

Molekularna genetika - budućnost onkologije

Molecular Genetics - the Future of Oncology

Boris Labar

Zavod za hematologiju KBC Rebro

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

10000 Zagreb, Kišpatićeva 12

Sažetak U radu su prikazane nove spoznaje o mehanizmu nastanka zloćudnih tumora na molekularnoj razini. Raspravlja se o onkogenima koji mogu mijenjati signalni put stimulacije rasta stanice od receptora na membrani preko unutarstaničnoga signalnog puta do transkripcijskih faktora jezgre. Nesvrhoviti tumorski rast može biti posljedica i poremećene funkcije tumorski supresorskih gena i apoptoze. U drugom dijelu rada naglašene su velike mogućnosti molekularnih tehnika u dijagnostici zloćudnih tumora. Posebice se naglašava tehnika genskih čipova koja predočuje gensku ekspresiju. Preliminarni rezultati pokazuju da nove tehnike genske ekspresije mogu značajno unaprijediti klasifikaciju zloćudnih tumora. Molekularna klasifikacija primarno polazi od prognoze bolesti. Jedan od primjera vrijednosti molekularne klasifikacije je podjela difuznih B-velikostaničnih limfoma. Tehnikom genskih čipova ti limfomi pokazuju dvije slike različite prognoze.

Ključne riječi: onkogeni, tumorski supresorski geni, apoptoza, tehnika genskih čipova

Summary New insights of molecular mechanisms on the biology of cancer are reported. The possible mechanism and disturbance of signaling pathways for cell growth important for cancer transformation is discussed. Perturbations and oncogene mutations of signal transduction in cancer disturbance might be changed by the cell membrane receptor, intracellular signaling and nuclear transcriptional factors. Mutation of tumor suppressor genes and deregulation of apoptosis are also important in cancerogenesis. In the second part of the text the new molecular techniques important for diagnosis and prognosis of cancer are described. cDNA microarrays are a new tool to analyze gene expression patterns in human cancer. Molecular classification of tumors into general categories of gene expression can potentially identify previously undetected and clinically significant subtypes of cancer. The first major clinical correlation of gene expression patterns with disease outcome was documented in diffuse large B-cell lymphoma. By gene-chip arrays this lymphoma is divided into two molecularly distinct forms with different survival.

Key words: oncogenes, tumor suppressor genes, apoptosis, gene-chip arrays

Zloćudni tumori su bolesti gena. Zloćudni rast je posredovan nesvrhovitim poticanjem rasta (onkogeni) ili blokadom negativnih metaboličkih procesa (supresorski geni). Brojni su čimbenici spoznati u patogenezi zloćudnih tumora, od nasljednih te iznimno važnih somatskih genskih promjena. Da bi se genske promjene klinički očitovale, treba u prosjeku 5 do 20 godina.

Za onkologiju je od iznimne važnosti spoznaja sekvence humanoga genoma (1). No to je tek početak. Tek sada nas čeka velik posao. Treba spoznati funkciju velikog broja gena. U zloćudnih tumora treba saznati koji su geni zahvaćeni i promijenjeni. Usto važno je spoznati interakciju i ekspresiju gena u niza bolesnih stanja. Tek je 2% bolesti u čovjeka po svojoj prirodi monogeno (uzrokovano promjenom jednoga gena). Ostatak od 98% bolesti je ili poligen (istodobno uzrokovano promjenom više gena) ili epigen (uzrokovano negenskim ili postgenskim poremećajima staničnih molekula) (2). Da bismo spoznali mehanizme nastanka i uzroke raka i njegove progresije, potrebno je vrlo objektivnim metodama ispitati sekvencu DNK, odrediti i pratiti ekspresiju glasničke RNK, sekvenciju proteina, ispitati lokalizaciju proteina

te odrediti metabolički i fiziološki profil stanice. Čeka nas mukotrpan posao određivanja normale humanoga genskog poliformizma koji je određen varijacijama u sekvenci baza genoma. Tek tada ćemo imati polaznu točku za usporedbu genske različitosti normalnoga od bolesti. Za potpuno razumijevanje molekularne osnove raka nuždan je multidisciplinarni pristup koji uključuje genetiku, patologiju, strukturu i funkciju proteina, staničnu biologiju i kliničku medicinu.

