

ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΩΘΗΚΩΝ: ΓΟΝΙΔΙΑ BRCA1 ΚΑΙ BRCA2

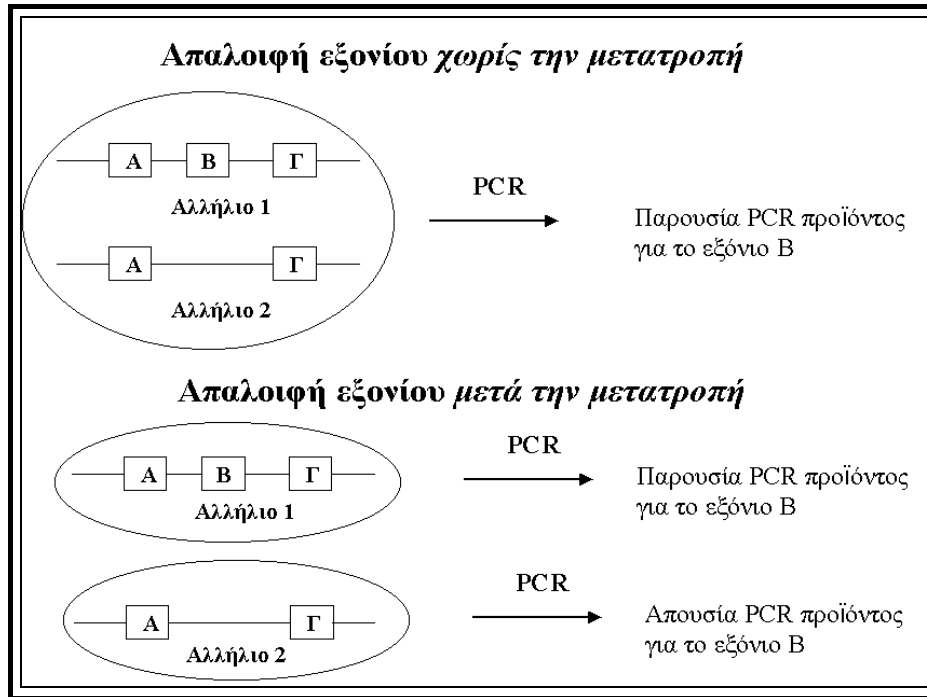
Χρήστος Κρούπης, Βιοχημικός-Μοριακός Βιολόγος, MSc, PhD

1. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ

Είναι γεγονός ότι κάθε μία από τις προαναφερθείσες τεχνικές ανιχνεύει μεταλλάξεις άλλη με περισσότερο και άλλη με λιγότερο επιτυχία. Κάποιες μεταλλάξεις είναι πιο εύκολες στην ανίχνευση ενώ άλλες ανθίστανται ακόμη και στη μέθοδο αναφοράς (DNA Sequencing) και απαιτούν συνδυασμό τεχνικών για την ανίχνευσή τους. Με βάση τη δυσκολία ανίχνευσης τους οι μεταλλάξεις τοποθετούνται σε σειρά από τις πιο εύκολα ανιχνεύσιμες στη αρχή έως τις πιο δύσκολες στο τέλος [1]:

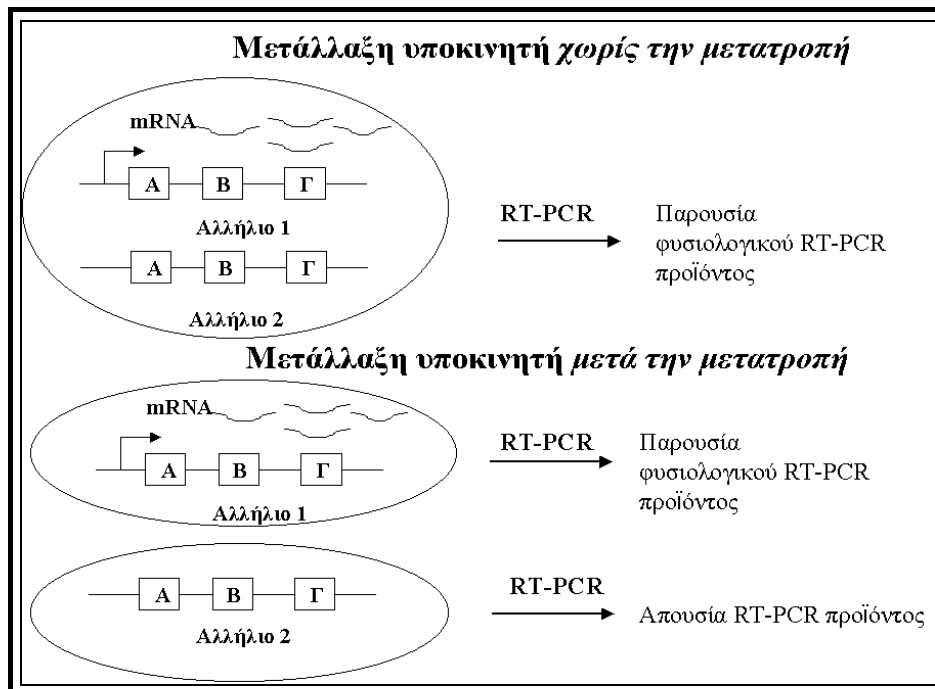
- Μη-νοηματικές ή μεταλλάξεις αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης στη κωδικοποιούσα περιοχή
- Παρανοηματικές μεταλλάξεις στη κωδικοποιούσα περιοχή
- Μεταλλάξεις στα ιντρόνια που επηρεάζουν το μάτισμα
- Αναδιατάξεις μεταξύ χρωμοσωμάτων
- Αναδιατάξεις μέσα στο ίδιο χρωμόσωμα
- Απαλοιφή ενός μόνο εξονίου
- Απαλοιφή πολλών συνεχόμενων εξονίων
- Απαλοιφή ολόκληρου του γονιδίου
- 3'-UTR μεταλλάξεις που επηρεάζουν τα επίπεδα μεταγραφής
- Μεταλλάξεις στα ιντρόνια που επηρεάζουν τα επίπεδα μεταγραφής
- Μεταλλάξεις στον υποκινητή του γονιδίου που επηρεάζουν τα επίπεδα μεταγραφής

