 werden DNA-Methyltransferasen (DNMTs) rekrutiert, die daraufhin die DNA methylieren. MBP-Proteine erkennen diese DNA-Methylierung und rekrutieren HDACs, die andere Histonbereiche den Histon-Lysin-Methyltransferasen mit methylbindenden Domänen (MBD), z. B. ESET, zugänglich machen. Sowohl MBP-Proteine als auch DNMTs können Histon-Lysin-Methyltransferasen rekrutieren.

Interessanterweise konnte ein Zusammenhang zwischen DNA-Methylierung und H3-K9-Methylierung in anderen Spezies, z.B. dem Pilz *Saccharomyces cerevisiae*, nicht nachgewiesen werden.^[10,328] Folglich besteht die Beziehung zwischen Histon- und DNA-Methylierung nicht bei allen Organismen. Diese Erkenntnis wird dadurch gestützt, dass in der Fruchtfliege, *Drosophila melanogaster*, oder der Hefe *Schizosaccharomyces pombe* keine methylierten DNA-Regionen bekannt sind, aber dennoch Inaktivierung durch Histon-Methylierungen stattfindet.^[240] In diesen Organismen führen

Histon-Deacetylierung, nachfolgende Histon-Methylierung und Bindung eines repressiven Proteins, z. B. HP1,^[214, 215, 240, 258] zur Inaktivierung von Genen.

Die Kombination von vermehrter Histon- und DNA-Methylierung könnte auch bei weiblichen Wirbeltieren zur Inaktivierung von einer der zwei Kopien des X-Chromosoms genutzt werden.^[301]

Inhibitoren der DNA-Methylierung reaktivieren schnell die Expression von epigenetisch inaktivierte Genen, besonders wenn diese Inaktivierung auf einen pathologischen Zustand zurückgeht. Die DNA-Methylierungsinhibitoren 5-Azacytidin^[329] (5-aza-CR, **32**) und 5-Aza-2'-desoxycytidin^[330] (5-aza-CdR, **33**) induzieren die Genexpression und die Differenzierung in Zellkulturen.^[331, 332] Diese Aza-Nucleoside sind jedoch chemisch instabil, toxisch und nicht oral verabrechbar. Aus diesem Grund wurden stabiler Analoga entwickelt, z. B. 5-Fluor-2'-desoxycytidin^[333] (FCDR, **34**) und Zebularin^[334] (**35**; Abbildung 18).^[335]

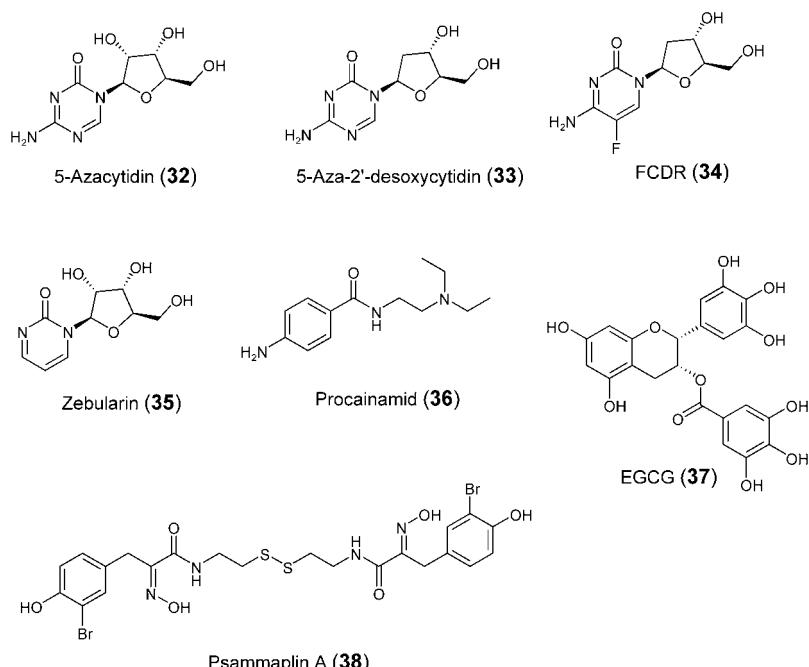


Abbildung 18. Strukturen von Inhibitoren der DNA-Methylierung: 5-Azacytidin (5-aza-CR, **32**), 5-Aza-2'-desoxycytidin (5-aza-CdR, **33**), 5-Fluor-2'-desoxycytidin (FCDR, **34**), Zebularin (**35**), Procainamid^[336] (**36**), Epigallocatechin^[337] (EGCG, **37**) und Psammaphlin A^[338] (**38**).

Da die epigenetische Inaktivierung mit der Histon-Deacetylierung in Verbindung steht, wurden Kombinationstherapien mit DNA-Methylierungs- und HDAC-Inhibitoren entwickelt, die bemerkenswerte Erfolge gegen Tumorzellen erzielten.^[339–343] Kürzlich zeigte eine Studie einen starken Synergismus zwischen 5-aza-CdR (**33**) und dem HDAC-Inhibitor Phenylbutyrat (**15**, Abbildung 8) bei Mäusen.^[344] Kombinationspräparate aus **33** und HDAC-Inhibitoren befinden sich bereits in der klinischen Prüfung (Abschnitt 2.2.1).^[16]

3.1.3. Histon-Methylierung und aktivierte Transkription (H3-K4, H3-K36, H3-K79)

Aktives Euchromatin kann an drei Positionen methyliert sein: H3-K4, H3-K36 und H3-K79; zudem scheint der Methylierungsgrad an H3-K4 eine entscheidende Rolle zu spielen.^[199]

Die H3-K4-Methylierung durch Set7/9 vermindert die Suv39h1-vermittelte H3-K9-spezifische Methylierung und wirkt so der Bildung von Heterochromatin entgegen (Abbildung 19).^[232b] Ebenso wird die Bindung des Histon-Deacetylase-NuRD-Repressorkomplexes (NuRD) (Abschnitt 2.2.1) an H3 durch die H3-K4-Methylierung ausgeschlossen.^[345] Die Dimethylierung von H3-K4 als globale epigenetische Markierung am Euchromatin vermittelt vielleicht diese generellen Mechanismen, wohingegen die Trimethylierung von H3-K4 mit der aktiven Transkription korreliert.^[228, 346]

Erstaunlicherweise wird H3-K4 von SET7/9 nur monomethyliert,^[224, 225] wohingegen ySET1 ausschließlich die Di- oder Trimethylierung katalysiert.^[228] So steht die H3-K4-Methylierung im Zusammenhang mit Euchromatin und einer aktivierte Transkription.^[347, 348] Dies wird durch Acetylierungen an H3-K9 unterstützt. Weiterhin ist die Methylierung von H3-K4 evolutionär hoch konserviert, und in Heterochromatinregionen wurden bisher noch keine H3-K4-Methylierungen nachgewiesen.^[349, 350]

Ebenso scheint auch die H3-K79-Methylierung durch Dot1 die Bildung von Heterochromatin zu verhindern,^[250] an der die Sirtuine beteiligt sind (Abschnitt 2.2.2).^[227, 252] Umgekehrt blockiert die Sir-Bindung die Dot1-vermittelte H3-K79-Methylierung.^[250, 252]

Die mRNA-Synthese in eukaryontischen Organismen ist ein biologischer Schlüsselprozess, der einer komplexen Regulation unterliegt. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass die Histon-Methylierung an H3-K4, H3-K36 und H3-K79 durch spezifische HKMTs funktionell mit der RNA-Polymerase II (RNAP II) und der RNA-Elongation in Verbindung steht.^[351–355]

Es scheint erwiesen, dass die H3-K4- und die H3-K9-Methylierung gegensätzliche biologische Wirkungen haben, jedoch wurden auch HKMTs beschrieben, die sowohl H3-K4 als auch H3-K9 methylieren, z. B. eine gekürzte Form der *Drosophila*-HKMT

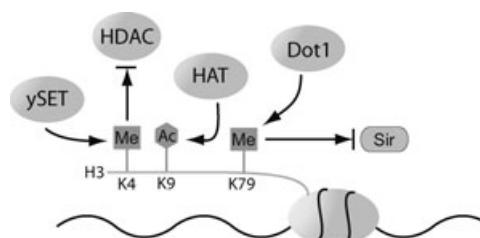


Abbildung 19. Histon-Methylierung und aktivierte Transkription: Sowohl die H3-K4-Methylierung als auch die H3-K9-Acetylierung stehen für eine aktive Transkription. Ebenso blockiert die Dot1-vermittelte H3-K79-Methylierung die Sir-vermittelte Genrepression.

Ash1.^[231a,232a] Diese besondere Art der doppelten Methylierung wird mit der Aktivierung von Genen in Verbindung gebracht, die normalerweise einer Repression unterliegen.^[199] Weitere Untersuchungen müssen folgen, um dieses ungewöhnliche Methylierungsmuster zu erklären.

3.2. Histon-Arginin-Methyltransferasen (HRMTs)

Methylierungen von Argininresten finden an den Histonen H3 (R2, R17, R26) und H4 (R3) statt. An ihrer Guanidino-Funktion können Argininreste entweder mono- oder dimethyliert werden (Abbildung 20). Zwei Hauptenzymklassen werden unterschieden: Typ-I-Enzyme katalysieren die asymmetrische Bildung von ω - $N^G,N^{G'}$ -Dimethylargininresten, während Typ-II-Enzyme symmetrische ω - N^G,N^G -Dimethylargininreste bilden.

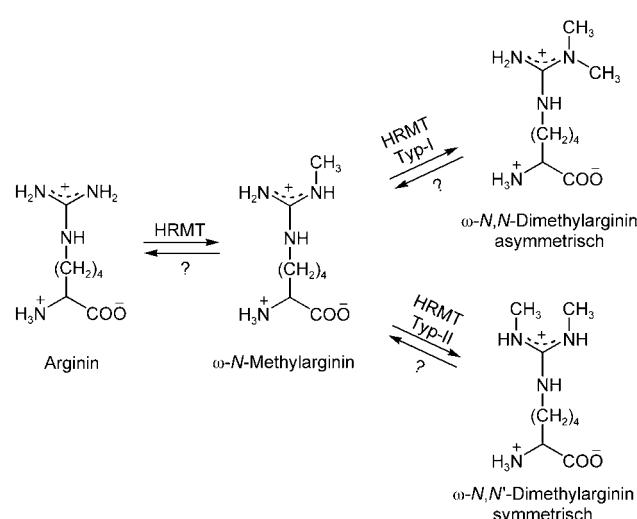


Abbildung 20. Die Stufen der Arginin-Methylierung. HRMT: Histon-Arginin-Methyltransferase; ?: unbekannter Demethylierungsmechanismus.

Bisher sind 7 Protein-Arginin-Methyltransferasen (PRMTs) bei Säugern bekannt, die alle über eine hoch konservierte katalytische Domäne verfügen (Tabelle 3). Bei *Drosophila* sind 9 *Drosophila*-Arginin-Methyltransferasen (DART) identifiziert worden.

Im Unterschied zu Histon-Lysin-Methyltransferasen enthalten HRMTs außer der katalytischen nur wenige weitere Domänen. So verfügt PRMT3 über eine Zinkfingerstruktur

Tabelle 3: Bekannte Histon-Arginin-Methyltransferasen (HRMTs).^{[200][a]}

HRMT	Spezifität	Art der Methylierung
PRMT1 ^[363–365]	H4-R3	asymmetrisch
PRMT4/CARM1 ^[366,367]	H3-R2, H3-R17, H3-R26	asymmetrisch
PRMT5/JBP1 ^[368,369]	H2A, H4	symmetrisch

[a] PRMT2 wurde bisher nicht als Enzym nachgewiesen,^[8,356] PRMT3,^[357–359] 6,^[360] 7,^[361,362] sind nicht als HRMTs bekannt. PRMT: Protein-Arginin-N-Methyltransferase, CARM: Coaktivator-assoziierte Arginin-Methyltransferase, JBP: Janus-Kinase-Bindungsprotein.

und PRMT2 über eine SH3-Domäne, die wahrscheinlich die Substratspezifität steuert.^[200]

Nicht nur Histone können an Argininresten methyliert werden, sondern auch andere Proteine,^[356] die mit der Signaltransduktion,^[370–373] dem mRNA-Spleißen,^[374,375] dem RNA-Transport^[376–378] oder mit Protein-Protein-Wechselwirkungen^[379] in Verbindung stehen.

Weiterhin wurde die In-vivo-Methylierung von Argininresten der HAT CBP/p300 durch PRMT4/CARM1 beschrieben. Diese Modifikation verhindert die Assoziation von CBP/p300 mit dem Transkriptionsfaktor CREB und beeinflusst somit die Regulation der Transkription (Kapitel 2.1.2.).^[109]

Die Arginin-Methyltransferase CARM1/PRMT4 methyliert spezifisch H3-R2, H3-R17 und H3-R26 in vitro und ist ein Coaktivator von nuclearen Rezeptoren.^[366,367,380] PRMT1 methyliert H4-R3 in vivo,^[364,381] jedoch wurden die entsprechenden Promotoren noch nicht identifiziert. PRMT5 zeigt eine Präferenz für H2A und H4 in vitro, aber der genaue Ort der Methylierung ist unbekannt.^[200] Es wurde ebenfalls berichtet, dass die H4-R3-Methylierung eine nachfolgende Acetylierung von H4 verstärkt.^[381]

Die Arginin-Methylierung repräsentiert damit genauso wie die Histon-Acetylierung eine Histonmodifikation, die zu einer aktivierte Transkription führt.

Im Jahre 2004 konnte der erste Arginin-Methyltransferase-Inhibitor, AMI-1 (39), identifiziert werden, der die Histon-Lysin-Methylierung nicht beeinflusst (Abbildung 21).^[382]

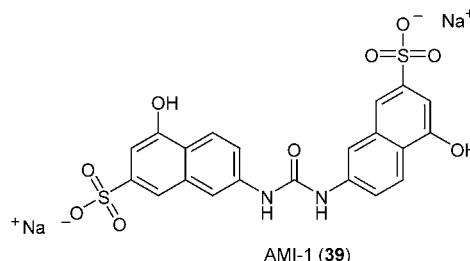


Abbildung 21. Struktur des spezifischen PRMT-Inhibitors AMI-1 (39).

Zudem ist AMI-1 zellgängig und scheint mit der Substrat-bindungstasche der HRMT wechselzuwirken. Kürzlich wurde AMI-1 auch als selektiver Inhibitor der reversen Transkriptase von HIV-1 identifiziert; diese Studie zeigte auch, dass AMI-1 keine Zelltoxizität aufweist.^[383]

In diesem Zusammenhang wurden acht weitere Inhibitoren und zwei Aktivatoren der PRMTs identifiziert, die jedoch unterschiedliche Selektivitäten für die PRMT-Isoformen und die HKMTs zeigen.^[382]

3.3. Histon-Demethylierung

Da die repressive Histon-Methylierung sowohl bei Heterochromatin, als auch bei Euchromatin auftritt, stellt sich zwangsläufig die Frage nach der Stabilität der Methylmarkierung. Unter thermodynamischen Gesichtspunkten ist diese Modifikation stabiler als Acetyl- und Phosphorylmar-

kierungen, die durch HDACs bzw. Phosphatasen (PP) spaltbar und damit reversibel sind. Aktive Histon-Demethylasen (HDMAsen) sind bisher zwar nicht bekannt, im Jahr 2002 wurde aber eine HAT mit einer N-terminalen Domäne identifiziert, die Homologien zu der katalytischen Domäne von radikalisch reagierenden S-Adenosylmethionin-abhängigen Enzymen aufweist. Auf dieser Grundlage wurde eine radikalische Demethylase-Aktivität postuliert.^[384] Auch weitere demethylierende Enzyme sind bekannt.^[385–387] Bei all diesen enzymvermittelten Reaktionen wird Formaldehyd gebildet, sodass die Demethylierung über einen oxidativen Mechanismus verlaufen könnte.^[388]

Weiterhin könnten wiederholte Zyklen der DNA-Replikation langsam die Histon-Methylierung abschwächen.^[10,207] Als alternativer Mechanismus käme der Ersatz von modifizierten Histonen durch eine nicht modifizierte Histon-Version infrage, z.B. durch Histon-Varianten.^[389] Ein weiterer potenzieller Demethylierungsmechanismus wäre die proteolytische Spaltung der Histon-Aminotermi, wie sie z.B. von *Tetrahymena* bekannt ist.^[10,201] Auch die Ubiquitynylierung könnte an der Histon-Demethylierung beteiligt sein.^[10,390]

Kürzlich wurde eine Demethylierung von Argininresten in Histonen beschrieben. Die Peptidylarginin-Deiminase 4 (PAD4/PADI4)^[391] katalysiert in vitro und in vivo die Umwandlung entsprechender nicht- und monomethylierter Argininreste zu Citrullin-Derivaten; dimethylierte Argininreste werden von PAD4/PADI4 nicht umgewandelt. Es wird untersucht, ob die Citrullin-Histone einen Effekt auf die Chromatinstruktur haben oder von anderen Proteinen erkannt und gebunden werden.^[392–394]

Bisher ist kein spezifischer Demethylierungsmechanismus für Lysinreste in Histonen nachgewiesen worden, und weitere Untersuchungen müssen folgen.