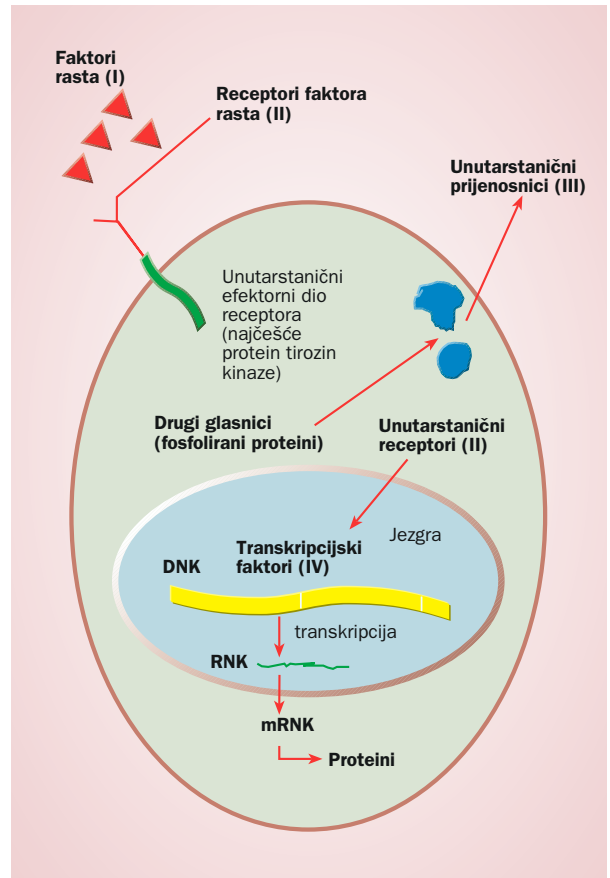
Onkogeneza i onkogeni

Jedan od najvažnijih mehanizama nesvrhovitog tumorskog rasta stanice je mutacija onkogeni. Onkogeni su geni koji mogu potaknuti nesvrhoviti rast stanica, što je temeljna značajka zloćudnoga tumorskog bujanja. Kako i zašto mutacija uzrokuje rak? Većina mutacija mijenja stabilnost genoma. Time se sprječava popravak oštećenih gena, što je jedan od važnih zaštitnih kontrolnih mehanizama očuvanja genske strukture. Takav je genom osjetljiv za mnoge nove događaje i promjene, što može

pogoditi neke od gena koji kontroliraju rast, što ima za posljedicu nesvrhovito tumorsko bujanje. Onkogeneza može nastupiti unutar kaskade metaboličkih procesa i putova koji kontroliraju i reguliraju rast stanice. Metabolički put uključuje stimulaciju receptora na površini stanica izvanjskim faktorom nazvanim faktor rasta. Aktivacijom receptora podražaj se širi unutarstaničnim metaboličkim putovima koji s pomoću transkripcijskih faktora stimuliraju aktivaciju određenih gena u jezgri, njihovu transkripciju, a preko glasničke RNK stimulira se sinteza proteina važnih za stanični rast. Moguća ciljna mjesta metaboličkog puta rasta na kojima može nastupiti onkogeneza prikazuje slika 1. Jedno od važnih ciljnih mjesta su receptori. Površinski receptori su "prozori u svijet" stanice. Preko receptora podražaj se prenosi iz okoliša u stanicu. Većina receptora je svrstana u jednu od tri skupine. Prva skupina receptora je obitelj homolognih transmembranskih proteina. Ti su receptori enzimi, tj. tirozin-specifične proteinske kinaze (3). Oni prenose signal preko ionskih kanala. Aktivirani su faktorom rasta koji također djeluje kao enzim. Većina tih receptora kao transmembranski proteini posjeduju citoplazmatski dio koji "prihvaća" signal što dolazi izvan stanice te ga tako prenosi u unutrašnjost stanice. Najbolje je primjerom približiti funkciju receptora i utjecaj na zloćudni rast. Tipičan primjer su receptori epidermalnog faktora rasta (EGFR - epidermal growth factor receptor) (4). Jedan od receptora te obitelji ERB2/Neu važan je u biologiji tumora dojke. Njegovom se mutacijom aktivira RET-onkogen i zajedno s pojačanim izražavanjem MET-protoonkogeneza uzrokuje povećanu pokretljivost i pojavu udaljenih metastaza u raka dojke.