Ένα σημαντικό πρόβλημα που απαντάται στην ανίχνευση μεταλλάξεων είναι η συνύπαρξη και των δύο αλληλίων σε κάθε δείγμα προς ανάλυση. Αυτό προκαλεί προβλήματα στην πειραματική διαδικασία καθώς πολλές φορές η παρουσία του φυσιολογικού αλληλίου επικαλύπτει μεταλλάξεις που υπάρχουν στο άλλο. Η δυνατότητα διαχωρισμού των δύο αλληλίων πριν την ανάλυση μεταλλάξεων δηλαδή η μετατροπή (**conversion**) ενός διπλοειδικού κυττάρου σε απλοειδικό [1] θα βοηθούσε στην ανίχνευση π.χ. απαλοιφής ενός ολόκληρου εξονίου (σχήμα 1.1):



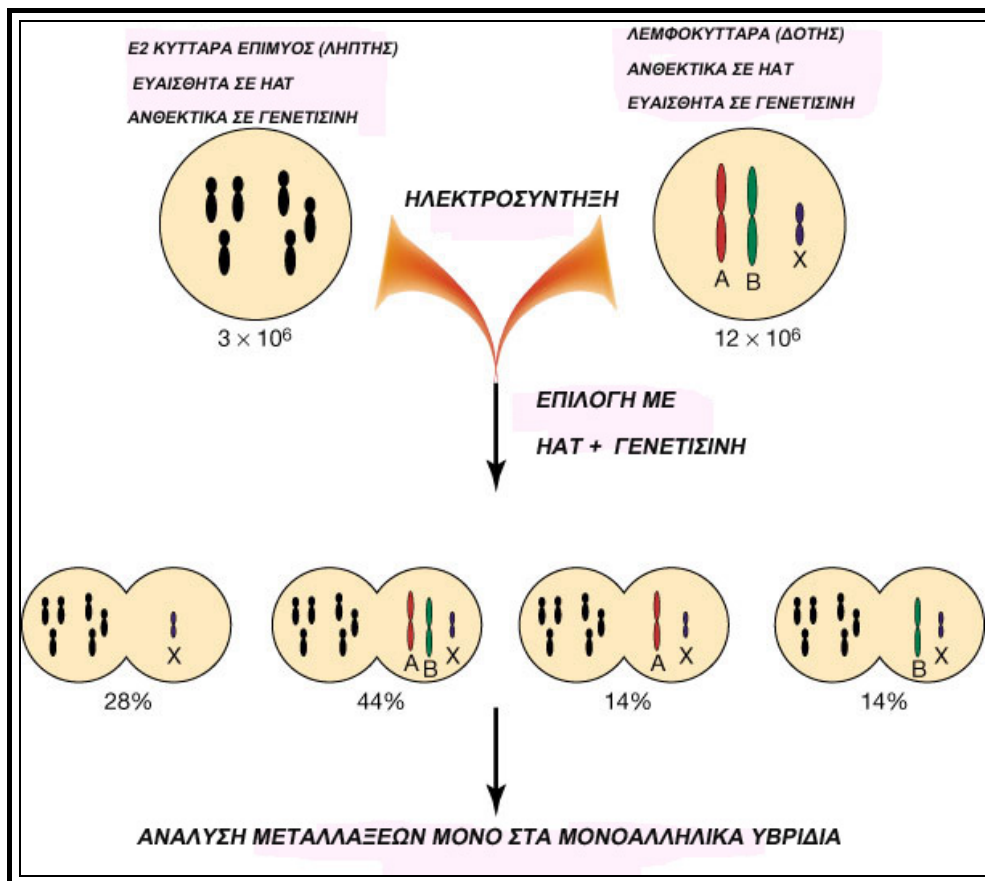
Σχήμα 1.1. Ανίχνευση απαλοιφής ολόκληρου εξονίου: α) χωρίς, β) με μετατροπή [1].

Επίσης η μετατροπή θα βοηθούσε στην ανίχνευση μετάλλαξης σε υποκινητή ή σε άλλη ρυθμιστική περιοχή που έχει ως αποτέλεσμα το ένα από τα δύο αλληλία να «σιγήσει» (σχήμα 1.2):



Σχήμα 1.2. Ανίχνευση μετάλλαξης υποκινητού: α) χωρίς, β) με μετατροπή [1].