4. Die Histon-Phosphorylierung

Die Histon-Phosphorylierung wurde bereits in den 60er Jahren beschrieben.^[395] Seit dieser Zeit sind Phosphorylierungen an allen Histonen nachgewiesen worden, und wichtige Phosphorylierungsstellen wie H3-S10 und H3-S28 wurden identifiziert. Diese sind sowohl im Verlauf des Zellzyklus während der Mitose^[396,397] oder Meiose, als auch bei der Aktivierung von Genen während der Interphase beteiligt, obwohl beiden Mechanismen eine gegensätzliche Veränderung der Chromatinstruktur zugrunde liegt. Alle phosphorylierbaren Serinreste scheinen sich in einer hoch konservierten Aminosäuresequenz Ala-Arg-Lys-Ser (ARKS) zu befinden.^[398]

4.1. H3-Phosphorylierung in der Mitose und Meiose

Die H3-S10-Phosphorylierung wurde in Zusammenhang mit der Chromosomenkondensation und der Zellteilung während der Mitose und Meiose beschrieben.^[6,397] Auch H3-S28^[399] und H3-T11^[400] wurden als mitosespezifische Phosphorylierungsstellen identifiziert, bislang ist allerdings unklar, ob diese Modifikationen miteinander in Verbindung stehen.

Bei Säugern^[401] und in *T. thermophila*^[396] ist die Histon-Phosphorylierung eng mit der Chromosomenkondensation verknüpft.

Die H3-S10-Phosphorylierung beginnt in der späten G2/M-Phase an pericentrischem Heterochromatin und breitet sich bis zum Ende der Prophase über das Genom aus.^[402,403] Auf diesen Vorgang folgt eine allgemeine Dephosphorylierung während der Zellteilung zur Telophase.^[397]

Die mitotische Phosphorylierung von H3-S10 bewirken Mitglieder der Aurora-Kinase-Familie: Ipl1-Kinase in Hefe und Nematoden,^[404] Aurora B in *Drosophila*^[405] sowie Aurora B (und A) in Säugern.^[406] Aurora B ist auch an der mitotischen Phosphorylierung von H3-S28 beteiligt^[407] und wird eher als H3-S10-Kinase angesehen, weil ihre subzelluläre Lokalisation^[408] hierzu besser geeignet scheint als die von Aurora A, einem centrosomalen Protein.^[409] Diese Kinasen sind auch mit der Rekrutierung des Condensin-Komplexes und dem Zusammenbau des mitotischen Spindelapparats mit der H3-Phosphorylierung verknüpft.^[405]

Die Einstellung des Phosphorylierungsgrads und die ordnungsgemäße Chromosomenkondensation während der Zellteilung hängt mit Typ-1-Phosphatasen (PP1) zusammen.^[404,410–412]

Eine Reihe von Daten sprechen allerdings gegen eine Beteiligung der H3-Phosphorylierung an Mitose/Meiose,^[413–416] und diese Rolle wird zunehmend kontrovers diskutiert.^[417] Eventuell wirkt die H3-Phosphorylierung nicht direkt auf die Chromosomenkondensation, sondern indirekt auf die komplexen Mechanismen des Chromosomenumbaus.^[417]

4.2. H3-Phosphorylierung während der Transkription

Bei Säugern wurde die Histon-Phosphorylierung mit der Aktivierung von „immediate early response“ (IER)-Genen wie *c-fos*-, *c-myc*- und *c-jun* während der Interphase^[417] in Verbindung gebracht.^[418–420] Diese Gene sind direkt mit den intrazellulären Signalkaskaden verknüpft und benötigen keine neue Proteinsynthese.^[398] Eine solche stimulationsabhängige H3-Phosphorylierung ist schnell, vorübergehend und betrifft nicht das gesamte Genom, sondern nur eine bestimmte Gruppe von Genen. Zusätzlich sind diese phosphorylierten H3-Histone empfindlich gegenüber einer Überacetylierung,^[421] wodurch beide Modifikationen bei der Aktivierung der Transkription durch die MAP-Kinase-Signalkaskade verknüpft werden.^[422–424] Somit sind es bei der MAP-Kinase-Signalkaskade^[425] nicht nur Transkriptionsfaktoren oder Coaktivatoren der entsprechenden Gene, die phosphoryliert werden, sondern auch das Histon H3. Andere Signalkaskaden könnten jedoch auch bei der Aktivierung von IER-Genen involviert sein, wie die „Janus-Kinase/signal transducer and activator of transcription“ (JAK/STAT)^[426] oder der nucleare Faktor κB (NF-κB).^[427] Untersuchungen mit Inhibitoren, unter anderem auch mit relativ spezifischen MAP-Kinase-Inhibitoren, konnten zeigen, dass bei Säugern die H3-Phosphorylierung je nach Stimulus durch den ERK- oder p38-MAP-Kinase-Signalweg vermittelt wird, nicht aber durch den JNK/SAPK-Signalweg.^[423,424,428,429]

Obwohl diese beiden Signalwege an der Phosphorylierung beteiligt sind, wird die Phosphorylierung der Histone von „Downstream“-Kinassen vermittelt und nicht von der MAP-Kinase. Hierbei könnten die Kinassen der RSK-[430–432] und MSK-Familien^[428,433,434] eine Rolle spielen,^[398] jedoch scheint die MSK-Kinase-Familie die H3-Kinassen zu stellen.^[398,434,435] MSK1 und MSK2 sind im Zellkern lokalisiert und durch den ERK- oder p38-Signalweg aktivierbar (Abbildung 22).^[436] In-vitro-Studien haben gezeigt, dass MSK1 das Histon H3 effizienter phosphoryliert als RSK1/2.^[398] Mutationen in Gensequenzen, die RSK2 codieren, führen zum Coffin-Lowry-Syndrom, dessen Krankheitsbild dem Rubinstein-Taybi-Syndrom entspricht (Abschnitt 2.1).^[437,438]

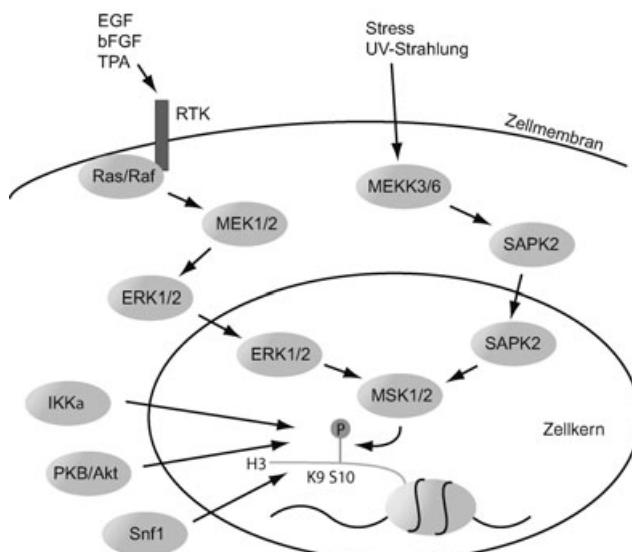


Abbildung 22. Signalwege, die zur H3-S10-Phosphorylierung und nachfolgender Genexpression führen: Die Aktivierung der MAP-Kinase-Kaskade oder der p38-Kaskade durch Mitogene, Wachstumsfaktoren, Stress oder UV-Strahlung führt zur Aktivierung von MSK1/2-Kinasen, die H3-S10 phosphorylieren und Gene wie *c-fos* oder *c-jun* aktivieren. Auch die Aktivierung von IKK- α , PKB/Akt oder Snf1 führt zur H3-S10-Phosphorylierung. EGF: epidermaler Wachstumsfaktor; ERK: extrazelluläre signalregulierte Kinase, FGF: Fibroblasten-Wachstumsfaktor, IKK α : IKB-Kinase α , MEK: Mitogen-aktivierte Proteinkinase/ERK Kinase, MEKK: MEK Kinase, MSK: Mitogen- und Stress-aktivierte Kinase, PKB: Proteinkinase B, Raf: ras-aktivierter Faktor, Ras: Rattensarkom, RKT: Rezeptor-Tyrosin-Kinase, SAPK: Stress-aktivierte Proteinkinase, Snf1: sucrose non-fermented 1, TPA: 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat.

Andere Histon-Kinasen wie Snf1,^[12] PKB/Akt^[439,440] oder die IKB-Kinase α (IKK- α)^[441,442] sind ebenfalls mit der Transkription verknüpft.

Auch über die stimulationsabhängige MAP-Kinase-vermittelte Phosphorylierung von H3-S28 wurde berichtet.^[434,443,444] Jedoch konnte noch kein konkreter Zusammenhang zwischen der H3-S28-Phosphorylierung und der Transkription nachgewiesen werden.^[398]

H3-S10 ist in einer Region lokalisiert, die auch das Ziel von anderen Modifikationen ist. So können H3-K9 und H3-K14 acetyliert werden, was normalerweise eine aktivierte Transkription kennzeichnet. Die H3-K9-Methylierung kann

hingegen zur Bildung von Heterochromatin und zur Inaktivierung von Genen führen. In-vitro- und In-vivo-Experimente unterstützen diese Vermutung der gegenseitigen Beeinflussung (Abschnitt 1.1).^[445]

4.3. Phosphorylierung und Acetylierung

Sowohl die Phosphorylierung als auch die Acetylierung von Histonen sind mit der Transkription verknüpft. Durch Antikörper-Experimente konnte nachgewiesen werden, dass die doppelt modifizierte H3-Isoform in vivo existiert.^[275,446] Wie sich die beiden Modifikationen gegenseitig beeinflussen, ist noch nicht abschließend geklärt. Zwei Modelle werden diskutiert: das synergistische und das parallel-unabhängige Modell.

4.3.1. Das synergistische Modell

In-vitro-Experimente belegen, dass die HAT yGcn5 bevorzugt an phosphoryliertes H3-S10 bindet.^[275,446,447] Die Kristallstruktur von Gcn5 aus Hefe^[447] und *Tetrahymena*^[96] mit phosphoryliertem Histon H3, indizierte die essenziellen Aminosäurewechselwirkungen. Hierbei zeigt yGcn5 eine sechs- bis zehnfach höhere Substratspezifität für phosphoryliertes H3-S10^[275,447] als Folge eines erhöhten K_M -Werts bei nahezu unverändertem k_{kat} . Die H3-S10-Phosphorylierung verbessert also eher die Bindung als den katalytischen Umsatz des Enzyms yGcn5.

Auch Promotoren von MAP-Kinase-aktivierten Genen wie *c-fos* weisen acetylierte und phosphorylierte H3-Histone auf.^[275] Beide Modifikationen könnten einen synergistischen Mechanismus bilden, wobei der MAP-Kinase-Signalweg zur Phosphorylierung von H3-S10 führt. Dieser phosphorylierte Serinrest wird von Gcn5 bevorzugt gebunden, die daraufhin durch Acetylierung von H3-K14 die Transkription aktiviert (Abbildung 23).^[447]

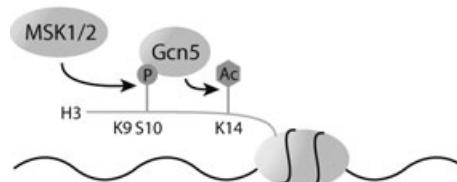


Abbildung 23. Synergistisches Modell: Die H3-S10-Phosphorylierung durch die Kinase MSK1/2 erzeugt eine Bindungsstelle für die Histon-Acetyltransferase Gcn5. Nach der Bindung wird H3-K14 acetyliert, was zur Genaktivierung führt.

Chromatin-Immunpräzipitationsexperimente (ChIP) zeigen hingegen für eine Vielzahl von Hefe-Promotoren, dass yGcn5 mit Ausnahme von K14 alle Positionen an H3 acetylieren kann.^[448] Weiterhin bevorzugt Gcn5 im nativen SAGA-Komplex (Abschnitt 2.1) phosphoryliertes H3 nicht gegenüber nicht phosphoryliertem H3.^[449] Ein Grund für diese Diskrepanz könnte darin liegen, dass andere Untereinheiten des SAGA-Komplexes die Bindung an H3 vermitteln.

4.3.2. Das parallel-unabhängige Modell

Die Stimulierung von Mausfibroblasten mit EGF führt zur Phosphorylierung und Acetylierung von H3; die Modifikationen werden jedoch unabhängig voneinander übertragen.^[446] Daher muss die H3-S10-Phosphorylierung nicht zwangsläufig ein Signal für die folgende Acetylierung von K14 sein. Die Analyse der Induktion von *c-jun*-Genen bestätigt dieses Ergebnis.^[450] Die MAP-Kinase-abhängige H3-Phosphorylierung konnte ebenfalls an aktiven, bereits acetylierten Regionen der Genexpression nachgewiesen werden. Weiterhin ist die Acetylierung ein dynamischer Prozess, der auf einem Gleichgewicht zwischen HATs und HDACs beruht (Abbildung 24).^[450]

Außerdem führen die Mutation der MSK-Kinasen oder die Inhibition der MSK1/2 zu verringerter Phosphorylierung, jedoch nicht zu einem nachweisbaren Abfall der Acetylierung, sodass beide Ereignisse nicht miteinander verbunden zu sein scheinen.^[434, 451, 452] All dies stützt das Modell, dass eine Histonmodifikation nicht notwendigerweise zu weiteren Modifikationen führt.

Die genomweite Verteilung der H3-K14-Acetylierung und die H3-S10-Phosphorylierung nach einem Hitzeschock wurde in *Drosophila* analysiert.^[453] Thermaler Stress führt normalerweise zur globalen Inaktivierung der Transkription und zur Induktion derjenigen Gene, die beim Hitzeschock involviert sind.^[454, 455] Hierbei bleibt die Verteilung der acetylierten Histonreste von H3 und H4 gleich, die Verteilung der H3-S10-Phosphorylierung ändert sich jedoch drastisch: Sie wird nur noch in den Regionen nachgewiesen, die an der Transkription von Hitzeschock-Genen beteiligt sind. Die Kinase dieser H3-S10-Phosphorylierung ist bisher noch nicht identifiziert worden, ein Kandidat wäre aber Jil-1, eine Tandemkinase, die Ähnlichkeiten zu humanen MSK-Kinasen aufweist.^[456–458]

Diese Ergebnisse zeigen, dass bei *Drosophila* die Histon-Phosphorylierung dynamisch schwanken kann und dass die Präsenz von acetylierten Histonen nicht notwendigerweise Regionen aktiver Gentranskription kennzeichnet.^[459]

4.4. Phosphorylierung und Methylierung

Wie können Zellen von einer repressiven Modifikation wie der H3-K9-Methylierung zu einer aktiveren Transkription gelangen? Die „Hypothese des binären Schalters“ geht von der Beobachtung aus, dass viele repressive Methylierungen an H3 benachbart zu Serin- oder Threoninresten erfolgen.^[445] Das Konzept postuliert daher, dass die Phosphorylierung die Bindung von repressiven Proteinen blockiert, die normalerweise Histon-Methylierungen erkennen. Untermauert wird dies durch die *in vivo* nachgewiesene Coexistenz von Phosphorylierung und Methylierung in HeLa-Zellen.^[445] So könnte die Phosphorylierung an H3-S10 die kinetisch kontrollierte Bindung von HP1 an H3-K9^[260, 460] verhindern und andere Enzyme zulassen, z. B. HATs, die durch Acetylierung an anderen Stellen den

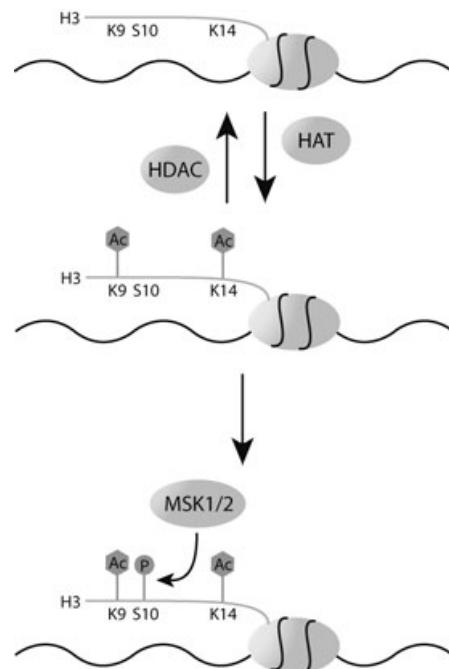


Abbildung 24. Parallel-unabhängiges Modell: Histon-Acetyltransferasen (HATs) und Histon-Deacetylasen (HDACs) stellen ein Gleichgewicht bezüglich der Acetylierung von H3-K9 und H3-K14 ein. Eine MSK1/2-Kinase phosphoryliert das bereits diacetylierte Histon H3 und aktiviert dadurch die Gentranskription.

repressiven Zustand überschreiten. Durch die dynamische Dephosphorylierung kann aber schnell der repressive Zustand wiederhergestellt werden (Abbildung 25). Alternativ könnte die Phosphorylierung Bindungsstellen für andere Enzyme schaffen, z. B. bisher nicht bekannte Histon-Demethylasen, die H3-K9 demethylieren und damit für eine Acetylierung zugänglich machen.

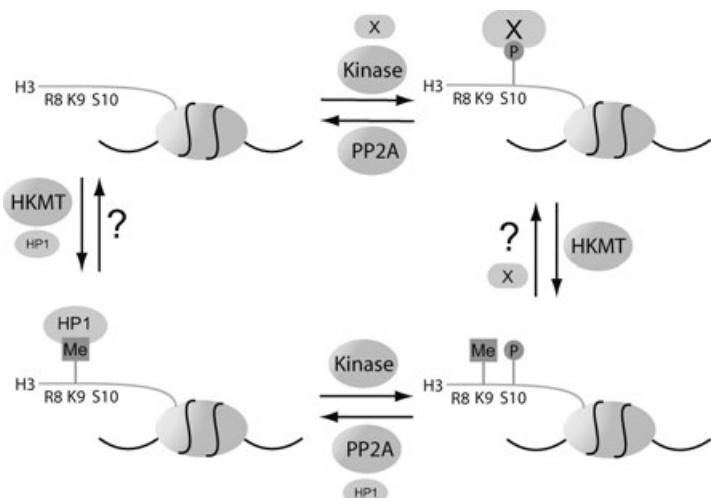


Abbildung 25. „Hypothese des binären Schalters“: Posttranskriptionale Histonmodifizierung führt zur Bindung der Effektorproteine HP1 oder X. Zusätzliche Modifikationen in der Nähe, z. B. H3-K9-Methylierung durch eine Histon-Lysin-Methyltransferase (HKMT), verdrängen diese Effektorproteine und heben ihre biologische Wirkung auf. PP2A: Protein-Phosphatase Typ 2A, ?: unbekannter Demethylierungsmechanismus, X: theoretisches Bindungsprotein für Phosphorylierungen.