U suprotnom slučaju, tj. u slučaju normalne funkcije tog signalnog puta nema aktivacije onkogeneza pa je suprimiran rast i onkogeneza stanica. To znači da tek mutacijom, tj. inaktivacijom receptora stanica postaje osjetljiva za transformaciju.

Većina transmembranskih receptora druge skupine prenosi signal mehanizmom kontrolirane fosforilacije unutarstaničnih supstrata, najčešće tirozina, serina ili treonina koji funkcioniraju kao signalno mjesto u unutarstaničnoj metaboličkoj mreži (5). Kontrola procesa fosforilacije i defosforilacije čini se da je na razini stanice ključan događaj u oslobađanju signala, njegovu pojačanju i time regulaciji metaboličkih procesa. Promjenom konformacije receptora mijenja se i funkcija fosforiliranog proteina. Bilo koji dio kaskade signalnog puta može biti ciljno mjesto mutacije s onkogenim potencijalom. U treću obitelj receptora ubrajaju se G-proteini (6). Oni posredno ili neposredno aktiviraju određene enzime vezane na membranu ili ionske kanale. Pri tome se aktivira kaskadni put unutarstaničnih glasnika. Važni unutarstanični glasnici koji sudjeluju u aktivaciji ciljnih proteina u stanici su kalcijevi ioni, ciklički adenzin monofosfat i fosfolipidi. Funkcija G-proteina je i povezivanje dvaju membranskih receptora. G-protein je prijenosnik signala s enzimskog receptora na koji se veže izvanstanični faktor rasta. Pri tome nastaje konformacijska promjena receptora što prepoznaje G-protein i veže se za stimulirani receptor. Veza- njem se G-protein aktivira pri čemu nastaje gvanozin-trifosfat (GTP) iz gvanozin-difosfata (GDP). Potom se G-protein



Slika 1. Moguća ciljna mjesta na kojima može početi karcinogeneza. Temeljem toga onkogeni su podijeljeni u razrede: faktori rasta (I), receptori (II), prijenosnici signala (III) i faktori koji sudjeluju u regulaciji gena (IV)

veže s unutrašnje strane membrane za drugi membranski protein adenilat ciklazu čime je aktivira. Adenilat ciklaza u aktiviranom stanju cijepa adenzin-trifosfat (ATP) u ciklički adenzin-monofosfat i anorganski fosfat. Neposredno nakon aktivacije adenilat ciklaze, hidrolizira se GTP G-proteina u GDP. U zloćudnih tumora G-proteini onkogenog potencijala su N-ras, K-ras i H-ras (7). Mutacije ras-proteina imaju za posljedicu gubitak GTP-azne aktivnosti. U tom slučaju G-protein ne može cijepati aktivni GTP-oblik u inaktivni GDP-oblik. Promijenjeni ras-protein stalno je "uključen" i stimulira adenilat ciklazu. Posljedica je, čini se, stalna stimulacija stanične proliferacije i povećane stanične pokretljivosti, što su temeljne značajke zloćudnoga tumorskog rasta.

Unutarstanične kinaze koje ne prenose signal kroz staničnu membranu nego unutar stanice jednako su važne u procesu onkogeneze. Tako su ABL-kinaze aktivirane kod bcr-abl translokacije (8). Ova translokacija t (9;22) poznata kao filadelfijski kromosom (Philadelphia-Pht), značajka je kronične mijeloične leukemije, a opisuje se i u 30% akutnih limfocitnih leukemija. Proteinska tirozin-kinaza koju kontrolira bcr-abl onkogen stalno je aktivna, pa je i stalan signal za rast tog klona stanica. Stanice su stalno u fazi diobe pa značajno povećavaju broj leukocita.