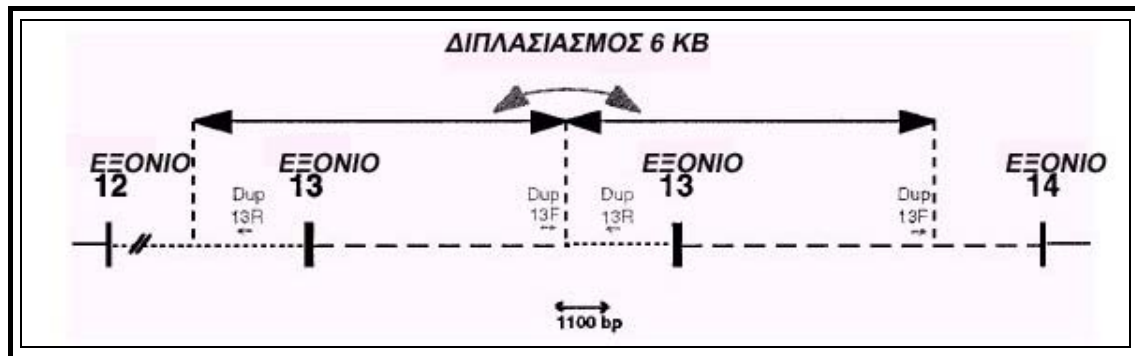
Η τεχνική που προτείνεται για την επίλυση τέτοιων προβλημάτων είναι ανάλογη με εκείνη της παρασκευής μονοκλωνικών αντισωμάτων, επίπονη ωστόσο αποτελεσματική καθώς αυξάνει στο μέγιστο την ευαισθησία ανίχνευσης μεταλλάξεων (σχήμα 1.3). Αρχικά δημιουργείται αθάνατη σειρά ινοβλαστών ποντικού με τα εξής χαρακτηριστικά: τους λείπει το ενδογενές υπό εξέταση γονίδιο με knock-out τεχνική (π.χ. το BRCA1 ποντικού) καθώς και το γονίδιο DHFR με συνέπεια να είναι ευαίσθητα σε όποιο θρεπτικό υλικό περιέχει HAT ενώ επίσης έχει προστεθεί και φορέας με ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό γενετισίνη. Στη συνέχεια επακολουθεί σύντηξη των ανωτέρω κυττάρων με λεμφοκύτταρα του ανθρώπου προς εξέταση και καλλιεργούνται παρουσία HAT και γενετισίνης με αποτέλεσμα να επιβιώνουν κλώνοι που συνδυάζουν τα παραπάνω στοιχεία καθώς και ένα ποσοστό που περιέχει ένα μόνο από τα δύο χρωμοσώματα που μας ενδιαφέρουν [2].



Σχήμα 1.3. Τεχνολογία μετατροπής (Conversion) [2].

Ωστόσο ακόμη και αυτή η τεχνολογία δεν ανιχνεύει όλες τις μεταλλάξεις. Άξια λόγου είναι η ακόλουθη μετάλλαξη που είναι σχετικά συχνή στη Βόρειο Ευρώπη για το γονίδιο που μας ενδιαφέρει, το BRCA1 (σχήμα 1.4). Πρόκειται για διπλασιασμό γενετικού υλικού περιοχής 6

Kb, η οποία περιλαμβάνει και το εξόνιο 13 με αποτέλεσμα τη μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης. Η ομάδα που ασχολείται με την παραπάνω μετάλλαξη επινόησε μια απλή μέθοδο PCR για την ανίχνευσή της. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιούνται δύο εκκινητές (Dup 13F και Dup 13R) οι οποίοι εάν υπάρχει ο διπλασιασμός θα δώσουν προϊόν 1,1 Kb ενώ δεν θα δώσουν προϊόν εάν δεν υπάρχει η συγκεκριμένη μετάλλαξη [3].



Σχήμα 1.4. Η μετάλλαξη διπλασιασμού του εξονίου 13 στο γονίδιο BRCA1.

Είναι φανερό ότι ούτε η τεχνική της μετατροπής αλλά ούτε και το DNA Sequencing θα ανίχνευαν την παραπάνω μετάλλαξη ωστόσο η μεθοδολογία PTT με RNA ως αρχικό υλικό θα την ανίχνευε. Είναι σαφές λοιπόν ότι ο συνδυασμός διαφόρων τεχνικών δίνει πάντα το καλύτερο αποτέλεσμα.

2. ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΩΘΗΚΩΝ

Οι κυριότεροι **προδιαθεσικοί παράγοντες (risk factors)** για την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού ή των ωθηκών είναι η ηλικία, οικογενειακό ιστορικό της νόσου καθώς και ενδείξεις παθολογίας σε ενδεχόμενη βιοψία (π.χ. υπερπλασία, borderline lesions όπως επιθηλιακή ατυπία, λοβιακή in situ νεοπλασία). Οι υπόλοιποι προδιαθεσικοί παράγοντες καταδεικνύουν την αλληλεπίδραση ορμονών, γονιδίων και του περιβάλλοντος. Ό,τι αυξάνει τον αριθμό των ωθηλακιορηξιών αυξάνει την έκθεση στα ενδογενή οιστρογόνα και προγεστερόνη και κατά συνέπεια και τον κίνδυνο: η πρόωμη εμμηναρχή (<12 ετών), η εμμηνόπαυση σε μεγάλη ηλικία, η ατεκνία. Υπάρχει αύξηση του κινδύνου αμέσως μετά από μία κύηση ωστόσο μακροπρόθεσμα, η κύηση και ο θηλασμός δρουν προστατευτικά καθώς μειώνουν τον αριθμό των ορμονικών κύκλων και η προστατευτική δράση αυξάνεται με τον αριθμό των τελειόμηνων κυήσεων. Πιστεύεται ότι η δραστική αλλαγή στη ζωή της γυναίκας του 20^{ου} αιώνα σε σχέση με τη γυναίκα του 19^{ου} αιώνα -η οποία καθώς δεν δούλευε γεννούσε περισσότερα παιδιά και άρχιζε αργά την εμμηναρχή της χωρίς να υπάρχει αλλαγή στην

ηλικία εμμηνόπαυσης- μπορεί να δικαιολογήσει την αύξηση των γυναικολογικών καρκίνων στην εποχή μας [4]. Επίσης η χορήγηση εξωγενών ορμονών είτε με την μορφή των αντισυλληπτικών δισκίων είτε η επί μακρό χορήγηση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης αυξάνουν τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού [5]. Δευτερεύοντες παράγοντες κινδύνου αποτελούν η έκθεση σε ακτινοβολία, η έλλειψη άσκησης και η παχυσαρκία, το αλκοόλ και το κάπνισμα, η λήψη φυτοορμονών μέσω των τροφίμων όπως επίσης και η χαμηλή ποσότητα των λαχανικών και η έλλειψη βιταμίνης Α στο καθημερινό διαιτολόγιο.

Περίπου 25% των ασθενών με καρκίνο μαστού έχουν κάποιο περιστατικό ανάλογου καρκίνου στην οικογένεια (**familial cancer, οικογενής καρκίνος**) ωστόσο μόνο στο 20-40% των περιπτώσεων αυτών ο καρκίνος μπορεί να αποδοθεί σε μεντελιανή κληρονομηση ενός γονιδίου. Έχει υπολογισθεί ότι ένα ποσοστό της τάξεως του 7% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού και ένα αντίστοιχο ποσοστό του 10% των περιπτώσεων του καρκίνου των ωοθηκών εντάσσονται σ' αυτές τις περιπτώσεις του **κληρονομούμενου (hereditary) καρκίνου** (π.χ. τρεις γενιές με νόσο ή περισσότερα των δύο περιστατικών σε συγγενείς α βαθμού). Προσφάτως το 1994 και το 1995 ανακαλύφθηκαν δύο γονίδια με υψηλή **διεισδυτικότητα (penetrance)** τα οποία ευθύνονται για την πλειονότητα των περιπτώσεων αυτών: το γονίδιο **BRCA1 (BR**east **C**Ancer **S**usceptibility **g**ene **1**) το οποίο ευθύνεται για το 45% των περιπτώσεων κληρονομούμενου καρκίνου του μαστού και το γονίδιο **BRCA2** για το 35% [6,7]. Ένα τρίτο γονίδιο BRCA3 αναζητείται επίμονα και κάποια ερευνητική ομάδα βρήκε κάποια γενετική σύνδεση με περιοχή του χρωμοσώματος 13 (13q21) χωρίς όμως μέχρι στιγμής να γίνει αποδεκτό [8]. Το υπόλοιπο 20% των περιπτώσεων κληρονομούμενου καρκίνου μαστού πιθανότατα οφείλεται κατά μεγάλο μέρος σε διάφορα σπάνια γονίδια υψηλής διεισδυτικότητας που δεν έχουν ανακαλυφτεί έως τώρα και κατά δεύτερο λόγο σε διάφορα σύνδρομα όπου ανάμεσα στα άλλα οι ασθενείς νοσούν και με καρκίνο μαστού όπως Li-Fraumeni, Cowden, Muir-Torre, Peutz-Jegher, Αταξία-Τελαγγειεκτασία για τα οποία ευθύνονται τα ακόλουθα γονίδια: p53, PTEN, MLH1, STK/LKB1 και ATM κατ' αντιστοιχία [9].