Sollte sich dieses Konzept als korrekt erweisen, so könnten weitere Kombinationen von Modifikationen, z.B. Acetylierung/Phosphorylierung oder Ubiquitinylierung/Phosphorylierung, das Leseraster des Histon-Codes ausbauen.

4.5. Histon-Dephosphorylierung

Das Vorhandensein von Kinase-Phosphatase-Paaren, die den Phosphorylierungsgrad während der Mitose regulieren, führte zu der Vermutung, dass ähnliche Mechanismen auch bei der Transkription vorherrschen.

Nach einem Hitzeschock wird bei *Drosophila* die Induktion von Hitzeschock-Genen durch die De-novo-Phosphorylierung von H3-S10 begleitet, während diese Modifikation im restlichen Genom verschwindet. Die Behandlung von Zellen mit Phosphatase-Typ-2(PP2A)-Inhibitoren oder Mutationen von PP2A-Genen verringern die H3-Dephosphorylierung. Die Genexpression während des Hitzeschocks hängt demnach vom Phosphorylierungsgrad des Histons H3 ab, der durch eine Änderung in der PP2A-Aktivität reguliert sein könnte.^[461]

5. Die Ubiquitinylierung von Histonen

Ubiquitin (Ub) ist ein hoch konserviertes Protein aus 76 Aminosäureeinheiten, dessen Name auf seine verbreitete Präsenz in allen eukaryontischen Zellen hindeutet.^[462] Die kovalente Anheftung von Ubiquitin an andere Proteine wurde bereits vor etwa 30 Jahren am Beispiel der Histone entdeckt,^[463] aber der genaue Zweck dieser Modifikation wird immer noch diskutiert. Meist dient die Ubiquitinylierung als Markierung zum proteolytischen, ATP-abhängigen Abbau von Proteinen durch das Proteasom.^[464] Hierzu werden durch eine Kaskade von drei enzymatischen Schritten mehrere Ubiquitin-Einheiten auf das entsprechende Protein übertragen.^[465] Das Ubiquitin-aktivierende Enzym E1 bindet den C-Terminus des Ubiquitins unter ATP-Hydrolyse in Form eines reaktiven Thioesters und katalysiert anschließend in einer Umesterung die Übertragung des aktivierte Ubiquitins auf das Ubiquitin-konjugierende Enzym E2. Unter Bildung einer Isopeptidbindung transferiert die Ubiquitin-Ligase E3 dann das Ubiquitin von E2 auf die ε-Aminofunktion eines Zielproteins. Da Ubiquitin mit Lys48 selbst über einen internen Lysinrest verfügt, wiederholt sich die katalytische Kaskade und mehrere Ubiquitin-Einheiten werden als Kette hintereinander an das Zielprotein gebunden.^[466]

Inzwischen gibt es zahlreiche Hinweise dafür, dass die Ubiquitinylierung mehr als nur eine Markierung zum Abbau überflüssig gewordener Proteine darstellt und, in Anlehnung an die Phosphorylierung, als Signal für unterschiedliche zelluläre Prozesse fungiert.^[467,468] So spielt sie bei Zellzyklusregulation, Transkription und Signaltransduktion, DNA-Reparatur, Endozytose, Apoptose sowie Immunantwort eine wichtige Rolle.^[468] Für ihre Arbeiten zur Ubiquitinylierung erhielten Ciechanover, Hershko und Rose im Jahr 2004 den Chemie-Nobelpreis.

Das Histonprotein H2B wird in der C-terminalen Region am hoch konservierten Lysinrest 123 monoubiquityliert.^[469,470] Diese Modifikation führt allerdings nicht zum Abbau des Proteins, sondern stellt möglicherweise einen weiteren Buchstaben im Alphabet des Histon-Codes dar.^[471] Die Einführung des Ubiquitins erfolgt in Anlehnung an die bereits beschriebene Enzymkaskade: Hierbei dienen sowohl Rad6 als auch Ubc2 als Ubiquitin-konjugierende Enzyme E2,^[472] während Bre1 die Aufgabe der Ubiquitin-Ligase E3 übernimmt.^[473–476] Außerdem steht mit dem PAF-Komplex ein weiterer Faktor mit der H2B-Ubiquitinylierung in Verbindung.^[477] Rad6 (E2) wird demnach durch Bre1 (E3) an eine spezifische Promotorregion rekrutiert, während der PAF-Komplex dort die Aktivität von Rad6 bei der Monoubiquitinylierung von H2B steuert.^[478]

Obwohl noch nicht geklärt ist, welche Informationen die Histon-Ubiquitinylierung vermittelt, sollte diese Modifikation einen Platz innerhalb des Histon-Codes einnehmen. In Analogie zur Acetylierung ist sie ein dynamischer Prozess^[479–482] und in Hefe sind inzwischen 17 Ubiquitin-Hydrolyasen (UBPs) bekannt.^[483] Ubp8 steht als stöchiometrische Untereinheit des SAGA-HAT-Komplexes^[484] schon rein formal mit anderen histonmodifizierenden Enzymen in Verbindung.

Kürzlich konnte ein Zusammenhang zwischen der Ubiquitinylierung von H2B und der Methylierung von H3 gezeigt werden: Eine Deletion des RAD6-Gens oder eine entsprechende Mutation an der H2B-Ubiquitinylierungsposition verhindert die durch Set1 und Dot1 katalysierte Methylierung von H3-K4 und H3-K79.^[227,229a,b,252,388,485–488] Das ubiquitinylierte Histon könnte von den HMTs über eine von zahlreichen anderen Faktoren bekannte Ubiquitin-bindende Domäne^[489–491] angelagert werden. Einem weiteren gemeinsamen Element begegnet man im PAF-Komplex, der nicht nur für die H2B-Ubiquitinylierung notwendig ist, sondern auch die H3-K4- und H3-K79-Methylierung beeinflusst.^[352] Erst wenn der PAF-Komplex Rad6-Bre1 dazu aktiviert, H2B zu monoubiquitinieren, können die entsprechenden Lysinseitenketten methyliert werden.^[352] Entsprechend reguliert die Ubiquitinylierung von H2B die Methylierung an H3-K4 und H3-K79 und leistet einen Beitrag zur Erhaltung der aktiven Transkription an Euchromatin (Abbildung 26).

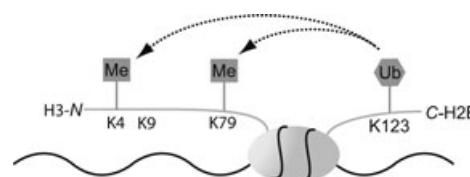


Abbildung 26. Einfluss der Ubiquitinylierung an H2B-K123 auf die Histon-Methylierung an H3-K4 und H3-K79.

6. Die Sumoylierung von Histonen

Die Abkürzung SUMO (small ubiquitin-related modifier) bezeichnet eine Gruppe von kleinen Proteinen, die dem Ubiquitin hinsichtlich ihrer Sekundärstruktur und Tertiärstruktur ähnlich sind.^[492] Auch der Mechanismus der Anhef-

tung an die Zielproteine ist gleich: Ein SUMO-aktivierendes Enzym E1 (SAE1/SAE2) bindet SUMO unter ATP-Hydrolyse in Form eines reaktiven Thioesters, der anschließend durch Umesterung auf das SUMO-konjugierende Enzym E2 (Ubc9) transferiert wird und, möglicherweise über eine entsprechende Ligase E3, auf die ε-Aminofunktion eines Lysinrests übertragen werden kann.^[493]

Ein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Proteinen besteht neben der mit 18% relativ geringen Sequenzhomologie und der daraus resultierenden völlig verschiedenen Oberflächenladungsverteilung vor allem darin, dass die Sumoylierung die Proteine nicht für einen Abbau markiert.^[494] Zu der Vielzahl von sumoylierten Proteinen^[495] gehört neben p53 auch das Histon H4, das jedoch nicht an der sonst üblichen Konsensussequenz γ-Lys-X-Glu modifiziert wird (γ : große hydrophobe Aminosäure, X: beliebige Aminosäure).

Während die Ubiquitylierung von Histonen im Allgemeinen mit aktiven Chromatinzuständen in Zusammenhang gebracht wird, gibt es zunehmend Hinweise darauf, dass die Sumoylierung einen gegenteiligen Effekt haben könnte.^[496] So wird die Expressionsrate eines Reporters durch das SUMO-konjugierende Enzym Ubc9 gesenkt. Gleichzeitig ist eine Abnahme der Acetylierung von H3 und eine deutliche Zunahme von HP1 zu beobachten.^[496] Aus diesen Ergebnissen lässt sich ein Modell für die Wirkungsweise der Sumoylierung entwickeln.^[497] So steigt mit einem zunehmenden Acetylierungsgrad der Histone auch die Sumoylierung von H4 an. Letzteres ist als Signal für die Beendigung der durch die Acetylierung eingeleiteten Genexpression zu deuten: Die Rekrutierung einer HDAC ermöglicht die Methylierung der ursprünglich acetylierten Position und damit letztlich die Bindung des Repressorproteins HP1. Inwieweit dabei der Histon-Sumoylierung eine tragende Rolle zukommt, muss noch geklärt werden. Einige Ergebnisse sprechen für eine indirekte Beeinflussung: So wird im Fall von p300/CREB die Acetyltransferase selbst sumoyliert und dadurch zur Bindung von HDAC6 befähigt.^[110] Ähnliches gilt für den Transkriptionsfaktor Elk-1, dessen Sumoylierung ebenfalls die Rekrutierung einer HDAC-Aktivität an den Elk-1-Promotor bewirkt und über die abnehmende Histon-Acetylierung zur Repression der Transkription führt.^[498]

7. Die Poly-ADP-Ribosylierung von Histonen

Wie zahlreiche andere Proteine auch, können Histone durch die aufeinander folgende Anheftung anionischer ADP-Ribose-Monomer-Einheiten unter Bildung von Poly(ADP-Ribose)-Ketten (PAR) modifiziert werden (Abbildung 27).^[499] In Säugerzellen stehen hierfür insgesamt sieben Poly(ADP-Ribose)-Polymerasen (PARPs) zur Verfügung, unter denen PARP-1 vorzugsweise exprimiert wird.^[500]

Mechanistisch gesehen katalysiert das Enzym den Transfer von ADP-Ribose-Einheiten vom Donor NAD⁺ auf ein Acceptorprotein.^[501] Die erste Einheit wird über eine Esterbindung an die Carboxyfunktion von Glutaminsäure- oder Asparaginsäureresten gehetet, während die weiteren Einheiten zur Verlängerung der Kette glykosidisch an den jeweils letzten Ribosering gebunden werden. Auf diesem Wege entstehen lineare sowie verzweigte Polymere aus bis zu 200 Monomeren. Das Gen für PARP-1 ist hoch konserviert und codiert für eine aminotermrale Doppelzinkfinger-DNA-Bindungsdomäne, eine zentrale Automodifikationsdomäne sowie eine C-terminale NAD⁺-Bindungsdomäne.^[502]

PARP-1 reagiert analog zu den Sirtuinen im Sinne einer NAD⁺-Abhängigkeit auf den physiologischen Zustand der Zelle. Weiterhin unterliegt seine Aktivität einer allosterischen Regulation.^[503] Die Bindung an DNA, vor allem an geschädigte DNA, erhöht die Enzymaktivität, wobei PARP-1 zwei DNA-Helices gleichzeitig binden kann und sich möglicherweise gerade an die Stellen heftet, an denen die DNA aus dem Nucleosom heraustritt. Zu einer Aktivitätserhöhung kann es auch durch die Wechselwirkung mit DNA-bindenden Transkriptionsfaktoren an der Automodifikationsdomäne kommen; dies trifft beispielsweise für YY1 zu.^[504] Umgekehrt führt eine Automodifikation in diesem Bereich zur Inhibition der DNA-Bindung von PARP-1 und der ADP-Ribosyltransferase-Aktivität.^[503]

Im Fall der Histone hat die Modifikation eine Veränderung der geordneten Chromatinstruktur zur Folge: PARP-1 führt über die ADP-Ribosylierung von H1 und H2B^[505] zur Dekondensation des Chromatins und aktiviert damit die Genexpression. Deutlich zeigt sich dies anhand von einigen hoch induzierbaren Genen.^[506] So ist die Expression von Hitzeschock-Proteinen und induzierbaren Immungenen in hohem Maß von PARP-1 abhängig. Umgekehrt ist PARP-1 in

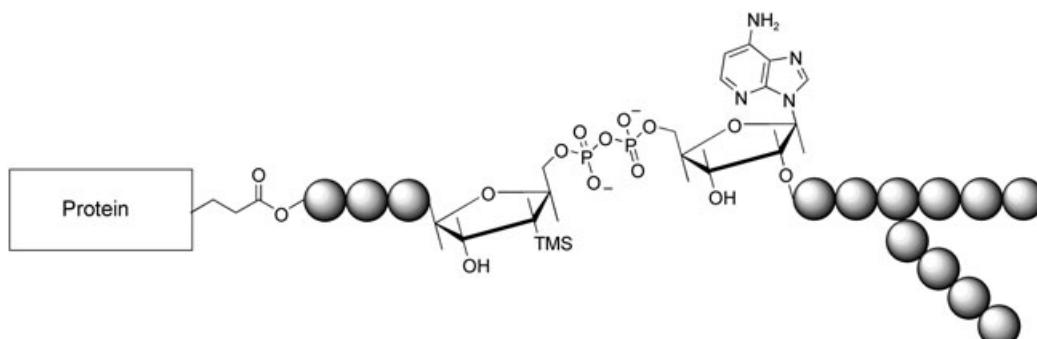


Abbildung 27. Poly(ADP)-Ribosylierung von Proteinen: Die erste ADP-Ribose-Einheit wird über eine Esterbindung an Glutaminsäure- oder Asparaginsäurereste des Zielproteins gebunden. Bei der Verlängerung über glykosidische Bindungen sind auch Verzweigungen möglich. Die Kugeln symbolisieren einzelne ADP-Ribose-Einheiten.

Gebieten mit hoher Transkriptionsgeschwindigkeit und Bereichen dekondensierten Chromatins anzutreffen. Aber auch das Gegenteil konnte gezeigt werden.^[507] PARP-1 ist für die Kondensation des Chromatins und die Repression der Transkription notwendig. Letztlich scheint der Effekt von PARP-1 auf die Chromatinstruktur von der Umgebung abzuhängen. Während Gene innerhalb des Euchromatins wie hsp70 durch PARP-1 aktiviert werden können, bewirkt das Enzym in einer Heterochromatinumgebung, wie im Fall des Gens *copia*, das Gegenteil.^[507]

Die beschriebene Modifikation ist unter physiologischen Bedingungen reversibel^[508] und PAR wird nach Beendigung des Stimulus schnell entfernt. Durch einen Hitzeschock induzierte PAR-Polymeren werden innerhalb von nur 25 Minuten nach Beendigung der Induktion komplett abgebaut.^[506] Der Grund hierfür ist eine spezifische Poly(ADP-Ribose)-Glycohydrolase (PARG), deren Aktivität anscheinend proportional mit der Länge des zu spaltenden Polymers zunimmt.

Die Zuordnung von PARP-1 zur Gruppe der Chromatin-modifizierenden Enzyme wird durch einige Gemeinsamkeiten, z.B. mit den HATs, gerechtfertigt.^[509] So wirkt PARP-1 auf verschiedene DNA-abhängige Prozesse wie Transkription, Replikation und DNA-Reparatur, ist direkt am Aufbau von Transkriptionskomplexen an Enhancern oder Promotoren^[510] beteiligt und zeigt einen für den Histon-Code typischen Synergismus: Die Nucleosomen können gleichzeitig acetyliert sein und PAR tragen.^[511]

8. Zusammenfassung und Ausblick

Die DNA einer menschlichen Zelle ist in ihrer doppelhelicalen gestreckten Form knapp einen Meter lang und muss im Zellkern zu Gebilden höherer Ordnung komprimiert werden. In diesem Zustand ist sie nur beschränkt zugänglich, und das wird von der Natur geschickt zur Regulierung der Transkription genutzt. Die Histonproteine dienen hierbei in Form der Nucleosomen einerseits zur Bildung von DNA-Strukturen höherer Ordnung, andererseits als Templat für den „Histon-Code“, einen epigenetischen Mechanismus zur Transkriptionskontrolle. Die verschiedenen Histonmodifikationen bilden ein Vokabular, dessen wechselseitige Beziehungen einer Art Grammatik unterliegen. Grundlegend für seine Etablierung sind die Enzymfamilien der HATs, HDACs, HMTs, HKs und PPs sowie die Enzyme der Ubiquitinierung, Sumoylierung und Poly(ADP)-Ribosylierung. Trotz zunehmender Erkenntnisse über den Histon-Code sind noch viele Fragen unbeantwortet. Vor allem die Histon-Methylierung, ein wichtiger Regelmechanismus bei der Transkription und anderen zellulären Prozessen, ist noch nicht im Detail verstanden. Gerade die gegensätzlichen biologischen Auswirkungen von Methylierungen an unterschiedlichen Lysin- und Argininresten der Histone sind außerordentlich wichtig. Die Veröffentlichung einiger HMT-Kristallstrukturen sollte ein Anreiz dafür sein, die natürlichen Strukturen zu imitieren und Disubstratanaloga oder einfache Peptidmimetika^[512] zu entwickeln, um diese Vorgänge zu untersuchen.