Tablica 1. Važniji onkogeni

Razred/Naziv	Onkogen i bolest	Stanična lokalizacija	Priroda proteina
I. Faktor rasta Sis		Sekretorni	oblik PDGF
II. Receptori Receptori s protein-tirozin kinaznom aktivnosti Fms erbB neu (ili erbB-2) ros Unutarstanični receptori ErbA	neuroblastom	membrana membrana membrana membrana jezgra	receptor CSF-1 EGF-receptor sličan EGFR sličan inzulinskom receptoru receptor hormona štitnjače
III. Unutarstanični prijenosnici Protein-tirozinska kinaza Src yes fps(fes) abl met Protein-serin/treoninske kinaze Mos raf(mil) Ras-proteini Ha-ras Ki-ras N-ras Fosfolipaza-C slični Crk	kronična mijeloična leukemija mišji osteosarkom mokraćni mjehur, dojka, koža pluća, kolon neuroblastom, leukemije	citoplazma citoplazma citoplazma citoplazma i jezgra citoplazma membrana membrana membrana citoplazma	PK (fosforilacija tirozinskog ostatka) PK (specifične za serin ili treonin) Protein koji veže gvanin s djelovanjem GTP-aza Homologni s fosfolipaza-C
IV. Transkripcijski faktori jezgre Jun fos myc N-myc Myb ski p53 rel RB	osteosarkom neuroblastom leukemija retinoblastom	jezgra jezgra jezgra jezgra jezgra jezgra jezgra jezgra i citoplazma jezgra	transkripcijski faktor AP-1 proteini koji sudjeluju u regulaciji transkripcije antionkogen koji se veže za onkogene proteine DNK virusa

Promjene na razini membranskih i citoplazmatskih molekula koje sudjeluju u signalnom putu značajno mijenjaju staničnu transkripciju aktivacijom faktora transkripcije (slika 1). Onkogeneza može nastupiti i na razini transkripcijskih faktora u jezgri. Već opisanim signalnim putovima transkripcijski faktori se posredno mogu aktivirati. No njihovom mutacijom mogu se neposredno aktivirati i tako podupirati zloćudni rast. Primjeri takve nesvrhovite aktivacije su onkogeni Myc, MLL i AML1 (9). Važnije onkogene predočuje tablica 1.

Tumorski supresorski geni

Druga skupina gena raka su tumorski supresorski geni. Potiču nesvrhoviti rast supresijom ili gubitkom vlastite funkcije. To su gen retinoblastoma (Rb-1) i p53 (10). Oba blokiraju staničnu proliferaciju različitim mehanizmom. Rb-1 regulira važan transkripcijski faktor E2F, tj. suprimira njegovo djelovanje. Delecijom Rb-1 prestaje supresija za E2F, što ima za posljedicu pojačanu diobu i

rast stanica. Gen p53 povećava ekspresiju supresora regulacijskih kinaza staničnog ciklusa (kinaze ovisne o ciklinu). Aktivacija tih kinaza je nužna za progresiju stanice tijekom staničnog ciklusa. Inhibitori tih kinaza, kao što je p53, blokiraju taj proces. Prema tome će gubitak p53 i značajno smanjenje supresorske regulacije kinaze staničnog ciklusa dovesti do nesvrhovite i nekontrolirane progresije stanica u i kroz stanični ciklus. Za razliku od onkogeno prisutnost mutacija na samo jednom od alela nije dovoljna za nastanak raka. Potrebna je inaktivacija obaju alela kako bi stanica bila u stalnoj diobi. Humani papilomavirus inhibira oba gena tako da se ili veže za njih ili posreduje inhibiciju preko svojih proteina. Time dovodi do sličnog učinka kao i inaktivirajuća mutacija gena. U raka debelog crijeva promjena gena p53 često je udružena s drugim genskim promjenama kao što su one koje kontroliraju citoskeletno ustrojstvo, prijenos signala i staničnu pokretljivost, što je važno za prijelaz tumora u agresivni, invazivni oblik. Za tumorske supresorske gene u karcinogenezi vrijedi: gubitak njihove funkcije praćen je progresijom raka.