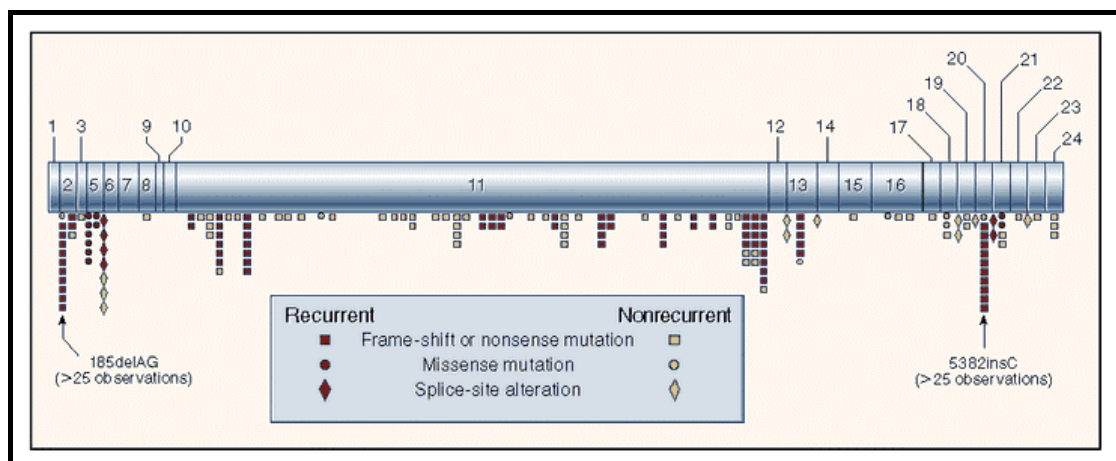
Για τις ωοθήκες αντίστοιχα στα δύο γονίδια BRCA1 και BRCA2 οφείλεται το 85-90% του κληρονομούμενου καρκίνου των ωοθηκών (στο BRCA1 η μεγάλη πλειοψηφία 75-90% των περιπτώσεων). Το υπόλοιπο 10-15% ανήκει στο σύνδρομο HNPCC (παλαιότερα ονομαζόταν Lynch) όπου κυριαρχεί ο μη πολυποδιασικός καρκίνος του παχέος εντέρου και συνδυάζεται με καρκίνο ωοθηκών και ενδομητρίου στις γυναίκες (το 95% των περιπτώσεων αυτών μοιράζονται εξίσου τα γονίδια MSH2 και MLH1 ενώ το 5% το γονίδιο PMS2) [10]. Μετά από αυτά τα στοιχεία γίνεται αντιληπτό ότι η ονομασία των δύο γονιδίων δεν αποδίδει σωστά τον κίνδυνο για τον καρκίνο των ωοθηκών και ότι πιο ακριβής θα ήταν ΟVBRCA. Μάλιστα

τα ανωτέρω δύο γονίδια ενοχοποιούνται και για τον σχετικά σπάνιο κληρονομούμενο καρκίνο των σαλπινγών (fallopian tube Ca) [11].

Για το υπόλοιπο 60-80% των περιπτώσεων οικογενούς γυναικολογικού καρκίνου πιθανολογείται ότι ευθύνεται ένας συνδυασμός από μερικά γονίδια μέτριας διεισδυτικότητας και ένας πολύ μεγαλύτερος αριθμός (100 ή περισσότερα) από γονίδια χαμηλής διεισδυτικότητας με σχετικό κίνδυνο (RR, relative risk) 1,5-2,0 [12]. Προσφάτως το chek2 προτάθηκε σαν ένα τέτοιο γονίδιο με την μετάλλαξη 1100delC να προσδίδει RR 2 [13,14]. Γίνεται φανερό ότι ακόμη και ένα τέτοιο γονίδιο με σχετικό κίνδυνο μόνο 1,5 αλλά με υψηλή συχνότητα στον γενικό πληθυσμό θα μπορούσε να ευθύνεται για ένα μεγάλο ποσοστό οικογενούς καρκίνου [15].

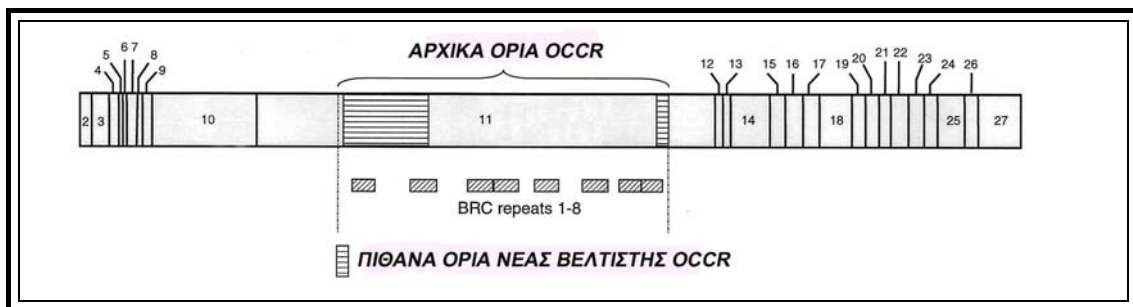
ΔΟΜΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ BRCA1 και BRCA2

Ο εντοπισμός γονιδίου το 1990 σε μεγάλες οικογένειες με καρκίνο μαστού σε νεαρή ηλικία με γενετική σύνδεση σε περιοχή 117.143 βάσεων στο 17q21 οδήγησε στην τελική ανακάλυψη της δομής του **BRCA1** το 1994 [6]. Το γονίδιο BRCA1 αποτελείται από 24 εξόνια εκ των οποίων τα 22 κωδικοποιούν cDNA 5,7 kb και παράγεται πρωτεΐνη 1.863 αμινοξέων. Τα εξόνια 1 και 4 δεν κωδικοποιούν cDNA (σχήμα 2.1). Η ακολουθία του cDNA και της αντίστοιχης πρωτεΐνης είναι καταχωρημένα στην GenBank του NCBI με κωδικό U14680 (βλέπε παράρτημα Α1) ενώ η ακολουθία της γενωμικής περιοχής έχει κωδικό L78833. Πλήρως ενημερωμένη βιβλιογραφικά για το BRCA1 είναι και η τράπεζα πληροφοριών για τις γενετικές ασθένειες OMIM με κωδικό 113705.