Gleiches gilt für die HATs, deren biologische Eigenschaften und Wechselwirkungen bisher nur ansatzweise verstanden

sind; nach der Entwicklung erster Enzymmodulatoren werden sicherlich weitere folgen müssen. Gerade die unterschiedlichen Familien von Histon-Acetyltransferasen und Histon-Deacetylasen vermitteln verschiedene biologische Prozesse und sollten daher selektiv angesprochen werden können. Bezüglich der Histon-Demethylierung herrscht bis heute noch in jeglicher Hinsicht Unklarheit.

Grundsätzlich ermöglichen Modulatoren der histonmodifizierenden Enzyme neben der dringend notwendigen vollständigen Entschlüsselung des Histon-Codes auch dessen Beeinflussung von außen. Darauf könnte die Entwicklung neuer Wirkstoffe und Therapieformen für die Tumorbehandlung aufbauen, und einige HDAC-Inhibitoren befinden sich bereits in der klinischen Prüfung, unter anderem auch als Kombinationspräparate mit Inhibitoren der DNA-Methylierung.

Die Untersuchung epigenetischer Mechanismen ist ein wichtiges Gebiet der chemischen Biologie. Grundvoraussetzung für die Entwicklung der hierfür notwendigen Modulatoren ist jedoch der aktive Beitrag der Chemie. Die Aufklärung der molekularen Details epigenetischer Mechanismen liefert ein klares Bild einzelner pathologischer Vorgänge und führt zur Entwicklung neuartiger Wirkstoffe und Therapiekonzepte. Die moderne bioorganische und medizinische Chemie sollte darin eine ihrer wichtigsten Aufgaben sehen.

Addendum (22. April 2005)

Während der Drucklegung dieses Aufsatzes sind relevante Publikationen im Bereich der Epigenetik erschienen.

So wurde das Dogma der irreversiblen Histon-Lysin-Methylierung mit der Entdeckung der Lysin-spezifischen Histon-Demethylase LSD1 widerlegt.^[513] LSD1, auch bekannt als KIAA0601, ist eine FAD-abhängige Aminoxidase, die spezifisch mono- und dimethyliertes H3-K4 oxidativ demethyliert.^[514] LSD1 ist Bestandteil des CoREST-Repressor-Komplexes und hemmt die Transkription.^[513] Somit ist die Histon-Methylierung, ebenso wie die Histon-Acetylierung oder -Phosphorylierung, ein dynamischer Prozess.

Die PRMT7 wurde als HRMT-TypII-Enzym nachgewiesen, das eine Spezifität für die Histone H2A und H4 zeigt.^[515]

Ebenso sind weitere Untersuchungen zur Kontrolle der Produktspezifität der HKMTs durchgeführt worden.^[516]

H3-T3 wurde als weitere mitosespezifische Phosphorylierungsstelle und die hierfür spezifische Proteinkinase haspin identifiziert.^[517]

Die durch UVB-Strahlung induzierte Phosphorylierung von H3-S10 wird durch die Fyn-Kinase vermittelt,^[518] die Phosphorylierung von H3-S28 jedoch von MLTK- α (mixed lineage kinase-like mitogen-activated protein triple kinase α).^[519]

Mit Curcumin konnte ein weiterer spezifischer Inhibitor der Histon-Acetyltransferase CBP identifiziert werden.^[520]

Für den Multiproteinkomplex SAGA wurde mit der Ubiquitin-Hydrolase Ubp8 eine weitere Komponente identifiziert die über die Deubiquitylierung von H2B in die Genregulation involviert ist.^[521]

In einer anderen Arbeit wurde gezeigt, dass die Ubiquitin-Hydrolase Ubp10 H2B deubiquityliert und so die Lokalisation der HDAC Sir2 an den Telomeren unterstützt.^[522]

Weitere Ergebnisse sprechen dafür, dass PARP-1 sowohl als strukturelle Komponente des Chromatins, als auch durch seine intrinsische katalytische Aktivität als Modulator der Chromatinstruktur fungiert.^[523]

Eingegangen am 17. Juli 2004

- [1] a) S. Khorasanizadeh, *Cell* **2004**, *116*, 259–272; b) G. Arents, R. W. Burlingame, B. C. Wang, W. E. Love, E. N. Moudrianakis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10148–10152; c) G. Arents, E. N. Moudrianakis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10489–10493.
- [2] R. D. Kornberg, Y. Lorch, *Cell* **1999**, *98*, 285–294.
- [3] K. Luger, A. W. Mader, R. K. Richmond, D. F. Sargent, T. J. Richmond, *Nature* **1997**, *389*, 251–260.
- [4] V. G. Allfrey, R. Faulkner, A. E. Mirsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1964**, *61*, 786–794.
- [5] H. T. Spotswood, B. M. Turner, *J. Clin. Invest.* **2002**, *110*, 577–582.
- [6] P. Cheung, C. D. Allis, P. Sassone-Corsi, *Cell* **2000**, *103*, 263–271.
- [7] B. M. Turner, *Cell* **2002**, *111*, 285–291.
- [8] Y. Zhang, D. Reinberg, *Genes Dev.* **2001**, *15*, 2343–2360.
- [9] M. Grunstein, *Nature* **1997**, *389*, 342–352.
- [10] T. Jenuwein, C. D. Allis, *Science* **2001**, *293*, 1074–1080.
- [11] S. L. Schreiber, B. E. Bernstein, *Cell* **2002**, *111*, 771–778.
- [12] W. S. Lo, L. Duggan, N. C. Tolga, W. S. Lane, R. Shiekhattar, S. L. Berger, *Science* **2001**, *293*, 1142–1146.
- [13] S. Rea, F. Eisenhaber, D. O'Carroll, B. D. Strahl, Z. W. Sun, M. Schmid, S. Opravil, K. Mechtler, C. P. Ponting, C. D. Allis, T. Jenuwein, *Nature* **2000**, *406*, 593–599.
- [14] B. D. Strahl, C. D. Allis, *Nature* **2000**, *403*, 41–45.
- [15] A. H. Hassan, P. Prochasson, K. E. Neely, S. C. Galasinski, M. Chandy, M. J. Carrozza, J. L. Workman, *Cell* **2002**, *111*, 369–379.
- [16] G. Egger, G. Liang, A. Aparicio, P. A. Jones, *Nature* **2004**, *429*, 457–463.
- [17] J. A. Johnson, B. M. Turner, *Semin. Cell Dev. Biol.* **1999**, *10*, 179–188.
- [18] S. K. Kurdistani, M. Grunstein, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 276–284.
- [19] T. R. Hebbes, A. W. Thorne, C. Crane-Robinson, *EMBO J.* **1988**, *7*, 1395–1403.
- [20] S. W. Brown, *Science* **1966**, *151*, 417–425.
- [21] G. Reuter, P. Spierer, *Bioessays* **1992**, *14*, 605–612.
- [22] G. Thon, A. J. S. Klar, *Genetics* **1992**, *131*, 287–296.
- [23] R. C. Allshire, J.-P. Javerzat, N. J. Readhead, G. Cranston, *Cell* **1994**, *76*, 157–169.
- [24] L. L. Wallrath, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **1998**, *8*, 147–153.
- [25] J. C. Eissenberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 9923–9927.
- [26] T. Tsukiyama, C. Wu, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **1997**, *7*, 182–191.
- [27] A. J. Kal, T. Mahmoudi, N. B. Zak, C. P. Verrijzer, *Genes Dev.* **2000**, *14*, 1058–1071.
- [28] J. E. Brownell, J. Zhou, T. Ranalli, R. Kobayashi, D. G. Edmondson, S. Y. Roth, C. D. Allis, *Cell* **1996**, *84*, 843–851.
- [29] S. Y. Roth, J. M. Denu, C. D. Allis, *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, *70*, 81–120.
- [30] C. Dhalluin, J. E. Carlson, L. Zheng, C. He, A. K. Aggarwal, M. M. Zhou, *Nature* **1999**, *399*, 491–496.
- [31] R. H. Jacobson, A. G. Ladurner, D. S. King, R. Tjian, *Science* **2000**, *288*, 1422–1425.
- [32] P. Ornaghi, P. Ballario, A. M. Lena, A. Gonzalez, P. Filetici, *J. Mol. Biol.* **1999**, *287*, 1–7.
- [33] N. Shikama, J. Lyon, N. B. LaThangue, *Trends Cell Biol.* **1997**, *7*, 230–236.
- [34] R. Marmorstein, *J. Mol. Biol.* **2001**, *311*, 433–444.
- [35] C. Reifsnyder, J. Lowell, A. Clarke, L. Pillus, *Nat. Genet.* **1996**, *14*, 44–49.
- [36] J. Borrow, V. P. Stanton, J. M. Andresen, R. Becher, F. G. Behm, R. S. K. Chaganti, C. I. Civin, *Nat. Genet.* **1996**, *14*, 33–41.
- [37] M. Carapeti, R. C. T. Aguiar, A. E. Watmore, J. M. Goldman, N. C. P. Cross, *Cancer Genet. Cytogenet.* **1999**, *113*, 70–72.
- [38] A. Hilfiker, D. Hilfiker-Kleiner, A. Pannuti, J. C. Lucchesi, *EMBO J.* **1997**, *16*, 2054–2060.
- [39] R. T. Utley, J. Côte, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **2003**, *274*, 203–236.
- [40] S. Takechi, T. Nakayama, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *266*, 405–410.
- [41] X.-J. Yang, *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 959–976.
- [42] M. J. Carrozza, R. T. Utley, J. L. Workman, J. Côte, *Trends Genet.* **2003**, *19*, 321–329.
- [43] P. A. Grant, L. Duggan, J. Cote, S. M. Roberts, J. E. Brownell, R. Candau, R. Ohba, T. Owen-Hughes, C. D. Allis, F. Winston, S. L. Berger, J. L. Workman, *Genes Dev.* **1997**, *11*, 1640–1650.
- [44] R. Balasubramanian, M. G. Pray-Grant, W. Selleck, P. A. Grant, S. Tan, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 7989–7995.
- [45] P. A. Grant, A. Eberharter, S. John, R. G. Cook, B. M. Turner, J. L. Workman, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 5895–5900.
- [46] P. A. Grant, D. Schielitz, M. G. Pray-Grant, J. R. Yates, J. L. Workmann, *Mol. Cell* **1998**, *2*, 863–867.
- [47] S. Allard, R. T. Utley, J. Savard, A. Clarke, P. Grant, C. J. Brandl, L. Pillus, J. L. Workman, J. Côte, *EMBO J.* **1999**, *18*, 5108–5119.
- [48] E. Martinez, V. B. Palhan, A. Tjernberg, E. S. Lymar, A. M. Gamper, T. K. Kundu, B. T. Chait, R. G. Roeder, *Mol. Cell. Biol.* **2001**, *21*, 6782–6795.
- [49] T. Ikura, V. V. Ogryzko, M. Grigoriev, R. Groisman, J. Wang, M. Horikoshi, R. Scully, J. Qin, Y. Nakatani, *Cell* **2000**, *102*, 463–473.
- [50] S. B. McMahon, M. A. Wood, M. D. Cole, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 556–562.
- [51] S. E. Lang, S. B. McMahon, M. D. Cole, P. Hearing, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 32627–32634.
- [52] T. Agalioti, S. Lomvardas, B. Parekh, T. Maniatis, D. Thanos, *Cell* **2000**, *103*, 667–678.
- [53] M. Merika, D. Thanos, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2001**, *11*, 205–208.
- [54] S. Lomvardas, D. Thanos, *Cell* **2001**, *106*, 685–696.
- [55] T. Agalioti, G. Chen, D. Thanos, *Cell* **2002**, *111*, 381–392.
- [56] H. Chen, M. Tini, R. M. Evans, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 218–224.
- [57] E. R. Smith, A. Eisen, W. Gu, M. Sattah, A. Pannuti, J. Zhou, R. G. Cook, J. C. Lucchesi, C. D. Allis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 3561–3565.
- [58] A. S. Clarke, J. E. Lowell, S. J. Jacobsen, L. Pillus, *Mol. Cell. Biol.* **1999**, *19*, 2515–2526.
- [59] M. Iizuka, B. Stillman, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 23027–23034.
- [60] S. Ait-Si-Ali, A. Polesskaya, S. Filleur, R. Ferreira, A. Duquet, P. Robin, A. Vervish, D. Trouche, F. Cabon, A. Harel-Bellan, *Oncogene* **2000**, *19*, 2430–2437.
- [61] J. E. Krebs, C. J. Fry, M. Samuels, C. L. Peterson, *Cell* **2000**, *102*, 587–598.
- [62] M. S. Schlissel, *Science* **2000**, *287*, 438–440.
- [63] M. T. McMurry, M. S. Krangel, *Science* **2000**, *287*, 495–498.

- [64] G. Otero, J. Fellows, Y. Li, T. de Bizemont, A. M. Dirac, C. M. Gustafsson, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, J. Q. Svejstrup, *Mol. Cell* **1999**, *3*, 109–118.
- [65] B. O. Wattschien, G. Otero, T. de Bizemont, J. Fellows, H. Erdjument-Bromage, R. Ohba, Y. Li, C. D. Allis, P. Tempst, J. Q. Svejstrup, *Mol. Cell* **1999**, *4*, 123–128.
- [66] A. E. Ehrenhofer-Murray, D. H. Rivier, J. Rine, *Genetics* **1997**, *145*, 923–934.
- [67] C. Reifsnyder, J. Lowell, A. Clarke, L. Pillus, *Nat. Genet.* **1996**, *14*, 42–49.
- [68] W. Gu, R. G. Roeder, *Cell* **1997**, *90*, 595–606.
- [69] L. Liu, D. M. Scolnick, R. C. Trievle, H. B. Zhang, R. Marmorstein, T. D. Halazonetis, S. L. Berger, *Mol. Cell. Biol.* **1999**, *19*, 1202–1209.
- [70] K. Sakaguchi, J. E. Herrera, S. Saito, T. Miki, M. Bustin, A. Vassilev, C. W. Anderson, E. Appella, *Genes Dev.* **1998**, *12*, 2831–2841.
- [71] A. Imhof, X. J. Yang, V. V. Ogryzko, Y. Nakatani, A. P. Wolffe, H. Ge, *Curr. Biol.* **1997**, *7*, 689–692.
- [72] J. Boyes, P. Byfield, Y. Nakatani, V. Ogryzko, *Nature* **1998**, *396*, 594–598.
- [73] T. Yamagata, K. Mitani, H. Oda, T. Suzuki, H. Honda, T. Asai, K. Maki, T. Nakamoto, H. Hirai, *EMBO J.* **2000**, *19*, 4676–4687.
- [74] W. Zhang, J. J. Bieker, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 9855–9860.
- [75] V. Sartorelli, P. L. Puri, Y. Hamamori, V. Ogryzko, G. Chung, Y. Nakatani, J. Y. Wang, L. Kedes, *Mol. Cell* **1999**, *4*, 725–734.
- [76] M. A. Martinez-Balbas, U. M. Bauer, S. J. Nielsen, A. Brehm, T. Kouzarides, *EMBO J.* **2000**, *19*, 662–671.
- [77] A. Tomita, M. Towatari, S. Tsuzuki, F. Hayakawa, H. Kosugi, K. Tamai, T. Miyazaki, T. Kinoshita, H. Saito, *Oncogene* **2000**, *19*, 444–451.
- [78] L. Waltzer, M. Bienz, *Nature* **1998**, *395*, 521–525.
- [79] N. Munshi, M. Merika, J. Yie, K. Senger, G. Chen, D. Thanos, *Mol. Cell* **1998**, *2*, 457–467.
- [80] M. Bergel, J. E. Herrera, B. J. Thatcher, M. Prymakowska-Bosak, A. Vassilev, Y. Nakatani, B. Martin, M. Bustin, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 11514–11520.
- [81] J. E. Herrera, K. Sakaguchi, M. Bergel, L. Trieschmann, Y. Nakatani, M. Bustin, *Mol. Cell. Biol.* **1999**, *19*, 3466–3473.
- [82] S. Li, B. Aufiero, R. L. Schiltz, M. J. Walsh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 7166–7171.
- [83] R. E. Kiernan, C. Vanhulle, L. Schiltz, E. Adam, H. Xiao, F. Maudoux, C. Calomme, A. Burny, Y. Nakatani, K. T. Jeang, M. Benkirane, C. Van Lint, *EMBO J.* **1999**, *18*, 6106–6118.
- [84] T. Murata, R. Kurokawa, A. Krones, K. Tatsumi, M. Ishii, T. Taki, M. Masuno, H. Ohashi, M. Yanagisawa, M. G. Rosenfeld, C. K. Glass, Y. Hayashi, *Hum. Mol. Genet.* **2001**, *10*, 1071–1076.
- [85] I. Coupry, C. Roudaut, M. Stef, M. A. Delrue, M. Marche, I. Burgelin, L. Taine, C. Cruaud, D. Lacombe, B. Arveiler, *J. Med. Genet.* **2002**, *39*, 415–421.
- [86] R. H. Goodman, S. Smolik, *Genes Dev.* **2000**, *14*, 1553–1577.
- [87] K. G. Tanner, R. C. Trievle, M.-H. Kuo, R. M. Howards, S. L. Berger, C. D. Allis, R. Marmorstein, J. M. Denu, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 18157–18160.
- [88] O. D. Lau, A. D. Courtney, A. Vassilev, L. A. Marzilli, R. J. Cotter, Y. Nakatani, P. A. Cole, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21953–21959.
- [89] K. G. Tanner, M. R. Langer, J. M. Denu, *Biochemistry* **2000**, *39*, 11961–11969.
- [90] K. G. Tanner, M. R. Langer, Y. Kim, J. M. Denu, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 22048–22055.
- [91] F. Dyda, D. C. Klein, A. B. Hickman, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2000**, *29*, 81–103.
- [92] R. C. Trievle, J. R. Rojas, D. E. Stern, R. N. Venkataramani, L. Wang, J. Zhou, C. D. Allis, S. L. Berger, R. Marmorstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 8931–8936.
- [93] Y. Lin, C. M. Fletcher, J. Zhou, C. D. Allis, G. Wagner, *Nature* **1999**, *400*, 86–89.
- [94] J. R. Rojas, R. C. Trievle, J. Zhou, Y. Mo, X. Li, S. L. Berger, C. D. Allis, R. Marmorstein, *Nature* **1999**, *401*, 93–98.
- [95] A. Clements, J. R. Rojas, R. C. Trievle, L. Wang, S. L. Berger, R. Marmorstein, *EMBO J.* **1999**, *18*, 3521–3532.
- [96] A. Clements, A. N. Pou, W.-S. Lo, L. Pillus, S. L. Berger, R. Marmorstein, *Mol. Cell* **2003**, *12*, 461–473.
- [97] O. D. Lau, T. K. Kundu, R. E. Socci, S. Alt-Si-Ali, E. M. Khalil, A. Vassilev, A. P. Wolffe, Y. Nakatani, R. G. Roeder, P. A. Cole, *Mol. Cell* **2000**, *5*, 589–595.
- [98] P. R. Thompson, H. Kurooka, Y. Nakatani, P. A. Cole, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 33721–33729.
- [99] A. N. Pou, M. Cebrat, C. M. Kim, P. A. Cole, R. Marmorstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 14065–14070.
- [100] A. Costanzo, P. Merlo, N. Pediconi, M. Fulco, V. Sartorelli, P. A. Cole, G. Fontemaggi, M. Fanciulli, L. Schiltz, G. Blandino, C. Balsano, M. Levrero, *Mol. Cell* **2002**, *9*, 175–186.
- [101] K. Balasubramanyam, V. Swaminathan, A. Ranganathan, T. K. Kundu, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 19134–19140.
- [102] J. Chen, Y.-H. Zhang, L.-K. Wang, S. J. Sacheck, A. M. Snow, S. M. Hecht, *Chem. Commun.* **1998**, 2769–2770.
- [103] M. Biel, N. Kretsovali, E. Karatzali, J. Papamatheakis, A. Giannis, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4065–4067; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3974–3976.
- [104] H. M. R. Hoffmann, J. Rabe, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 96–112; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 94–110.
- [105] F. P. Kuhajda, E. S. Pizer, J. N. Li, N. S. Mani, G. L. Frehywot, C. A. Townsend, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3450–3454.
- [106] G. Legube, D. Trouche, *EMBO Rep.* **2003**, *4*, 944–947.
- [107] S. Ait-Si-Ali, *Nature* **1998**, *396*, 184–186.
- [108] K. Zanger, S. Radovick, F. E. Wondisford, *Mol. Cell* **2001**, *7*, 551–558.
- [109] W. Xu, H. Chen, K. Du, H. Asahara, M. Tini, B. M. Emerson, M. Montminy, R. M. Evans, *Science* **2001**, *294*, 2507–2511.
- [110] D. Girdwood, D. Bumpass, O. A. Vaughan, A. Thain, L. A. Anderson, A. W. Snowden, E. Garcia-Wilson, N. D. Perkins, R. T. Hay, *Mol. Cell* **2003**, *11*, 1043–1054.
- [111] G. G. Gray, T. J. Ekstrom, *Exp. Cell Res.* **2001**, *262*, 75–83.
- [112] C. M. Grozinger, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 3–16.
- [113] E. Verdin, F. Dequiedt, H. G. Kasler, *Trends Genet.* **2003**, *19*, 286–293.
- [114] C. M. Grozinger, C. A. Hassig, S. L. Schreiber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 4868–4873.
- [115] W. Fischle, V. Kiermer, F. Dequiedt, E. Verdin, *Biochem. Cell Biol.* **2001**, *79*, 337–348.
- [116] W. Fischle, S. Emiliani, M. J. Hendzel, T. Nagase, N. Nomura, W. Voelter, E. Verdin, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 11713–11720.
- [117] M. S. Finnin, J. R. Donigan, A. Cohen, V. M. Richon, R. A. Rifkind, P. A. Marks, N. P. Pavletich, *Nature* **1999**, *401*, 188–193.
- [118] R. A. Frye, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *273*, 793–798.
- [119] S. Imai, C. Armstrong, L. Guarente, *Nature* **2000**, *403*, 795–800.
- [120] C. B. Brachmann, J. M. Sherman, S. E. Devine, E. E. Cameron, L. Pillus, J. D. Boeke, *Genes Dev.* **1995**, *9*, 2888–2902.
- [121] L. J. Burke, A. Baniahmad, *FASEB J.* **2000**, *14*, 1876–1888.
- [122] P. A. Wade, *Hum. Mol. Genet.* **2001**, *10*, 693–698.
- [123] W. M. Yang, C. Inouye, Y. Zeng, D. Bearss, E. Seto, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 12845–12850.
- [124] H. D. Youn, C. M. Grozinger, J. O. Liu, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 22563–22567.