Postoje i drugi supresorski geni, inhibitori enzima koji kontroliraju progresiju stanice preko staničnog ciklusa. Ti su enzimi stimulirani ciklinima pa se nazivaju kinaze ovisne o ciklinima (CDK) (11). Supresorski geni su inhibitori CDK. Poremećaj, tj. smanjena ekspresija i funkcija inhibitora CDK (p16, p27 i p57), opisuje se u različitim zloćudnih tumora od raka pluća, zloćudnih tumora glave i vrata, raka dojke i gušterače do melanoma. Gubitak obaju alela za p16 značajka je primarnoga malignog melanoma. Stoga inhibitori CDK održavaju normalnu funkciju stanice kontrolirajući i regulirajući staničnu proliferaciju te se prekidom njihove inhibitorne funkcije razvija zloćudno tumorsko bujanje.

Programirana smrt stanica (apoptoza)

Nakupljanje matičnih stanica nije samo posljedica nesvrhovite proliferacije. Stanice se mogu nakupljati i zbog smanjenog gubitka. Postoji sve više pokazatelja da je smanjeni ili potpuni izostanak programirane stanične smrti (apoptoze) važan mehanizam zloćudne preobrazbe. Poznati su fiziološki stanični procesi koji stimuliraju apoptozu. Ovdje su navedeni samo najčešći. Programiranu smrt stanice može stimulirati faktor nekroze tumora, potom manjak ili nedostatak interleukina 3 te oštećenje DNK (12). Nakon početnog stimulusa slijedi kaskadna reakcija čiji je krajnji cilj aktivacija unutarstaničnih proteaza. Aktivirane proteaze cijepaju stanične komponente posebice proteine i DNK, što rezultira propadanjem stanice. Svaka stanica posjeduje vrlo dobar kontrolni mehanizam ovog procesa kojim potiče ili blokira apoptozu. Čini se da su neka od kontrolnih mjesta važna za nastanak raka i njegovo liječenje. Onkogen koji mijenja apoptozu je bcl-2 (13). On je često prisutan u folikularnih limfoma s translokacijom t(14;18). Pojačanom ekspresijom bcl-2 blokira apoptozu. Opisana promjena gena za bcl-2 vrlo je

rani događaj u nastanku folikularnih limfoma. Stanice s promjenom bcl-2 značajno dulje žive pa se nakupljaju. No u eksperimentalnih limfoma bcl-2 nije dovoljan da potakne zloćudni rast. Da bi se uz ovu mutaciju bolest klinički očitovala, nužne su mutacije drugih onkogeno. Tako je u ovih limfoma prisutna mutacija c-myc-onkogeno, što uzrokuje ubrzanu progresiju limfoma (14). Upravo ova suradnja onkogeno upućuje na jedno od važnih načela onkogeneze - potrebna je promjena u više od jednog gena raka da bi nastupilo zloćudno bujanje. Danas su poznati i drugi proteini slični bcl-2. Bcl-X1 kao i bcl-2 suprimira apoptozu. Pojačana ekspresija bax, bak, bcl-Xs i BAD potiče apoptozu (15). Odnos aktivnosti proapoptotičkih i antiapoptotičkih faktora određuje hoće li i kada stanica ući u apoptozu. Važno je naglasiti da upravo taj odnos bitno određuje odgovor stanica raka na zračenje i kemoterapiju. Neki od faktora rasta također mogu sudjelovati u procesu apoptoze. Tako neke receptorske kinaze kao što je receptor za PDGF stimuliraju kinaze koje fosforilacijom omogućuju da stanica funkcionira i živi, jer inaktiviraju proapoptotički protein BAD.