Σχήμα 2.1. Δομή γονιδίου BRCA1 και μεταλλάξεις που έχουν ανιχνευτεί [16].

Ο εντοπισμός και άλλου γονιδίου το 1994 σε οικογένειες όπου συνυπήρχε και καρκίνος μαστού σε άνδρες με γενετική σύνδεση σε περιοχή 127.079 βάσεων στο 13q12-13 οδήγησε το 1995 στην τελική ανακάλυψη της δομής του δεύτερου γονιδίου **BRCA2** [7]. Το γονίδιο BRCA2 αποτελείται από 27 εξόνια εκ των οποίων τα 26 κωδικοποιούν cDNA 11 kb και παράγεται πρωτεΐνη 3.418 αμινοξέων. Τα εξόνια 1 δεν κωδικοποιεί cDNA (σχήμα 2.2). Η ακολουθία του cDNA και της αντίστοιχης πρωτεΐνης είναι καταχωρημένα στην GenBank του NCBI με κωδικό U43746 (βλέπε παράρτημα Α2) ενώ η ακολουθία της γενωμικής περιοχής έχει κωδικό Z74739 [17]. Πλήρως ενημερωμένη βιβλιογραφικά για το BRCA2 είναι και η τράπεζα πληροφοριών για τις γενετικές ασθένειες OMIM με κωδικό 600185.



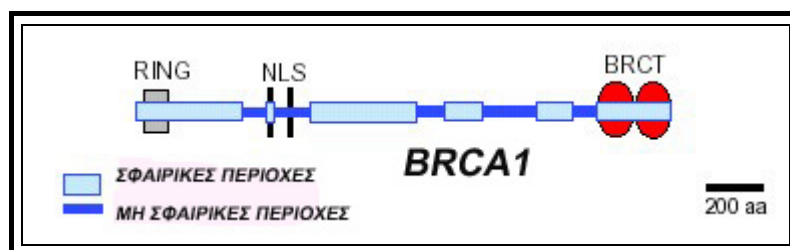
Σχήμα 2.2. Δομή γονιδίου BRCA2 (OCCR: ovarian cancer cluster region) [18].

Και τα δύο γονίδια είναι πλούσια σε αδενίνη και θυμίνη >60% και είναι εξαιρετικά μεγάλα (μεγαλύτερα του 90% των ανθρώπινων γονιδίων). Αν και έχουν μερικά κοινά δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά, δεν υπάρχει καμία ομολογία μεταξύ τους ως προς την DNA ακολουθία και οι μόνες ομοιότητες είναι ότι η μετάφραση ξεκινάει από ATG του εξονίου 2 και ότι διαθέτουν ένα ασυνήθιστα μεγάλο -για ευκαρυωτικό οργανισμό- κεντρικό εξόνιο: το εξόνιο 11, το οποίο κωδικοποιεί το μεγαλύτερο ποσοστό της αντίστοιχης πρωτεΐνης (>50%). Σε πολλούς ιστούς έχει ανευρεθεί εναλλακτικά ματισμένο BRCA1 που του λείπει το εξόνιο 11 (BRCA1-Δ11b) προφανώς με κάποια λειτουργικότητα [6,19]. Ωστόσο αντίστοιχο αντίγραφο για το BRCA2 δεν έχει ανευρεθεί.

Οι πρωτεΐνες BRCA1 και BRCA2 σε SDS-PAGE πηκτώματα συμπεριφέρονται ως να έχουν MB 208 KDa και 384 KDa αντίστοιχα. Σε ισοηλεκτρική εστίαση (IEF) τα ισοηλεκτρικά σημεία των BRCA1 και BRCA2 βρέθηκαν να είναι 5,2 και 6,3 αντίστοιχα. Περισσότερες πληροφορίες για τις δύο αυτές πρωτεΐνες υπάρχουν στη βάση δεδομένων Swiss-Prot, στους κωδικούς P38398 και P51587. Σε επίπεδο αμινοξέων και οι δύο πρωτεΐνες έχουν μικρή αναλογία με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες των υπολοίπων θηλαστικών π.χ. μόνο 60% ομολογία με τα BRCA1 και BRCA2 του ποντικού, σε αντίθεση με άλλες πρωτεΐνες που ενέχονται στη