- [125] C. M. Grozinger, S. L. Schreiber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 7835–7840.
- [126] Y. Zhang, H. H. Ng, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, A. Bird, D. Reinberg, *Genes Dev.* **1999**, *13*, 1924–1935.
- [127] D. E. Ayer, *Trends Cell Biol.* **1999**, *9*, 193–198.
- [128] P. S. Knoepfler, R. N. Eisenman, *Cell* **1999**, *99*, 447–450.
- [129] R. Aasland, A. F. Stewart, T. Gibson, *Trends Biochem. Sci.* **1996**, *21*, 87–88.
- [130] A. You, J. K. Tong, C. M. Grozinger, S. L. Schreiber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 1454–1458.
- [131] G. W. Humphrey, Y. Wang, V. R. Russanova, T. Hirai, J. Qin, Y. Nakatani, B. H. Howard, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 6817–6824.
- [132] N. Tsuji, M. Kobayashi, K. Nagashima, Y. Wakisaka, K. Koizumi, *J. Antibiot.* **1976**, *29*, 1–6.
- [133] M. Yoshida, M. Kijima, M. Akita, T. Beppu, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 17174–17179.
- [134] M. Gottlicher, S. Minucci, P. Zhu, O. H. Kramer, A. Schimpf, *EMBO J.* **2001**, *20*, 6969–6978.
- [135] J. S. Chen, D. V. Faller, *Curr. Cancer Drug Targets* **2003**, *3*, 219–236.
- [136] M. Yoshida, Y. Hoshikawa, K. Koseki, K. Mori, T. Beppu, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1101–1106.
- [137] W. K. Kelly, O. A. O'Connor, P. A. Marks, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2002**, *11*, 1695–1713.
- [138] P. A. Marks, R. A. Rifkind, V. M. Richon, R. Breslow, T. Miller, W. K. Kelly, *Nat. Rev. Cancer* **2001**, *1*, 194–202.
- [139] M. Jung, G. Brosch, D. Kolle, H. Scherf, C. Gerhauser, P. Loidl, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4669–4679.
- [140] R. Furumai, Y. Komatsu, N. Nishino, S. Khochbin, M. Yoshida, S. Horinouchi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 87–92.
- [141] V. M. Richon, Y. Webb, R. Merger, T. Sheppard, B. Jursic, L. Ngo, F. Civoli, R. Breslow, R. A. Rifkind, P. A. Marks, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 5705–5708.
- [142] V. M. Richon, S. Emiliani, E. Verdin, Y. Webb, R. Breslow, R. A. Rifkind, P. A. Marks, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 3003–3007.
- [143] T. Suzuki, T. Ando, K. Tsuchiya, N. Fukazawa, A. Saito, Y. Mariko, T. Yamashita, O. Nakanishi, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3001–3003.
- [144] K. Mori, K. Koseki, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 1101–1106.
- [145] Y. Komatsu, K. Y. Tomizaki, M. Tsukamoto, T. Kato, N. Nishino, S. Sato, T. Yamori, T. Tsuruo, R. Furumai, M. Yoshida, S. Horinouchi, H. Hayashi, *Cancer Res.* **2001**, *61*, 4459–4466.
- [146] H. J. Kwon, T. Owa, C. A. Hassig, J. Shimada, S. L. Schreiber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 3356–3361.
- [147] M. Jung, *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1505–1511.
- [148] M. L. Curtin, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2002**, *12*, 1375–1384.
- [149] J. M. Mariadason, G. A. Corner, L. H. Augenlicht, *Cancer Res.* **2000**, *60*, 4561–4572.
- [150] E. E. Cameron, K. E. Bachman, S. Myohanen, J. G. Herman, S. B. Baylin, *Nat. Genet.* **1999**, *21*, 103–107.
- [151] P. A. Marks, V. M. Richon, R. Breslow, R. A. Rifkind, *Curr. Opin. Oncol.* **2001**, *13*, 477–483.
- [152] U. H. Weidle, A. Grossmann, *Anticancer Res.* **2000**, *20*, 1471–1485.
- [153] P. A. Marks, V. M. Richon, R. A. Rifkind, *J. Natl. Cancer Inst.* **2000**, *92*, 1210–1216.
- [154] O. H. Kramer, M. Gottlicher, T. Heinzel, *Trends Endocrinol. Metab.* **2001**, *12*, 294–300.
- [155] S. Y. Archer, S. Meng, A. Shei, R. A. Hodin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 6791–6796.
- [156] M. M. Lipinski, T. Jacks, *Oncogene* **1999**, *18*, 7873–7882.
- [157] V. Sandor, A. Senderowicz, S. Mertins, D. Sackett, E. Sausville, M. V. Blagosklonny, S. E. Bates, *Br. J. Cancer* **2000**, *83*, 817–825.
- [158] R. R. Rosato, Z. Wang, R. V. Gopalkrishnan, P. B. Fisher, S. Grant, *Int. J. Oncol.* **2001**, *19*, 181–191.
- [159] L. Qiu, A. Burgess, D. P. Fairlie, H. Leonard, P. G. Parsons, B. G. Gabrielli, L. Qiu, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 2069–2083.
- [160] A. A. Ruefli, M. J. Ausserlechner, D. Bernhard, V. R. Sutton, K. M. Tainton, R. Kofler, M. J. Smyth, R. W. Johnstone, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 10833–10838.
- [161] S. H. Kwon, S. H. Ahn, Y. K. Kim, G.-U. Bae, J. W. Yoon, S. Hong, H. Y. Lee, Y.-W. Lee, H.-W. Lee, J.-W. Han, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 2073–2080.
- [162] R. D. Glick, S. L. Swendeman, D. C. Coffey, R. A. Rifkind, P. A. Marks, V. M. Richon, M. P. La Quaglia, *Cancer Res.* **1999**, *59*, 4392–4399.
- [163] J. A. Vrana, R. H. Decker, C. R. Johnson, Z. Wang, W. D. Jarvis, V. M. Richon, M. Ehinger, P. B. Fisher, S. Grant, *Oncogene* **1999**, *18*, 7016–7025.
- [164] T. Suzuki, H. Yokozaki, H. Kuniyasu, K. Hayashi, K. Naka, S. Ono, T. Ishikawa, E. Tahara, W. Yasui, *Int. J. Cancer* **2000**, *88*, 992–997.
- [165] X. X. Cao, I. Mohuiddin, F. Ece, D. J. McConkey, W. R. Smythe, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2001**, *25*, 562–568.
- [166] T. Maeda, M. Towatari, H. Kosugi, H. Saito, *Blood* **2000**, *96*, 3847–3856.
- [167] W. J. Magnier, A. L. Kazim, C. Stewart, M. A. Romano, G. Catalano, C. Grande, N. Keiser, F. Santaniello, T. B. Tomasi, *J. Immunol.* **2000**, *165*, 7017–7024.
- [168] N. Mishra, D. R. Brown, I. M. Olorenshaw, G. M. Kammer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 2628–2633.
- [169] E. Shestakova, M. T. Bandu, J. Doly, E. Bonnefoy, *J. Virol.* **2001**, *75*, 3444–3452.
- [170] M. S. Kim, H. J. Kwon, Y. M. Lee, J. H. Baek, J.-E. Jang, S.-W. Lee, E.-J. Moon, H.-S. Kim, S.-K. Lee, H. Y. Chung, C. W. Kim, K.-W. Kim, *Nature Med.* **2001**, *7*, 437–443.
- [171] R. A. Frye, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *260*, 273–279.
- [172] J. Landry, J. T. Slama, R. Sternglanz, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *278*, 685–690.
- [173] J. L. Avalos, I. Celic, S. Muhammad, M. S. Cosgrove, J. D. Boeke, C. Wolberger, *Mol. Cell* **2002**, *10*, 523–535.
- [174] M. S. Finnin, J. R. Donigian, N. P. Pavletich, *Nat. Struct. Biol.* **2001**, *8*, 621–625.
- [175] K. Zhao, X. Chai, A. Clements, R. Marmorstein, *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10*, 864–871.
- [176] J. Min, J. Landry, R. Sternglanz, R. M. Xu, *Cell* **2001**, *105*, 269–279.
- [177] K. Zhao, R. Harshaw, X. Chai, R. Marmorstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 8563–8568.
- [178] D. Moazed, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 232–238.
- [179] M. R. Gartenberg, *Curr. Opin. Microbiol.* **2000**, *3*, 132–137.
- [180] F. Palladino, T. Laroche, E. Gilson, A. Axelrod, L. Pillus, S. M. Gasser, *Cell* **1993**, *75*, 543–555.
- [181] P. Moretti, K. Freeman, L. Coodly, D. Shore, *Genes Dev.* **1994**, *8*, 2257–2269.
- [182] K. Luo, M. A. Vega-Palas, M. Grunstein, *Genes Dev.* **2002**, *16*, 1528–1539.
- [183] G. J. Hoppe, J. C. Tanny, A. D. Rudner, S. A. Gerber, S. Danaie, S. P. Gygi, D. Moazed, *Mol. Cell. Biol.* **2002**, *22*, 4167–4180.
- [184] L. N. Rusche, A. L. Kirchmaier, J. Rine, *Mol. Biol. Cell* **2002**, *22*, 2207–2222.
- [185] A. Hecht, T. Laroche, S. Strahl-Bolsinger, S. M. Gasser, M. Grunstein, *Cell* **1995**, *80*, 583–592.
- [186] P. S. Kayne, U. J. Kim, M. Han, J. R. Mullen, F. Yoshizaki, M. Grunstein, *Cell* **1988**, *55*, 27–39.
- [187] J. S. Thompson, X. Ling, M. Grunstein, *Nature* **1994**, *369*, 245–247.
- [188] H. Renauld, O. M. Aparicio, P. D. Zierath, B. L. Billington, S. K. Chhablani, D. E. Gottschling, *Genes Dev.* **1993**, *7*, 1133–1145.
- [189] N. Suka, K. Luo, M. Grunstein, *Nat. Genet.* **2002**, *32*, 378–383.