Jedna od temeljnih značajki raka je sposobnost stvaranja i održavanja novonastalih genskih mutacija. Normalne stanice imaju sposobnost prepoznavanja i brzog popravka oštećenih mjesta DNK, te sprječavaju ekspanziju stanica-kćeri s mutacijom, mehanizmom apoptoze. Postoji sve više pokazatelja da je poremećaj u popravku DNK povezan s povećanom učestalosti raka. Jedan od primjera je nasljedni rak debelog crijeva koji pokazuje manjkav popravak nepodudarnih dijelova DNK. Što to znači? U tih je tumora nađen višak ili manjak dvaju nukleotidnih parova. Ova promjena posljedica je nemogućnosti popravka krivo sparenih nukleotida pri čemu nastaje DNK dupleks. U slučajevima krive ugradnje nukleotida ili oštećenja jezgre, zdrava stanica rabi tzv. nepodudarni sustav popravka koji brzo "locira" manje vrijedno mjesto i odstranjuje nepodudarni dio. Prepoznavanje i odstranjenje posreduje niz proteina kao što su MSH2, MSH3, MSH6, MLH1 i drugi (16). U nasljednog raka debelog crijeva nađene su mutacije MSH2 i MLH1 (17). U tog je raka prognoza znatno bolja od prognoze sporadičnoga jer su u prvog znatno rjeđe prognostički nepovoljne mutacije gena ras i p53.

Nove mogućnosti dijagnostike raka

Svrha molekularnog profila raka jest odrediti ekspresiju one skupine gena koji su u korelaciji ili su uzročno povezani s razvojem i progresijom raka. Većina zloćudnih tumora, osim manje skupine nasljednih, može nastati u tkivu koje u početku ima potpuno normalan genom. Prvi karcinogeni događaj dovodi do genske promjene koja pokazuje mikroskopsku premalignu fazu poput hiperplazije ili displazije nakon čega se s vremenom i drugim genskim promjenama razvija jasna slika raka.

Nema kliničkog onkologa koji ne prepozna biologiju različitost zloćudnih tumora. Za isti tip tumora (kako ga danas dijagnosticiramo) razlike mogu biti goleme. Svi patolozi koji se bave onkologijom potpuno su svjesni

velike histološke različitosti zloćudnih tumora. Valja pretpostaviti da je mikroskopska morfološka slika vanjsko očitovanje molekularnih promjena koje nastaju unutar stanica tumora. Molekularni onkolozi sve hrabrije tvrde da je morfološka i klinička raznolikost raka zrcalni odraz i posljedica molekularne različitosti stanica raka. Stoga je od iznimne važnosti što prije učiniti primjenjivim vrlo zahtjevne molekularne tehnike koje će objektivno odrediti i pratiti panel gena i njihovu ekspresiju. Cilj ispitivanja panela je odrediti i „prepoznati“ molekularnu sliku tumora kako za dijagnozu tih bolesti tako i za molekularnu podjelu zloćudnih tumora (18). U posljednje vrijeme značajno se razvila tehnika genskih čipova koja predočuje sliku genske ekspresije (19). Promjene u toj slici uspoređuju se s histomorfologijom, kliničkim ponašanjem tumora te s odgovorom na liječenje. Tom se tehnikom genska ekspresija preko oligonukleotidnih lanaca prikazuje kao točke u redovima minijaturnog silikonskog čipa ili na nitrocelulozi. Sam postupak zahtijeva prvo ekstrakciju RNK iz tumorskog tkiva, koja se potom amplificira i označi fluorescentnom radioaktivnom probom. Označena ukupna RNK sadržava i glasničku RNK (odražava razinu ekspresije gena). Ona se nanosi na površinu čipa ili nitrocelulozu. Nakon hibridizacije prati se intenzitet signala za svaku točku, što je mjerilo količine glasničke RNK, a time razine ekspresije odgovarajućeg gena. Do danas je na ovaj način provedeno