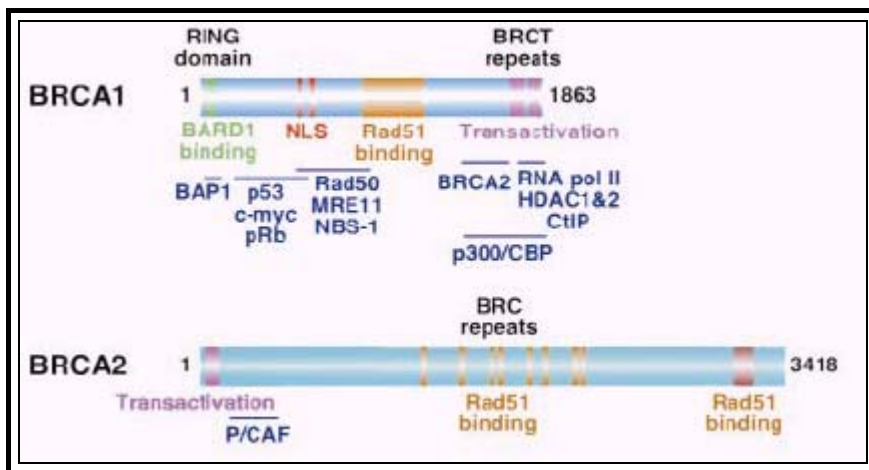
προδιάθεση για καρκίνο όπως π.χ. τη ανθρώπινη APC πρωτεΐνη που είναι κατά 90% ομόλογη με αυτήν του ποντικού. Πιθανολογείται ότι κατά τη διάρκεια της εξελικτικής διαδικασίας στον άνθρωπο οι πρωτεΐνες αυτές απέκτησαν και άλλες περιοχές και αυτό θα φανεί στη συνέχεια όταν θα εξετασθεί ο πολύπλευρος ρόλος τους [20].

Ωστόσο μερικές περιοχές των δύο πρωτεϊνών είναι καλά διατηρημένες στα θηλαστικά (σχήμα 2.3). Στο **BRCA1** υπάρχουν τρεις τέτοιες περιοχές: α) στο αμινοτελικό άκρο μεταξύ των αμινοξέων 20-68 υπάρχει μια περιοχή δέσμευσης ψευδαργύρου (zinc-binding **RING** finger) περιοχή Cys₃-His-Cys₄ που πιθανότερα ενέχεται σε αλληλεπιδράσεις με άλλες πρωτεΐνες (π.χ. BARD-1, BAP-1) παρά με ακολουθίες του DNA, β) στο καρβοξυτελικό άκρο και μεταξύ των αμινοξέων 1649-1736 και 1756-1855 ανευρίσκονται δύο σε σειρά σφαιρικές περιοχές επωνομαζόμενες **BRCT** (**BRCA1 C-Terminal N** και **C**) που ενέχονται σε **μεταγραφική ενεργοποίηση (transactivation)** [21] και τέλος γ) υπάρχουν δύο περιοχές **σημάτων πυρηνικού εντοπισμού (Nuclear Localization Signal) NLS1** και **NLS2** στις θέσεις 501-507 και 607-614 του εξονίου 11 που δεσμεύουν την ιμπορτίνη-α (υπομονάδα του transport signal πυρηνικού υποδοχέα) και κατά συνέπεια διατηρούν την πρωτεΐνη στον πυρήνα [22]. Γι' αυτό το λόγο η εντόπιση του προαναφερθέντος BRCA1-Δ11b είναι κυτταροπλασματική. Πιο απαραίτητη έχει αποδειχθεί ότι είναι η πρώτη NLS1 που και δομικά πληροί καλύτερα τις προδιαγραφές καθώς περιέχει πέντε αργινίνες και λυσίνες στη σειρά ενώ πιθανολογείται ότι η δεύτερη NLS2 είναι υποστηρικτική [23]. Πρέπει να αναφερθεί ότι αρχικά είχε εντοπιστεί και όξινη περιοχή με ομολογία γρανίνης στο BRCA1 στο τέλος του εξονίου 11 μεταξύ των αμινοξέων 1214-1223 -αλλά και στο BRCA2- και εκφράστηκαν εικασίες ότι οι δύο πρωτεΐνες εκκρίνονται και διασπώνται σε πεπτίδια με παρακρινή δράση [24,25] ωστόσο κάτι τέτοιο δεν αποδείχτηκε και ο εντοπισμός τους σε εκκρινόμενα σώματα ήταν πιθανότατα εσφαλμένος λόγω χρήσης μη ειδικού αντισώματος πρόσδεσης.



Σχήμα 2.3. Διάφορες περιοχές στην πρωτεΐνη BRCA1 [26].

Στο **BRCA2** δεν υπάρχουν αντίστοιχες RING και BRCT περιοχές ενώ υπάρχει NLS περιοχή, στο καρβοξυτελικό άκρο σε περιοχή όπου δεσμεύεται και η πρωτεΐνη Rad51 (σχήμα 2.4). Στο αμινοτελικό άκρο του BRCA2 υπάρχει ομολογία με την περιοχή ενεργοποίησης πρωτεΐνης της c-Jun και γι' αυτό η περιοχή αυτή -που περιλαμβάνει το εξόνιο 3- είναι απαραίτητη για την μεταγραφική ενεργοποίηση μέσω της BRCA2 πρωτεΐνης. Αξιοπεριεργη είναι η ύπαρξη οκτώ επαναλαμβανόμενων ακολουθιών από 20-30 αμινοξέα επονομαζόμενες **BRC repeats (BREast Cancer)** στο εξόνιο 11 του BRCA2 (σχήματα 2.2 και 2.4). Η ομολογία των περιοχών αυτών είναι μεγαλύτερη του 80% με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες των διαφόρων θηλαστικών και η σημασία τους καταδεικνύεται από το γεγονός ότι μόνο η παρουσία τριών τουλάχιστον από τις περιοχές αυτές είναι συμβατή με τη ζωή. Έχειδειχθεί ότι εκεί είναι η κύρια περιοχή πρόσδεσης της Rad51 [27]. Τις περιοχές αυτές περικλείει και η λεγόμενη **OCCR** περιοχή (**Ovarian Cancer Cluster Region**) (σχήμα 2.2).