- [190] A. Kimura, T. Umehara, M. Horikoshi, *Nat. Genet.* **2002**, *32*, 370–377.
- [191] L. Guarente, *Genes Dev.* **2000**, *14*, 1021–1026.
- [192] M. Kaeberlein, M. McVey, L. Guarente, *Genes Dev.* **1999**, *13*, 2570–2580.
- [193] C. M. Grozinger, E. D. Chao, H. E. Blackwell, D. Moazed, S. L. Schreiber, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 38837–38843.
- [194] S. J. Lin, P. A. Defossez, L. Guarente, *Science* **2000**, *289*, 2126–2128.
- [195] J. Posakony, M. Hirao, S. Stevens, J. A. Simon, A. Bedalov, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2635–2644.
- [196] K. T. Howitz, K. J. Bitterman, H. Y. Cohen, D. W. Lamming, S. Lau, J. G. Wood, R. E. Zipkin, P. Chung, A. Kisielewski, L.-L. Zhang, B. Scherer, D. A. Sinclair, *Nature* **2003**, *425*, 191–196.
- [197] a) M. Jang, L. Cai, G. O. Udeani, K. V. Slowing, C. F. Thomas, C. W. W. Beecher, H. H. S. Fong, N. R. Farnsworth, A. D. Kinghorn, R. G. Mehta, R. C. Moon, J. M. Pezzuto, *Science* **1997**, *275*, 218–220; b) S. Quideau, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 427–430.
- [198] K. Murray, *Biochemistry* **1964**, *3*, 10–15.
- [199] R. J. Sims, K. Nishioka, D. Reinberg, *Trends Genet.* **2003**, *19*, 629–639.
- [200] T. Kouzarides, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2002**, *12*, 198–209.
- [201] K. E. van Holde, *Chromatin*, 1. Aufl., Springer, New York, 1989.
- [202] Q. Zheng, E. J. Simel, P. E. Klein, M. T. Royer, R. L. Houtz, *Protein Expression Purif.* **1998**, *14*, 104–112.
- [203] B. Polevoda, M. R. Martzen, B. Das, E. M. Phizicky, F. Sherman, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 20508–20513.
- [204] C. S. Baxter, P. Byvoet, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1975**, *63*, 286–291.
- [205] P. Byvoet, G. R. Shepherd, J. M. Hardin, B. J. Noland, *Arch. Biochem. Biophys.* **1972**, *148*, 558–567.
- [206] B. M. Turner, *Nat. Cell Biol.* **2003**, *5*, 390–393.
- [207] J. C. Rice, C. D. Allis, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 263–273.
- [208] R. Marmorstein, *Trends Biochem. Sci.* **2003**, *28*, 59–62.
- [209] R. Schneider, A. J. Bannister, T. Kouzarides, *Trends Biochem. Sci.* **2002**, *27*, 396–402.
- [210] X. Zhang, H. Tamaru, S. I. Khan, J. R. Horton, L. J. Keefe, E. U. Selker, X. Cheng, *Cell* **2002**, *111*, 117–127.
- [211] J. R. Wilson, C. Jing, P. A. Walker, S. R. Martin, S. A. Howell, G. M. Blackburn, S. J. Gamblin, B. X. Wilson, *Cell* **2002**, *111*, 105–115.
- [212] R. C. Triebel, B. M. Beach, L. Dirk, R. L. Houtz, J. H. Hurley, *Cell* **2002**, *111*, 91–103.
- [213] M. Lachner, T. Jenuwein, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2002**, *14*, 286–298.
- [214] M. Lachner, D. O’Carroll, S. Rea, K. Mechteder, T. Jenuwein, *Nature* **2001**, *410*, 116–120.
- [215] A. J. Bannister, P. Zegerman, J. F. Partridge, E. A. Miska, J. O. Thomas, R. C. Allshire, T. Kouzarides, *Nature* **2001**, *410*, 120–124.
- [216] C. Caldas, M.-H. Kim, A. MacGregor, D. Cain, S. Aparicio, L. M. Wiedemann, *Oncogene* **1998**, *16*, 3233–3241.
- [217] P. Ernst, J. Wang, S. J. Korsmeyer, *Curr. Opin. Hematol.* **2002**, *9*, 282–287.
- [218] F. Bantignies, R. H. Goodman, S. M. Smolik, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 9317–9330.
- [219] C. Abbondanza, N. Medici, V. Nigro, V. Rossi, L. Gallo, G. Piluso, A. Belsito, A. Roscigno, P. Bontempo, A. A. Puca, A. M. Molinari, B. Moncharmont, G. A. Puca, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3130–3135.
- [220] G. Steele-Perkins, W. Fang, X.-H. Yang, M. Van Gele, T. Carling, J. Gu, I. M. Buyse, J. A. Fletcher, J. Liu, R. Bronson, R. B. Chadwick, A. de la Chapelle, X.-K. Zhang, F. Speleman, S. Huang, *Genes Dev.* **2001**, *15*, 2250–2262.
- [221] S. Fears, C. Mathieu, N. Zeleznik-Le, S. Huang, J. D. Rowley, G. Nucifora, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 1642–1647.
- [222] G.-L. Jiang, S. Huang, *Cancer Res.* **2001**, *61*, 1796–1798.
- [223] J. Min, X. Zhang, X. Cheng, S. Grewal, R.-M. Xu, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 828–832.
- [224] B. Xiao, C. Jing, J. R. Wilson, P. A. Walker, N. Vasisht, G. Kelly, S. Howell, I. A. Taylor, G. M. Blackburn, S. J. Gamblin, *Nature* **2003**, *421*, 652–656.
- [225] T. Kwon, J. H. Chang, E. Kwak, C. W. Lee, A. Joachimiak, Y. C. Kim, J. W. Lee, Y. Cho, *EMBO J.* **2003**, *22*, 292–303.
- [226] S. A. Jacobs, J. M. Harp, S. Devarakonda, Y. Kim, F. Rastinejad, S. Khorasanizadeh, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 833–838.
- [227] Q. Feng, H. Wang, H. H. Ng, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, K. Struhl, Y. Zhang, *Curr. Biol.* **2002**, *12*, 1052–1058.
- [228] H. Santos-Rosa, R. Schneider, A. J. Bannister, J. Sherriff, B. E. Bernstein, N. C. T. Emre, S. L. Schreiber, J. Mellor, T. Kouzarides, *Nature* **2002**, *419*, 407–411.
- [229] a) S. D. Briggs, M. Bryk, B. D. Strahl, W. L. Cheung, J. K. Davie, S. Y. Dent, F. Winston, C. D. Allis, *Genes Dev.* **2001**, *15*, 3286–3295; b) M. Bryk, S. D. Briggs, B. D. Strahl, M. J. Curcio, C. D. Allis, F. Winston, *Curr. Biol.* **2002**, *12*, 165–170; c) J. Sollier, W. Lin, C. Soustelle, K. Suhre, A. Nicolas, V. Gelli, S.-A. C. De La Roche, *EMBO J.* **2004**, *23*, 1957–1967.
- [230] T. Klymenko, J. Müller, *EMBO Rep.* **2004**, *5*, 373–377.
- [231] a) C. Beisel, A. Imhof, J. Greene, E. Kremmer, F. Sauer, *Nature* **2002**, *419*, 857–862; b) K. N. Byrd, A. Shearn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 11535–11540.
- [232] a) H. Wang, R. Cao, L. Xia, H. Erdjument-Bromage, C. Borchers, P. Tempst, Y. Zhang, *Mol. Cell* **2001**, *8*, 1207–1217; b) K. Nishioka, S. Chuikov, K. Sarma, H. Erdjument-Bromage, C. D. Allis, P. Tempst, D. Reinberg, *Genes Dev.* **2002**, *16*, 479–489; c) A. Kouskouti, E. Scheer, A. Staub, L. Tora, I. Talianidis, *Mol. Cell* **2004**, *14*, 175–182.
- [233] T. Nakamura, T. Mori, S. Tada, W. Krajewski, T. Rozovskaia, R. Wassell, G. Dubois, A. Mazo, C. M. Croce, E. Canaani, *Mol. Cell* **2002**, *10*, 1119–1128.
- [234] T. A. Milne, S. D. Briggs, H. W. Brock, M. E. Martin, D. Gibbs, C. D. Allis, J. L. Hess, *Mol. Cell* **2002**, *10*, 1107–1117.
- [235] Y. H. Goo, Y. C. Sohn, D. H. Kim, S. W. Kim, M. J. Kang, D. J. Jung, E. Kwak, N. A. Barlev, S. L. Berger, V. T. Chow, R. G. Roeder, D. O. Azorsa, P. S. Meltzer, P. G. Suh, E. J. Song, K. J. Lee, Y. C. Lee, J. W. Lee, *Mol. Cell. Biol.* **2003**, *23*, 140–149.
- [236] R. J. Sims III, D. Reinberg, *Nat. Cell Biol.* **2004**, *6*, 685–687.
- [237] a) G. Schotta, A. Ebert, V. Krauss, A. Fischer, J. Hoffmann, S. Rea, T. Jenuwein, R. Dorn, G. Reuter, *EMBO J.* **2002**, *21*, 1121–1131; b) B. Czernin, G. Schotta, B. B. Hulsmann, A. Brehm, P. B. Becker, G. Reuter, A. Imhof, *EMBO Rep.* **2001**, *2*, 915–919.
- [238] A. H. Peters, D. O’Carroll, H. Scherthan, K. Mechteder, S. Sauer, C. Schofer, K. Weipoltshammer, M. Pagani, M. Lachner, A. Kohlmaier, S. Opravil, M. Doyle, M. Sibilia, T. Jenuwein, *Cell* **2001**, *107*, 323–337.
- [239] D. O’Carroll, H. Scherthan, A. H. Peters, S. Opravil, A. R. Haynes, G. Laible, S. Rea, M. Schmid, A. Lebersorger, M. Jerratsch, L. Sattler, M. G. Mattei, P. Denny, S. D. Brown, D. Schweizer, T. Jenuwein, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 9423–9433.
- [240] J. Nakayama, J. C. Rice, B. D. Strahl, C. D. Allis, S. I. Grewal, *Science* **2001**, *292*, 110–113.
- [241] a) H. Tamaru, E. U. Selker, *Nature* **2001**, *414*, 277–283; b) E. U. Selker, M. Freitag, G. O. Kothe, B. S. Margolin, M. R. Rountree, C. D. Allis, H. Tamaru, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 16485–16490.
- [242] a) M. Tachibana, K. Sugimoto, T. Fukushima, Y. Shinkai, *Biol. Chem.* **2001**, *276*, 25309–25317; b) J. C. Rice, S. D. Briggs, B. Ueberheide, C. M. Barber, J. Shabanowitz, D. F. Hunt, Y. Shinkai, C. D. Allis, *Mol. Cell* **2003**, *12*, 1591–1598.

- [243] H. Ogawa, K.-I. Ishiguro, S. Gaubatz, D. M. Livingston, Y. Nakatani, *Science* **2002**, 296, 1132–1136.
- [244] a) L. Yang, L. Xia, D. Y. Wu, H. Wang, H. A. Chansky, W. H. Schubach, D. D. Hickstein, Y. Zhang, *Oncogene* **2002**, 21, 148–152; b) J. E. Dodge, Y. K. Kang, H. Beppu, H. Lei, E. Li, *Mol. Cell. Biol.* **2004**, 24, 2478–2486.
- [245] D. C. Schultz, K. Ayyanathan, D. Negorev, G. G. Maul, F. J. Rauscher, *Genes Dev.* **2002**, 16, 919–932.
- [246] a) J. Müller, C. M. Hart, N. J. Francis, M. L. Vargas, A. Sengupta, B. Wild, E. L. Miller, M. B. O'Connor, R. E. Kingston, J. A. Simon, *Cell* **2002**, 111, 197–208; b) R. Cao, Y. Zhang, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2004**, 14, 155–164.
- [247] a) R. Cao, L. Wang, H. Wang, L. Xia, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, R. S. Jones, Y. Zhang, *Science* **2002**, 298, 1039–1043; b) S. Erhardt, I. H. Su, R. Schneider, S. Barton, A. J. Bannister, L. Perez-Burgos, T. Jenuwein, T. Kouzarides, A. Tarakhovsky, M. A. Surani, *Development* **2003**, 130, 4235–4248.
- [248] a) B. D. Strahl, P. A. Grant, S. D. Briggs, Z. W. Sun, J. R. Bone, J. A. Caldwell, S. Mollah, R. G. Cook, J. Shabanowitz, D. F. Hunt, C. D. Allis, *Mol. Cell. Biol.* **2002**, 22, 1298–1306; b) N. J. Krogan, M. Kim, A. Tong, A. Golshani, G. Cagney, V. Canadian, D. P. Richards, B. K. Beattie, A. Emili, C. Boone, A. Shilatifard, S. Buratowski, J. Greenblatt, *Mol. Cell. Biol.* **2003**, 23, 4207–4218.
- [249] a) G. V. Rayasam, O. Wendling, P. O. Angrand, M. Mark, K. Niederreither, L. Song, T. Lerouge, G. L. Hager, P. Chambon, R. Losson, *EMBO J.* **2003**, 22, 3153–3163; b) A. L. Nielsen, P. Jorgensen, T. Lerouge, M. Cervino, P. Chambon, R. Losson, *Mol. Cell. Biol.* **2004**, 24, 5184–5196.
- [250] H. H. Ng, D. N. Ciccone, K. B. Morshead, M. A. Oettinger, K. Struhl, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 1820–1825.
- [251] J. Min, Q. Feng, Z. Li, Y. Zhang, R. M. Xu, *Cell* **2003**, 112, 711–723.
- [252] F. van Leeuwen, P. R. Gafken, D. E. Gottschling, *Cell* **2002**, 109, 745–756.
- [253] a) K. Nishioka, J. C. Rice, K. Sarma, H. Erdjument-Bromage, J. Werner, Y. Wang, S. Chuikov, P. Valenzuela, P. Tempst, R. Steward, J. T. Lis, C. D. Allis, D. Reinberg, *Mol. Cell* **2002**, 9, 1201–1213; b) J. C. Rice, K. Nishioka, K. Sarma, R. Steward, D. Reinberg, C. D. Allis, *Genes Dev.* **2002**, 16, 2225–2230; c) E. Julien, W. Herr, *Mol. Cell* **2004**, 14, 713–725.
- [254] G. Schotta, M. Lachner, K. Sarma, A. Ebert, R. Sengupta, G. Reuter, D. Reinberg, T. Jenuwein, *Genes Dev.* **2004**, 18, 1251–1262.
- [255] B. Czermin, R. Melfi, D. McCabe, V. Seitz, A. Imhof, V. Pirrotta, *Cell* **2002**, 111, 185–196.
- [256] L. Aagaard, G. Laible, P. Selenko, M. Schmid, R. Dorn, G. Schotta, S. Kuhfittig, A. Wolf, A. Lebersorger, P. B. Singh, G. Reuter, T. Jenuwein, *EMBO J.* **1999**, 18, 1923–1938.
- [257] D. O. Jones, I. G. Cowell, P. B. Singh, *Bioessays* **2000**, 22, 124–137.
- [258] J. C. Eissenberg, S. C. R. Elgin, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2000**, 10, 204–210.
- [259] S. J. Nielsen, R. Schneider, U.-M. Bauer, A. J. Bannister, A. Morrison, D. O'Carroll, R. Firestein, M. Cleary, T. Jenuwein, R. E. Herrera, T. Kouzarides, *Nature* **2001**, 412, 561–565.
- [260] T. Cheutin, A. J. McNairn, T. Jenuwein, D. M. Gilbert, P. B. Singh, T. Misteli, *Science* **2003**, 299, 721–725.
- [261] G. Wang, A. Ma, C. Chow, D. Horsley, N. R. Brown, I. G. Cowell, P. B. Singh, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, 20, 6970–6983.
- [262] E. Heard, C. Rougeulle, D. Arnaud, P. Avner, C. D. Allis, D. L. Spector, *Cell* **2001**, 107, 727–738.
- [263] B. A. Boggs, P. Cheung, E. Heard, D. L. Spector, A. C. Chinault, C. D. Allis, *Nat. Genet.* **2002**, 31, 73–76.
- [264] J. E. Mermoud, B. Popova, A. Peters, T. Jenuwein, N. Brockdorff, *Curr. Biol.* **2002**, 12, 247–251.
- [265] A. Peters, J. E. Mermoud, D. O'Carroll, M. Pagani, D. Schweizer, N. Brockdorff, T. Jenuwein, *Nat. Genet.* **2002**, 31, 77–80.
- [266] K. Plath, J. Fang, S. K. Mlynarczyk-Evans, R. Cao, K. A. Worringer, H. Wang, C. C. de la Cruz, A. P. Otte, B. Panning, Y. Zhang, *Science* **2003**, 300, 131–135.
- [267] J. Wang, J. Mager, Y. Chen, E. Schneider, J. C. Cross, A. Nagy, T. Magnusson, *Nat. Genet.* **2001**, 28, 371–375.
- [268] W. Mak, J. Baxter, J. Silva, A. E. Newall, A. P. Otte, N. Brockdorff, *Curr. Biol.* **2002**, 12, 1016–1020.
- [269] A. Kuzmichev, K. Nishioka, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, D. Reinberg, *Genes Dev.* **2002**, 16, 2893–2905.
- [270] J. Silva, W. Mak, I. Zvetkova, R. Appanah, T. B. Nesterova, Z. Webster, A. Peters, T. Jenuwein, A. P. Otte, N. Brockdorff, *Dev. Cell* **2003**, 4, 481–495.
- [271] J. Müller, C. M. Hart, N. J. Francis, M. L. Vargas, A. Sengupta, B. Wild, E. L. Miller, M. B. O'Connor, R. E. Kingston, J. A. Simon, *Cell* **2002**, 111, 197–208.
- [272] P. Avner, E. Heard, *Nat. Rev. Genet.* **2001**, 2, 59–67.
- [273] C. Maison, D. Bailly, A. Peters, J.-P. Quivy, D. Roche, A. Taddei, M. Lachner, T. Jenuwein, G. Almouzni, *Nat. Genet.* **2002**, 31, 329–334.
- [274] S. I. S. Grewal, D. Moazed, *Science* **2003**, 301, 798–802.
- [275] P. Cheung, K. G. Tanner, W. L. Cheung, P. Sassone-Corsi, J. M. Denu, C. D. Allis, *Mol. Cell* **2000**, 5, 905–915.
- [276] Z. Shao, F. Raible, R. Mollaaghatababa, J. R. Guyon, C. Wu, W. Bender, R. E. Kingston, *Cell* **1999**, 98, 37–46.
- [277] F. Lyko, R. Paro, *Bioessays* **1999**, 21, 824–832.
- [278] V. Pirrotta, *Cell* **1998**, 93, 333–336.
- [279] L. Vandel, E. Nicolas, O. Vaute, R. Ferreira, S. Ait-Si-Ali, D. Trouche, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, 20, 6484–6494.
- [280] A. Huwe, R. Mazitschek, A. Giannis, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 2170–2187; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 2122–2138.
- [281] T. Owa, H. Yoshino, K. Yoshimatsu, T. Nagasu, *Curr. Med. Chem.* **2001**, 8, 1487–1503.
- [282] E. Nicolas, C. Roumillac, D. Trouche, *Mol. Cell. Biol.* **2003**, 23, 1614–1622.
- [283] C. Seum, A. Spierer, D. Pauli, J. Szidonya, G. Reuter, P. Spierer, *Development* **1996**, 122, 1949–1956.
- [284] A. Brehm, T. Kouzarides, *Trends Genet.* **1999**, 15, 142–145.
- [285] D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2000**, 100, 57–70.
- [286] K. E. Brown, S. S. Guest, S. T. Smale, K. Hahn, M. Merkenschlager, A. G. Fisher, *Cell* **1997**, 91, 845–854.
- [287] J. Koipally, A. Renold, J. Kim, K. Georgopoulos, *EMBO J.* **1999**, 18, 3090–3100.
- [288] K. Ayyanathan, M. S. Lechner, P. Bell, G. G. Maul, D. C. Schultz, Y. Yamada, K. Tanaka, K. Torigoe, F. J. Rauscher, *Genes Dev.* **2003**, 17, 1855–1869.
- [289] M. Abrink, J. A. Ortiz, C. Mark, C. Sanchez, C. Looman, L. Hellman, P. Chambon, R. Losson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 1422–1426.
- [290] R. F. Ryan, D. C. Schultz, K. Ayyanathan, P. B. Singh, J. R. Friedman, W. J. Fredericks, F. J. Rauscher, *Mol. Cell. Biol.* **1999**, 19, 4366–4378.
- [291] J. Fang, Q. Feng, C. S. Ketel, H. Wang, R. Cao, L. Xia, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, J. A. Simon, Y. Zhang, *Curr. Biol.* **2002**, 12, 1086–1099.
- [292] B. M. Turner, A. J. Birley, J. Lavender, *Cell* **1992**, 69, 375–384.
- [293] C. A. Johnson, L. P. O'Neill, A. Mitchell, B. M. Turner, *Nucleic Acids Res.* **1998**, 26, 994–1001.
- [294] B. Sarg, E. Koutzamanli, W. Helliger, I. Rundquist, H. H. Lindner, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 39195–39201.
- [295] P. A. Jones, S. B. Baylin, *Nat. Rev. Genet.* **2002**, 3, 415–428.
- [296] J. A. Tsou, J. A. Hagen, C. L. Carpenter, I. A. Laird-Offringa, *Oncogene* **2002**, 21, 5450–5461.
- [297] K. P. Nephew, T. H. Huang, *Cancer Lett.* **2003**, 183, 125–328.
- [298] M. Szyf, *Ageing Res. Rev.* **2003**, 2, 299–328.
- [299] P. W. Laird, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, 3, 253–266.