ispitivanje u više od 60 staničnih linija raka (20). Početni rezultati ohrabruju jer specifična slika ekspresije gena staničnih linija dobro korelira s brzinom rasta stanica u kulturi. Genska ekspresija se može određivati iz RNK koja se dobije ekstrakcijom iz dijelova tkiva raka. Genska ekspresija značajno varira među različitim tipovima raka. Jedna od prvih važnijih kliničkih korelacija slike genske ekspresije sa zloćudnim tumorskim bolestima opisana je u difuznog B-limfoma velikih stanica (21). Ova najčešća skupina ne-Hodgkinovih limfoma klinički je izrazito heterogena. Oko 40% bolesnika vrlo dobro reagira na liječenje i dugo živi, dok 60% umire zbog osnovne bolesti. Ove razlike u ishodu liječenja koreliraju, tj. posljedica su različite slike genske ekspresije. Dva molekularno različita oblika difuznog B-limfoma velikih stanica dokazana su molekularnom tehnikom određivanja DNK-područja. U prvog slika genske ekspresije govori za nezrele B-stanice u različitim fazama diferencijacije. Drugi tip genske ekspresije slika je koja se vidi pri *in vitro* aktivaciji perifernih B-limfocita. Bolesnici s prvim tipom, tj. s difuznim limfomom velikih B-stanica germinalnog centra pokazuju znatno bolju prognozu od drugog tipa. Ovi preliminarni rezultati jasan su pokazatelj moguće molekularne klasifikacije zloćudnih tumora prema genskoj ekspresiji. Time će se možda bolje i točnije odrediti neki podtipovi tumora koji se prije molekularne ere nisu mogli odrediti.

Literatura

- MURRAY RW. The Human Genome Project - and beyond. Analytical Chemistry News and Features 1999, May 1:292.
- HANCOCK W, APFFEL A, CHAKEL J, et al. Integrated genomic/proteomic analysis. Analytical Chemistry 1999;71:743.
- HUNTER T. Signaling-2000 and Beyond. Cell 2000;100:113.
- HACKEL PO, ZWICK E, PRENZEL N, et al. Epidermal growth factor receptors critical mediators of multiple receptor pathways. Curr Opin Cell Biol 1999;11:184.
- MOTOUSSAMY S, KELLY PA, FINIDORI J. Growth-hormone-receptor and cytokine-receptor-family signaling. Eur J Biochem 1998;255:1.
- HAMM HE. The many faces of G protein signaling. J Biol Chem 1998;273:669.
- VOJTEK AB, DER CJ. Increasing complexity of the Ras signaling pathway. J Biol Chem 1998;273:19925.
- ZOU X, CALAME K. Signaling pathways activated by oncogenic forms of Abl tyrosine kinase. Minireview. J Biol Chem 1999;274:18141.
- RAO A, LUO C, HOGAN PG. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. Annu Rev Immunol 1997;15:707.
- O'CONNOR PM, JACKMAN J, BAE I, et al. Characterization of the p53 tumor suppressor pathway in cell lines of the National Cancer Institute Anticancer Drug Screen and correlations with the growth-inhibitory potency of 123 anticancer agents. Cancer Res 1997;57:4285.
- SCHILLACE RV, SCOTT JD. Organization of kinases, phosphatases, and receptor signaling complexes. J Clin Invest 1999;103:761.
- ASHKENAZI A, DIXIT VM. Apoptosis control by death and decoy receptors. Curr Opin Cell Biol 1999;11:255.
- GROSS A, McDONELL JM, KORSMEYER SJ. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis. Genes Dev 1999;13:1899.
- BHATIA K, HUPPI K, SPANGLER G, et al. Point mutations in the c-MYC transactivation domain are common in Burkitt's lymphoma and mouse plasmacytoma. Nat Genet 1993;5:56.
- ZHA J, HARADA H, YANG E, JOCKEL J, KORMEYER SJ. Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not BCL-L. Cell 1996;87:619.
- STILLMAN B. Smart machines at the DNA replication fork. Cell 1994;78:725.
- KINZLER KW, VOGELSTEIN B. Lessons from hereditary colorectal cancer. Cell 1996;87:159.
- GOLUB TR, SLONIM DK, TAMAYO P, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. Science 1999;286:531.
- DeRISI J, PENLAND L, BROWN PO, et al. Use of a cDNA microarray to analyze gene expression patterns in human cancers. Nat Genet 1996;14:457.
- PEROU CM, JEFFREY SS, Van De RIJN M, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:9212.
- ALIZADEH AA. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature 2000;403:503.