Σχήμα 2.4. Δομικές περιοχές και περιοχές πρόσδεσης διαφόρων πρωτεϊνών στις BRCA1 και BRCA2 πρωτεΐνες [28].

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Yan H, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic testing--present and future. Science 2000;289:1890-2.
- [2] Yan H, Papadopoulos N, Marra G, Perrera C, Jiricny J, Boland CR et al. Conversion of diploidy to haploidy. Nature 2000;403:723-4.
- [3] The BRCA1 Exon 13 Duplication Screening Group. The exon 13 duplication in the BRCA1 gene is a founder mutation present in geographically diverse populations. Am J Hum Genet 2000;67:207-12.
- [4] Olsson H. Tumour biology of a breast cancer at least partly reflects the biology of the tissue/epithelial cell of origin at the time of initiation. J Steroid Biochem Mol Biol 2000;74:345-50.

X. ΚΡΟΥΠΗΣ: ΓΟΝΙΔΙΑ BRCA1 ΚΑΙ BRCA2 (2005)
ΜΑΘΗΜΑ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ-ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ

- [5] Sundquist M, Thorstenson S, Brudin L, Wingren S, Nordenskjold B. Incidence and prognosis in early onset breast cancer. *The Breast* 2002;11:30-5.
- [6] Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994;266:66-71.
- [7] Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995;378:789-92.
- [8] Kainu T, Joo SH, Desper R, Schaffer AA, Gillanders E, Rozenblum E et al. Somatic deletions in hereditary breast cancers implicate 13q21 as a putative novel breast cancer susceptibility locus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:9603-8.
- [9] Nathanson KN, Wooster R, Weber BL. Breast cancer genetics: what we know and what we need. *Nat Med* 2001;7:552-6.
- [10] Boyd J. Molecular genetics of hereditary ovarian cancer. *Oncology* 1998;12:399-413.
- [11] Boyd J. BRCA: the breast, ovarian, and other cancer genes. *Gynecol Oncol* 2001;80:337-40.
- [12] Ponder BA. Cancer genetics. *Nature* 2001;411:336-41.
- [13] Brody LC. CHEKs and balances: accounting for breast cancer. *Nat Genet* 2002;31:3-4.
- [14] Meijers-Heijboer H, van den OA, Klijn J, Wasielewski M, de Snoo A, Oldenburg R et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat Genet* 2002;31:55-9.
- [15] Pharoah PD, Antoniou A, Bobrow M, Zimmern RL, Easton DF, Ponder BA. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Genet* 2002;31:33-6.
- [16] Collins FS. BRCA1--lots of mutations, lots of dilemmas. *N Engl J Med* 1996;334:186-8.
- [17] Tavtigian SV, Simard J, Rommens J, Couch F, Shattuck-Eidens D, Neuhausen S et al. The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds. *Nat Genet* 1996;12:333-7.
- [18] Thompson D, Easton D. Variation in cancer risks, by mutation position, in BRCA2 mutation carriers. *Am J Hum Genet* 2001;68:410-9.
- [19] Wilson CA, Payton MN, Elliott GS, Buaas FW, Cajulis EE, Grosshans D et al. Differential subcellular localization, expression and biological toxicity of BRCA1 and the splice variant BRCA1-delta11b. *Oncogene* 1997;14:1-16.
- [20] Rahman N, Stratton MR. The genetics of breast cancer susceptibility. *Annu Rev Genet* 1998;32:95-121.
- [21] Vallon-Christersson J, Cayanan C, Haraldsson K, Loman N, Bergthorsson JT, Brondum-Nielsen K et al. Functional analysis of BRCA1 C-terminal missense mutations identified in breast and ovarian cancer families. *Hum Mol Genet* 2001;10:353-60.
- [22] Welcsh PL, Schubert EL, King MC. Inherited breast cancer: an emerging picture. *Clin Genet* 1998;54:447-58.
- [23] Thakur S, Zhang HB, Peng Y, Le H, Carroll B, Ward T et al. Localization of BRCA1 and a splice variant identifies the nuclear localization signal. *Mol Cell Biol* 1997;17:444-52.
- [24] Steeg PS. Granin expectations in breast cancer? *Nat Genet* 1996;12:223-5.

X. ΚΡΟΥΠΗΣ: ΓΟΝΙΔΙΑ BRCA1 ΚΑΙ BRCA2 (2005)
ΜΑΘΗΜΑ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ-ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ

- [25] Diamandis EP. ... and secreted tumour suppressors. *Nat Genet* 1996;13:268.
- [26] Monteiro AN. BRCA1: exploring the links to transcription. *Trends Biochem Sci* 2000;25:469-74.
- [27] Gayther SA, Ponder BA. Clues to the function of the tumour susceptibility gene BRCA2. *Dis Markers* 1998;14:1-8.
- [28] Scully R, Livingston DM. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. *Nature* 2000;408:429-32.