- [300] R. L. Momparler, *Oncogene* **2003**, *22*, 6479–6483.
- [301] J. C. Rice, C. D. Allis, *Nature* **2001**, *414*, 258–261.
- [302] K. E. Bachman, B. H. Park, I. Rhee, H. Rajagopalan, J. G. Herman, S. B. Baylin, K. W. Kinzler, B. Vogelstein, *Cancer Cell* **2003**, *3*, 89–95.
- [303] J. P. Jackson, A. M. Lindroth, X. Cao, S. E. Jacobsen, *Nature* **2002**, *416*, 556–560.
- [304] B. Lehnertz, Y. Ueda, A. Derijck, U. Braunschweig, L. Perez-Burgos, S. Kubicek, T. Chen, E. Li, T. Jenuwein, A. Peters, *Curr. Biol.* **2003**, *13*, 1192–1200.
- [305] Z. Xin, M. Tachibana, M. Guggiari, E. Heard, Y. Shinkai, J. Wagstaff, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 14996–15000.
- [306] T. Hashimshony, J. Zhang, I. Keshet, M. Bustin, H. Cedar, *Nat. Genet.* **2003**, *34*, 187–192.
- [307] K. W. Makar, C. B. Wilson, *Nat. Immunol.* **2004**, *5*, 241–242.
- [308] F. Fuks, P. J. Hurd, R. Deplus, T. Kouzarides, *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 2305–2312.
- [309] A. M. Lindroth, X. Cao, J. P. Jackson, D. Zilberman, C. M. McCallum, S. Henikoff, S. E. Jacobsen, *Science* **2001**, *292*, 2077–2080.
- [310] E. Li, *Nat. Rev. Genet.* **2002**, *3*, 662–673.
- [311] H. Tamaru, X. Zhang, D. McMillen, P. B. Singh, J. Nakayama, S. I. Grewal, C. D. Allis, X. Cheng, E. U. Selker, *Nat. Genet.* **2003**, *34*, 75–79.
- [312] T. H. Bestor, *Hum. Mol. Genet.* **2000**, *9*, 2395–2402.
- [313] K. E. Bachman, M. R. Rountree, S. B. Baylin, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 32282–32287.
- [314] M. Freitag, P. C. Hickey, T. K. Khlaifallah, N. D. Read, E. U. Selker, *Mol. Cell* **2004**, *13*, 427–434.
- [315] H. H. Ng, A. Bird, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **1999**, *9*, 158–163.
- [316] P. L. Jones, G. J. Veenstra, P. A. Wade, D. Vermaak, S. U. Kass, N. Landsberger, J. Strouboulis, A. P. Wolffe, *Nat. Genet.* **1998**, *18*, 187–191.
- [317] A. El-Osta, A. P. Wolffe, *Gene Expression* **2000**, *9*, 63–75.
- [318] X. Nan, H. H. Ng, C. A. Johnson, C. D. Laherty, B. M. Turner, R. N. Eisenman, A. Bird, *Nature* **1998**, *393*, 386–389.
- [319] F. Fuks, P. J. Hurd, D. Wolf, X. Nan, A. P. Bird, T. Kouzarides, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 4035–4040.
- [320] N. Fujita, S. Watanabe, T. Ichimura, S. Tsuruzoe, Y. Shinkai, M. Tachibana, T. Chiba, M. Nakao, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 24132–24138.
- [321] H. F. Jorgensen, A. Bird, *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* **2002**, *8*, 87–93.
- [322] R. E. Amir, I. B. Van den Veyver, M. Wan, C. Q. Tran, U. Francke, H. Y. Zoghbi, *Nat. Genet.* **1999**, *22*, 185–188.
- [323] R. Klose, A. Bird, *Science* **2003**, *302*, 793–795.
- [324] W. G. Chen, Q. Chang, Y. Lin, A. Meissner, A. E. West, E. C. Griffith, R. Jaenisch, M. E. Greenberg, *Science* **2003**, *302*, 885–889.
- [325] K. Martinowich, D. Hattori, H. Wu, S. Fouse, F. He, Y. Hu, G. Fan, Y. E. Sun, *Science* **2003**, *302*, 890–893.
- [326] S. A. Sarraf, I. Stancheva, *Mol. Cell* **2004**, *15*, 595–605.
- [327] R. Hamamoto, Y. Furukawa, M. Morita, Y. Iimura, F. P. Silva, M. Li, R. Yagyu, Y. Nakamura, *Nat. Cell Biol.* **2004**, *6*, 731–740.
- [328] R. K. Mann, M. Grunstein, *EMBO J.* **1992**, *11*, 3297–3306.
- [329] F. Sorm, A. Piskala, A. Cihak, J. Vesely, *Experientia* **1964**, *20*, 202–203.
- [330] J. K. Christman, *Oncogene* **2002**, *21*, 5483–5495.
- [331] P. G. Constantinides, P. A. Jones, W. Gevers, *Nature* **1977**, *267*, 364–366.
- [332] P. A. Jones, S. M. Taylor, *Cell* **1980**, *20*, 85–93.
- [333] S. Schmidt, C. D. Pein, H. J. Fritz, D. Cech, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 2421–2426.
- [334] L. Zhou, X. Cheng, B. A. Connolly, M. J. Dickman, P. J. Hurd, D. P. Hornby, *J. Mol. Biol.* **2002**, *321*, 591–599.
- [335] J. C. Cheng, C. B. Matsen, F. A. Gonzales, W. Ye, S. Greer, V. E. Marquez, P. A. Jones, E. U. Selker, *J. Natl. Cancer Inst.* **2003**, *95*, 399–409.
- [336] A. Villar-Garea, M. F. Fraga, J. Espada, M. Esteller, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 4984–4989.
- [337] M. Z. Fang, Y. Wang, N. Ai, Z. Hou, Y. Sun, H. Lu, W. Welsh, C. Yang, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 7563–7570.
- [338] I. C. Pina, J. T. Gautschi, G.-Y.-S. Wang, M. L. Sanders, F. J. Schmitz, D. France, S. Cornell-Kennon, L. C. Sambucetti, S. W. Remiszewski, L. B. Perez, K. W. Bair, P. Crews, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3866–3873.
- [339] A. J. Boivin, L. F. Momparler, A. Hurtubise, R. L. Momparler, *Anti-Cancer Drugs* **2002**, *13*, 869–874.
- [340] J. Gagnon, S. Shaker, M. Primeau, A. Hurtubise, R. L. Momparler, *Anti-Cancer Drugs* **2003**, *14*, 193–202.
- [341] R. L. Momparler, J. Ayoub, *Lung Cancer* **2001**, *34*, S111–S115.
- [342] M. Primeau, J. Gagnon, R. L. Momparler, *Int. J. Cancer* **2003**, *103*, 177–184.
- [343] S. Shaker, M. Bernstein, L. F. Momparler, R. L. Momparler, *Leuk. Res.* **2003**, *27*, 437–444.
- [344] S. A. Belinsky, D. M. Klinge, C. A. Stidley, J. P. Issa, J. G. Herman, T. H. March, S. B. Baylin, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 7089–7093.
- [345] P. Zegerman, B. Canas, D. Pappin, T. Kouzarides, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 11621–11624.
- [346] H. H. Ng, F. Robert, R. A. Young, K. Struhl, *Mol. Cell* **2003**, *11*, 709–719.
- [347] B. D. Strahl, R. Ohba, R. G. Cook, C. D. Allis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 14967–14972.
- [348] R. Schneider, A. J. Bannister, F. A. Myers, A. W. Thorne, C. Crane-Robinson, T. Kouzarides, *Nat. Cell Biol.* **2004**, *6*, 73–77.
- [349] M. D. Litt, M. Simpson, M. Gaszner, C. D. Allis, G. Felsenfeld, *Science* **2001**, *293*, 2453–2455.
- [350] K. Noma, C. D. Allis, S. I. S. Grewal, *Science* **2001**, *293*, 1150–1155.
- [351] M. Hampsey, D. Reinberg, *Cell* **2003**, *113*, 429–432.
- [352] N. J. Krogan, J. Dover, A. Wood, J. Schneider, J. Heidt, M. A. Boateng, K. Dean, O. W. Ryan, A. Golshani, M. Johnston, J. F. Greenblatt, A. Shilatifard, *Mol. Cell* **2003**, *11*, 721–729.
- [353] B. Li, L. Howe, S. Anderson, J. R. Yates III, J. L. Workman, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 8897–8903.
- [354] T. Xiao, H. Hall, K. O. Kizer, Y. Shibata, M. C. Hall, C. H. Borchers, B. D. Strahl, *Genes Dev.* **2003**, *17*, 654–663.
- [355] M. Gerber, A. Shilatifard, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 26303–26306.
- [356] a) A. E. McBride, P. A. Silver, *Cell* **2001**, *106*, 5–8; b) C. Qui, J. Chang, Y. Zhu, A. V. Yeldandi, S. M. Rao, Y. J. Zhu, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 28624–28630.
- [357] J. Tang, J. D. Gary, S. Clarke, H. R. Herschman, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 16935–16945.
- [358] A. Frankel, S. Clarke, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 32974–32982.
- [359] F. Bachand, P. A. Silver, *EMBO J.* **2004**, *23*, 2641–2650.
- [360] A. Frankel, N. Yadav, J. Lee, T. L. Branscombe, S. Clarke, M. T. Bedford, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 3537–3543.
- [361] T. B. Miranda, M. Miranda, A. Frankel, S. Clarke, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 22902–22907.
- [362] L. Gros, C. Delaporte, S. Frey, J. Decesse, B. R. de Saint Vincent, L. Cavarec, A. Dubart, A. V. Gudkov, A. Jacquemin-Sablon, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 164–171.
- [363] J. Tang, A. Frankel, R. J. Cook, S. Kim, W. K. Paik, K. R. Williams, S. Clarke, H. R. Herschman, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 7723–7730.
- [364] B. D. Strahl, S. D. Briggs, C. J. Brame, J. A. Caldwell, S. S. Koh, H. Ma, R. G. Cook, J. Shabanowitz, D. F. Hunt, M. R. Stallcup, C. D. Allis, *Curr. Biol.* **2001**, *11*, 996–1000.
- [365] W. An, J. Kim, R. G. Roeder, *Cell* **2004**, *117*, 735–748.

- [366] D. Chen, H. Ma, H. Hong, S. S. Koh, S.-M. Huang, B. T. Schurter, D. W. Aswad, M. R. Stallcup, *Science* **1999**, 284, 2174–2177.
- [367] H. Ma, C. T. Baumann, H. Li, B. D. Strahl, R. Rice, M. A. Jelinek, D. W. Aswad, C. D. Allis, G. L. Hager, M. R. Stallcup, *Curr. Biol.* **2001**, 11, 1981–1985.
- [368] T. L. Branscombe, A. Frankel, J.-H. Lee, J. R. Cook, Z. Yang, S. Pestka, S. Clarke, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 32971–32976.
- [369] J. Rho, S. Choi, Y. R. Seong, W.-K. Cho, S. H. Kim, D.-S. Im, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 11393–11401.
- [370] L. Altschuler, J. O. Wook, D. Gurari, J. Chebath, M. Revel, *J. Interferon Cytokine Res.* **1999**, 19, 189–195.
- [371] J. Tang, P. N. Kao, H. R. Herschman, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 19866–19876.
- [372] M. T. Bedford, A. Frankel, M. B. Yaffe, S. Clarke, P. Leder, S. Richard, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 16030–16036.
- [373] K. A. Mowen, J. Tang, W. Zhu, B. T. Schurter, K. Shuai, H. R. Herschman, M. David, *Cell* **2001**, 104, 731–741.
- [374] W. J. Friesen, S. Massenet, S. Paushkin, A. Wyce, G. Dreyfuss, *Mol. Cell* **2001**, 7, 1111–1117.
- [375] F. M. Boisvert, J. Cote, M. C. Boulanger, P. Cleroux, F. Bachand, C. Autexier, S. Richard, *J. Cell Biol.* **2002**, 159, 957–969.
- [376] E. C. Shen, M. F. Henry, V. H. Weiss, S. R. Valentini, P. A. Silver, M. S. Lee, *Genes Dev.* **1998**, 12, 679–691.
- [377] C. Y. Yun, X. D. Fu, *J. Cell Biol.* **2000**, 150, 707–718.
- [378] J. Cote, F. M. Boisvert, M. C. Boulanger, M. T. Bedford, S. Richard, *Mol. Biol. Cell* **2003**, 14, 274–287.
- [379] W. J. Friesen, S. Paushkin, A. Wyce, S. Massenet, G. S. Pesiridis, G. Van Duyne, J. Rappaport, M. Mann, G. Dreyfuss, *Mol. Cell. Biol.* **2001**, 21, 8289–8300.
- [380] U. M. Bauer, S. Daujat, S. J. Nielsen, K. Nightingale, T. Kouzarides, *EMBO Rep.* **2002**, 3, 39–44.
- [381] H. Wang, Z. Q. Huang, L. Xia, Q. Feng, H. Erdjument-Bromage, B. D. Strahl, S. D. Briggs, C. D. Allis, J. Wong, P. Tempst, Y. Zhang, *Science* **2001**, 293, 853–857.
- [382] D. Cheng, N. Yadav, R. W. King, M. S. Swanson, E. J. Weinstein, M. T. Bedford, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 23892–23899.
- [383] A. G. Skillman, K. W. Maurer, D. C. Roe, M. J. Stauber, D. Eargle, T. J. Ewing, A. Muscate, E. Davioud-Charvet, M. V. Medaglia, R. J. Fisher, E. Arnold, H. Q. Gao, R. Buckheit, P. L. Boyer, S. H. Hughes, I. D. Kuntz, G. L. Kenyon, *Bioorg. Chem.* **2002**, 31, 443–458.
- [384] Y. Chinenov, *Trends Biochem. Sci.* **2002**, 27, 115–117.
- [385] W. K. Paik, S. Kim, *Arch. Biochem. Biophys.* **1974**, 165, 369–378.
- [386] P. Khanna, M. S. Jorns, *Biochemistry* **2001**, 40, 1441–1450.
- [387] M. A. Wagner, M. S. Jorns, *Biochemistry* **2000**, 39, 8825–8829.
- [388] A. J. Bannister, R. Schneider, T. Kouzarides, *Cell* **2002**, 109, 801–806.
- [389] T. H. Thatcher, J. MacGaffey, J. Bowen, S. Horowitz, D. L. Shapiro, M. A. Gorovsky, *Nucleic Acids Res.* **1994**, 22, 180–186.
- [390] V. J. Palombella, O. J. Rando, A. L. Goldberg, T. Maniatis, *Cell* **1994**, 78, 773.
- [391] E. R. Vossenaar, A. J. Zendman, W. J. van Venrooij, G. J. Pruijn, *Bioessays* **2003**, 25, 1106–1118.
- [392] Y. Zhang, *Nature* **2004**, 431, 637–639.
- [393] Y. Wang, J. Wysocka, J. Sayegh, Y.-H. Lee, J. R. Perlin, L. Leonelli, L. S. Sonnbuchner, C. H. McDonald, R. G. Cook, Y. Dou, R. G. Roeder, S. Clarke, M. R. Stallcup, C. D. Allis, S. A. Coonrod, *Science* **2004**, 306, 279–283.
- [394] G. L. Cuthbert, S. Daujat, A. W. Snowden, H. Erdjument-Bromage, T. Hagiwara, M. Yamada, R. Schneider, P. D. Gregory, P. Tempst, A. J. Bannister, T. Kouzarides, *Cell* **2004**, 118, 545–553.
- [395] R. M. Gutierrez, L. S. Hnilica, *Science* **1967**, 157, 1324–1325.
- [396] Y. Wei, C. A. Mizzen, R. G. Cook, M. A. Gorovsky, C. D. Allis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 7480–7484.
- [397] L. R. Gurley, J. A. D'Anna, S. S. Barham, L. L. Deaven, R. A. Tobey, *Eur. J. Biochem.* **1978**, 84, 1–15.
- [398] A. L. Clayton, L. C. Mahadevan, *FEBS Lett.* **2003**, 546, 51–58.
- [399] H. Goto, Y. Tomono, K. Ajiro, H. Kosako, M. Fujita, M. Sakurai, K. Okawa, A. Iwamatsu, T. Okigaki, T. Takahashi, M. Inagaki, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 25543–25549.
- [400] U. Preuss, G. Landsberg, K. H. Scheidtmann, *Nucleic Acids Res.* **2003**, 31, 878–885.
- [401] A. Van Hooser, D. W. Goodrich, C. D. Allis, B. R. Brinkley, M. A. Mancini, *J. Cell Sci.* **1998**, 111, 3497–3506.
- [402] M. J. Hendzel, Y. Wei, M. A. Mancini, A. van Hooser, T. Ranalli, B. R. Brinkley, D. P. Bazett-Jones, C. D. Allis, *Chromosoma* **1997**, 106, 348–360.
- [403] D. M. Sauve, H. J. Anderson, J. M. Ray, W. M. James, M. Roberge, *Cell Biol.* **1999**, 145, 225–235.
- [404] J. Y. Hsu, Z. W. Sun, X. Li, M. Reuben, K. Tatchell, D. K. Bishop, J. M. Grushcow, C. J. Brame, J. A. Caldwell, D. F. Hunt, R. Lin, M. M. Smith, C. D. Allis, *Cell* **2000**, 102, 279–291.
- [405] R. Giet, D. M. Glover, *J. Cell Biol.* **2001**, 152, 669–682.
- [406] C. Crosio, G. M. Fimia, R. Loury, M. Kimura, Y. Okano, H. Zhou, S. Sen, C. D. Allis, P. Sassone-Corsi, *Mol. Cell. Biol.* **2002**, 22, 874–885.
- [407] H. Goto, Y. Yasui, E. A. Nigg, M. Inagaki, *Genes Cells* **2002**, 7, 11–17.
- [408] Y. Terada, M. Tatsuka, F. Suzuki, Y. Yasuda, S. Fujita, M. Otsu, *EMBO J.* **1998**, 17, 667–676.
- [409] G. Gopalan, C. S. Chan, P. J. Donovan, *J. Cell Biol.* **1997**, 138, 643–656.
- [410] M. E. Murnion, R. R. Adams, D. M. Callister, C. D. Allis, W. C. Earnshaw, J. R. Swedlow, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 26656–26665.
- [411] F. Hans, S. Dimitrov, *Oncogene* **2001**, 20, 3021–3027.
- [412] L. Francisco, W. Wang, C. S. Chan, *Mol. Cell. Biol.* **1994**, 14, 4731–4740.
- [413] A. E. de la Barre, V. Gerson, S. Gout, M. Creaven, C. D. Allis, S. Dimitrov, *EMBO J.* **2000**, 19, 379–391.
- [414] R. R. Adams, H. Maiato, W. C. Earnshaw, M. Carmena, *J. Cell Biol.* **2001**, 153, 865–880.
- [415] D. E. MacCallum, A. Losada, R. Kobayashi, T. Hirano, *Mol. Biol. Cell* **2002**, 13, 25–39.
- [416] E. K. Speliotes, A. Uren, D. Vaux, H. R. Horvitz, *Mol. Cell* **2000**, 6, 211–223.
- [417] C. Prigent, S. Dimitrov, *J. Cell Sci.* **2003**, 116, 3677–3685.
- [418] L. C. Mahadevan, A. C. Willis, M. J. Barratt, *Cell* **1991**, 65, 775–783.
- [419] P. Allegra, R. Sterner, D. F. Clayton, V. G. Allfrey, *J. Mol. Biol.* **1987**, 196, 379–388.
- [420] T. A. Chen, V. G. Allfrey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, 84, 5252–5256.
- [421] M. J. Barratt, C. A. Hazzalin, E. Cano, L. C. Mahadevan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 4781–4785.
- [422] S. Thomson, L. C. Mahadevan, A. L. Clayton, *Semin. Cell Dev. Biol.* **1999**, 10, 205–214.
- [423] C. A. Hazzalin, E. Cano, A. Cuenda, M. J. Barratt, P. Cohen, L. C. Mahadevan, *Curr. Biol.* **1996**, 6, 1028–1031.
- [424] C. A. Hazzalin, A. Cuenda, E. Cano, P. Cohen, L. C. Mahadevan, *Oncogene* **1997**, 15, 2321–2331.
- [425] J. M. Kyriakis, J. Avruch, *Physiol. Rev.* **2001**, 81, 807–869.
- [426] J. E. Darnell, *Science* **1997**, 277, 1630–1635.
- [427] P. A. Baeuerle, D. Baltimore, *Cell* **1996**, 87, 13–20.
- [428] S. Thomson, A. L. Clayton, C. A. Hazzalin, S. Rose, M. J. Barratt, L. C. Mahadevan, *EMBO J.* **1999**, 18, 4779–4793.
- [429] J. M. English, M. H. Cobb, *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, 23, 40–45.
- [430] P. Sassone-Corsi, C. A. Mizzen, P. Cheung, C. Crosio, L. Monaco, S. Jacquot, A. Hanauer, C. D. Allis, *Science* **1999**, 285, 886–891.

- [431] M. Frodin, S. Gammeltoft, *Mol. Cell. Endocrinol.* **1999**, *151*, 65–77.
- [432] H. G. Yntema, B. van den Helm, J. Kissing, G. van Duijnhoven, F. Poppelaars, J. Chelly, C. Moraine, J. P. Fryns, B. C. Hamel, H. Heilbronner, H. J. Pander, H. G. Brunner, H. H. Ropers, F. P. Cremers, H. van Bokhoven, *Genomics* **1999**, *62*, 332–343.
- [433] I. S. Strelkov, J. R. Davie, *Cancer Res.* **2002**, *62*, 75–78.
- [434] A. Soloaga, S. Thomson, G. R. Wiggin, N. Rampersaud, M. H. Dyson, C. A. Hazzalin, L. C. Mahadevan, J. S. Arthur, *EMBO J.* **2003**, *22*, 2788–2797.
- [435] G. R. Wiggin, A. Soloaga, J. M. Foster, V. Murray-Tait, P. Cohen, J. S. Arthur, *Mol. Cell. Biol.* **2002**, *22*, 2871–2881.
- [436] M. Deak, A. D. Clifton, L. M. Lucocq, D. R. Alessi, *EMBO J.* **1998**, *17*, 4426–4441.
- [437] J. Ausio, D. B. Levin, G. V. De Amorim, S. Bakker, P. M. Macleod, *Clin. Genet.* **2003**, *64*, 83–95.
- [438] A. Hanauer, I. D. Young, *J. Med. Genet.* **2002**, *39*, 705–713.
- [439] C. Crosio, N. Cermakian, C. D. Allis, P. Sassone-Corsi, *Nat. Neurosci.* **2000**, *3*, 1241–1247.
- [440] L. M. Salvador, Y. Park, J. Cottom, E. T. Maizels, J. C. R. Jones, R. V. Schillace, D. W. Carr, P. Cheung, C. D. Allis, J. L. Jameson, M. Hunzicker-Dunn, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 40146–40155.
- [441] Y. Yamamoto, U. N. Verma, S. Prajapati, Y. T. Kwak, R. B. Gaynor, *Nature* **2003**, *423*, 655–659.
- [442] V. Anest, J. L. Hanson, P. C. Cogswell, K. A. Steinbrecher, B. D. Strahl, A. S. Baldwin, *Nature* **2003**, *423*, 659–663.
- [443] S. Zhong, C. Jansen, Q. B. She, H. Goto, M. Inagaki, A. M. Bode, W. Y. Ma, Z. Dong, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 33213–33219.
- [444] S. Zhong, Y. Zhang, C. Jansen, H. Goto, M. Inagaki, Z. Dong, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 12932–12937.
- [445] W. Fischle, Y. Wang, C. D. Allis, *Nature* **2003**, *425*, 475–479.
- [446] A. L. Clayton, S. Rose, M. J. Barratt, L. C. Mahadevan, *EMBO J.* **2000**, *19*, 3714–3726.
- [447] W. S. Lo, R. C. Trievle, J. R. Rojas, L. Duggan, J. Y. Hsu, C. D. Allis, R. Marmorstein, S. L. Berger, *Mol. Cell* **2000**, *5*, 917–926.
- [448] N. Suka, Y. Suka, A. A. Carmen, J. Wu, M. Grunstein, *Mol. Cell* **2001**, *8*, 473–479.
- [449] M. A. Shogren-Knaak, C. J. Fry, C. L. Peterson, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 15744–15748.
- [450] S. J. Nowak, V. G. Corces, *Trends Genet.* **2004**, *20*, 214–220.
- [451] S. Thomson, A. L. Clayton, L. C. Mahadevan, *Mol. Cell* **2001**, *8*, 1231–1241.
- [452] B. Lefebvre, K. Ozato, P. Lefebvre, *EMBO Rep.* **2002**, *3*, 335–340.
- [453] S. J. Nowak, V. G. Corces, *Genes Dev.* **2000**, *14*, 3003–3013.
- [454] M. E. Mirault, M. Goldschmidt-Clermont, L. Moran, A. P. Arrigo, A. Tissieres, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **1978**, *42*, 819–827.
- [455] A. Spradling, S. Penman, M. L. Pardue, *Cell* **1975**, *4*, 395–404.
- [456] Y. Jin, Y. Wang, D. L. Walker, H. Dong, C. Conley, J. Johansen, K. M. Johansen, *Mol. Cell* **1999**, *4*, 129–135.
- [457] Y. Jin, Y. Wang, J. Johansen, K. M. Johansen, *J. Cell Biol.* **2000**, *149*, 1005–1010.
- [458] Y. Wang, W. Zhang, Y. Jin, J. Johansen, K. M. Johansen, *Cell* **2001**, *105*, 433–443.
- [459] M. Labrador, V. G. Corces, *Genes Dev.* **2003**, *17*, 43–48.
- [460] R. Festenstein, S. N. Pagakis, K. Hiragami, D. Lyon, A. Verreault, B. Sekkali, D. Kioussis, *Science* **2003**, *299*, 719–721.
- [461] S. J. Nowak, C. Y. Pai, V. G. Corces, *Mol. Cell. Biol.* **2003**, *23*, 6129–6138.
- [462] C. M. Pickart, *Cell* **2004**, *116*, 181–190.
- [463] I. L. Goldknopf, H. Busch, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 864–868.
- [464] J. Adams, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4*, 349–360.
- [465] A. Hershko, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 15237–15240.
- [466] A. F. Kisselev, A. L. Goldberg, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 739–758.
- [467] L. Sun, Z. J. Chen, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2004**, *16*, 119–126.
- [468] L. A. Passmore, D. Barford, *Biochem. J.* **2004**, *379*, 513–525.
- [469] K. Robzyk, J. Recht, M. A. Osley, *Science* **2000**, *287*, 501–504.
- [470] A. W. Thorne, P. Sautiere, G. Briand, C. Crane-Robinson, *EMBO J.* **1987**, *6*, 1005–1010.
- [471] M. A. Osley, *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1677*, 74–78.
- [472] C. Hoege, B. Pfander, G. L. Moldovan, G. Pyrowolakis, S. Jentsch, *Nature* **2002**, *419*, 135–141.
- [473] B. Bartel, I. Wunning, A. Varshavsky, *EMBO J.* **1990**, *9*, 3179–3189.
- [474] R. E. Johnson, S. T. Henderson, T. D. Petes, S. Prakash, M. Bankmann, L. Prakash, *Mol. Cell. Biol.* **1992**, *12*, 3807–3818.
- [475] V. Bailly, S. Lauder, S. Prakash, L. Prakash, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 23360–23365.
- [476] C. A. Joazeiro, A. M. Weissman, *Cell* **2000**, *102*, 549–552.
- [477] H. H. Ng, S. Dole, K. Struhl, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 33625–33628.
- [478] A. Wood, J. Schneider, J. Dover, M. Johnston, A. Shilatifard, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 34739–34742.
- [479] E. M. Bradbury, *BioEssays* **1992**, *14*, 9–16.
- [480] R. L. Seale, *Nucleic Acids Res.* **1981**, *9*, 3151–3158.
- [481] R. S. Wu, K. W. Kohn, W. M. Bonner, *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 5916–5920.
- [482] I. L. Goldknopf, S. Sudhakar, F. Rosenbaum, H. Busch, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *95*, 1253–1260.
- [483] A. Y. Amerik, S. J. Li, M. Hochstrasser, *Biol. Chem.* **2000**, *381*, 981–992.
- [484] K. W. Henry, A. Wyce, W. S. Lo, L. J. Duggan, N. C. Emre, C. F. Kao, L. Pillus, A. Shilatifard, M. A. Osley, S. L. Berger, *Genes Dev.* **2003**, *17*, 2648–2663.
- [485] S. D. Briggs, T. Xiao, Z. W. Sun, J. A. Caldwell, J. Shabanowitz, D. F. Hunt, C. D. Allis, B. D. Strahl, *Nature* **2002**, *418*, 498.
- [486] J. Dover, J. Schneider, M. A. Tawiah-Boateng, A. Wood, K. Dean, M. Johnston, A. Shilatifard, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 28368–28371.
- [487] Z. W. Sun, C. D. Allis, *Nature* **2002**, *418*, 104–108.
- [488] H. H. Ng, R.-M. Xu, Y. Zhang, K. Struhl, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 34655–34657.
- [489] A. Buchberger, *Trends Cell Biol.* **2002**, *12*, 216–221.
- [490] G. Prag, S. Misra, E. A. Jones, R. Ghirlando, B. A. Davies, B. F. Horazdovsky, J. H. Hurley, *Cell* **2003**, *113*, 609–620.
- [491] R. S. Kang, C. M. Daniels, S. A. Francis, S. C. Shih, W. J. Salerno, L. Hickie, I. Radhakrishnan, *Cell* **2003**, *113*, 621–630.
- [492] F. Melchior, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2000**, *16*, 591–626.
- [493] J.-S. Seeler, A. Dejean, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 690–699.
- [494] R. T. Hay, *Trends Biochem. Sci.* **2001**, *26*, 332–333.
- [495] S. Müller, A. Ledl, D. Schmidt, *Oncogene* **2004**, *23*, 1998–2008.
- [496] Y. Shiio, R. N. Eisenman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 13225–13230.
- [497] D. Nathan, D. E. Stern, S. L. Berger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 13118–13120.
- [498] S.-H. Yang, A. D. Sharrocks, *Mol. Cell* **2004**, *13*, 611–617.
- [499] J.-C. Amé, E. L. Jacobson, M. K. Jacobson in *From DNA Damage and Stress Signalling to Cell Death – Poly ADP-Ribosylation Reactions* (Hrsg.: G. de Murcia, S. Shall), Oxford University Press, New York, **2000**, S. 1–34.
- [500] P. O. Hassa, M. O. Hottinger, *Cell. Mol. Life Sci.* **2002**, *59*, 1534–1553.
- [501] D. D'Amours, S. Desnoyers, I. D'Silva, G. G. Poirier, *Biochem. J.* **1999**, *342*, 249–268.
- [502] V. Rolli, A. Ruf, A. Augustin, G. E. Schulz, J. Ménissier-de Murcia, G. de Murcia, G. Pyrowolakis in *From DNA Damage and Stress Signalling to Cell Death – Poly ADP-Ribosylation Reactions* (Hrsg.: G. de Murcia, S. Shall), Oxford University Press, New York, **2000**, S. 35–79.

- [503] W. L. Kraus, J. T. Lis, *Cell* **2003**, *113*, 677–683.
- [504] J. Griesenbeck, M. Ziegler, N. Tomilin, M. Schweiger, S. L. Oei, *FEBS Lett.* **1999**, *443*, 20–24.
- [505] A. Huletsky, G. de Murcia, S. Muller, M. Hengartner, L. Menrad, D. Lamarre, G. G. Poirier, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 8878–8886.
- [506] A. Tulin, A. Spradling, *Science* **2003**, *299*, 560–562.
- [507] A. Tulin, D. Stewart, A. C. Spradling, *Genes Dev.* **2002**, *16*, 2108–2119.
- [508] L. Davidovich, M. Vodenicharov, E. B. Affar, G. G. Poirier, *Exp. Cell Res.* **2001**, *268*, 7–13.
- [509] A. Vaquero, A. Loyola, D. Reinberg, *Sci. Aging Knowledge Environ.* **2003**, *14*, RE4.
- [510] W. L. Kraus, J. Wong, *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 2275–2283.
- [511] N. Malik, M. Smulson, *Biochemistry* **1984**, *23*, 3721–3725.
- [512] A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1303–1326; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244–1267.
- [513] a) S. Kubicek, T. Jenuwein, *Cell* **2004**, *119*, 903–906; b) Y. Shi, F. Lan, C. Matson, P. Mulligan, J. R. Whetstine, P. A. Cole, R. A. Casero, Y. Shi, *Cell* **2004**, *119*, 941–953.
- [514] F. Forneris, C. Binda, M. A. Vanori, A. Mattevi, E. Battaglioli, *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 2203–2207.
- [515] J.-H. Lee, J. R. Cook, Z. H. Yang, O. Mirochnitchenko, S. L. Gunderson, A. M. Felix, N. Herth, R. Hoffmann, S. Pestka, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 3656–3664.
- [516] R. E. Collins, M. Tachibana, H. Tamaru, K. M. Smith, D. Jia, X. Zhang, E. U. Selker, Y. Shinkai, X. Cheng, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 5563–5570.
- [517] J. Dai, S. Sultan, S. S. Taylor, J. M. Higgins, *Genes Dev.* **2005**, *19*, 472–488.
- [518] Z. He, Y. Y. Cho, W. Y. Ma, H. S. Choi, A. M. Bode, Z. Dong, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 2446–2456.
- [519] H. S. Choi, B. Y. Choi, Y. Y. Cho, F. Zhu, A. M. Bode, Z. Dong, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 13545–13553.
- [520] K. Balasubramanyam, R. A. Varier, M. Altaf, V. Swaminathan, N. B. Siddappa, U. Ranga, T. K. Kundu, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 51163–51173.
- [521] K. Ingvarsdotir, N. J. Krogan, N. C. Emre, A. Wyce, N. J. Thompson, A. Emili, T. R. Hughes, J. F. Greenblatt, S. L. Berger, *Mol. Cell Biol.* **2005**, *25*, 1162–1172.
- [522] N. C. Emre, K. Ingvarsdotir, A. Wyce, A. Wood, N. J. Krogan, K. W. Henry, K. Li, R. Marmorstein, J. F. Greenblatt, A. Shilatifard, S. L. Berger, *Mol. Cell.* **2005**, *17*, 585–594.
- [523] M. Y. Kim, S. Mauro, N. Gevry, J. T. Lis, W. L. Kraus, *Cell* **2004**, *119*, 735–736.