

Locus Control Region의 구조와 기능

김 애 리*

부산대학교 자연과학대학 생명과학부

Received September 21, 2007 / Accepted October 29, 2007

The Structure and Function of Locus Control Region. AeRi Kim*. *School of Life Sciences, College of Natural Sciences, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea* - Locus control region (LCR) is a cis-acting element which regulates the transcription of genes in developmental stage and/or tissue-specific pattern. Typically, LCR consists of several DNase I hypersensitive sites (HSs), where the binding motifs for transcriptional activators are present. The binding of activators to the HSs recruits chromatin modifying complexes to the LCR, opening chromatin structure and modifying histones covalently through the locus. LCR forms close physical contact with target gene located at a distance by looping away intervening region. In addition, non-coding RNA is transcribed from LCR toward target genes in continuously acetylated active domain. These structural and functional features of LCR suggest that the LCR plays many roles in chromatin activation and transcriptional regulation.

Key words : Locus Control Region, chromatin, transcription

서 론

Locus control region (LCR)은 유전자 전사와 관련된 cis-acting element의 하나로 발생 단계 특이적 또는 조직 특이적인 유전자 전사를 조절한다. 일반적으로 표적 유전자(조절 대상 유전자)와 멀리 떨어져 존재하며, 여러 개의 DNase I hypersensitive site (HS)로 이루어져 있다. HSs에서는 전사 활성화자(transcriptional activator)들의 결합이 일어나며, 이 결합은 크로마틴(chromatin) 구조를 변화시키는 뉴클레오솜 리모델링 복합체(nucleosome remodeling complex)와 히스톤(histone) 공유변형 효소 모집에 관여한다. 이처럼 LCR은 다양한 단백질들의 결합을 통해 전체 좌위(locus), 즉 LCR/HS와 표적 유전자, 그리고 그 사이 부분인 intervening region의 크로마틴 구조를 활성화시키고 표적유전자의 전사를 유도한다. 지난 10여 년 간 LCR의 작용 기작으로 여러 모델이 제시되어 왔으며, 최근 LCR과 프로모터의 위치적 근접성을 보여주는 연구는 고리 형성(looping)에 의한 물리적 상호작용을 제시하고 있다. 또한 LCR에서 시작되어 표적 유전자에 이르는 non-coding RNA의 전사는 같은 영역에서 일어나는 히스톤 아세틸화(acetylation)와 더불어 LCR의 tracking 기작을 뒷받침한다. 본 총설은 LCR을 가지고 있으며, 그것에 의해 조절되는 대표적인 좌위인 β -글로빈 좌위(β -globin locus)를 중심으로 LCR의 구조와 기능을 설명하고자 한다.

LCR과 유전자 전사

유전자 전사는 RNA polymerase (pol II)가 모집되는 프로

모터(promoter) 부분을 필요로 한다. 일반적으로 유전자 바로 앞쪽에 위치하는 이 DNA 염기서열은 TBP (TATA-binding protein)를 포함한 일반 전사인자(general transcription factor)와 전사 활성화자의 결합부위를 제공하며, 궁극적으로 RNA pol II를 모집하여 전사를 시작하게 한다. 그러나 발생과 조직 분화에 따라 전사가 조절되는 몇몇 유전자들은 프로모터에 이외에 LCR이라는 cis-regulatory element를 가지고 있으며, 이 DNA 염기서열에 의해 특이적인 유전자 전사 조절이 이루어진다[7,26].

LCR은 유전자 전사와 관련하여 몇 가지 특징을 나타낸다. 기본적으로 LCR은 강력한 유전자 전사를 유도하며 인핸서(enhancer)로 작용한다. 위치적인 면에서 LCR은 표적 유전자로부터 상당히 멀리 떨어져 있으며, 그 거리는 유전자 전사를 활성화시키는 능력과 무관하다. 이 외에 단순 인핸서와 구별되는 LCR만의 특징으로서, 염색체 내로 삽입되었을 때 LCR에 연결된 유전자의 전사를 삽입된 위치와 상관없이(integration-position-independent) 가능하게 하며, 또한 삽입된 복사본의 수에 비례하여(copy-number-dependent) 전사량을 증가시킨다[14]. 이러한 현상은 크로마틴의 구조를 활성화시킬 수 있는 LCR의 능력과 관련된 것으로 보이며, 활성 히스톤 변형(active histone modification)으로 확인되는 구획(domain) 형성도 LCR의 역할로 생각된다[15,45].

사람의 β -글로빈 좌위에는 5개의 글로빈 유전자(ϵ , γ , α , δ , β)가 존재한다(Fig. 1). 이들 유전자는 적혈구 조직에서만 발현되며, 발생 단계에 따라 DNA 상의 순서대로 배아 시기에 ϵ , 태아 시기에 γ 와 α , 그리고 성체 시기에 δ 와 β 글로빈 유전자가 발현된다. 이러한 조직 특이적, 발생 단계 특이적 발현은 ϵ -글로빈 유전자로부터 6 Kb upstream에서 시작되어 22 Kb에 이르는 LCR에 의해 이루어진다. LCR의 대부분

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-3683, Fax : +82-51-513-9258

E-mail : kimaeri@pusan.ac.kr

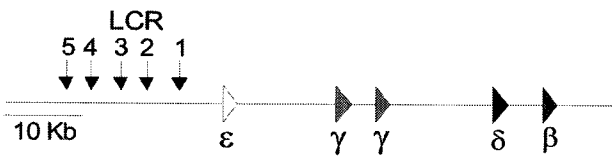


Fig. 1. The human β -globin locus. The five globin genes and hypersensitive sites of locus control region are drawn to scale.

이 소실된 지중해빈혈증(β -thalassemia) 환자의 경우, β -글로빈 유전자의 염기 서열이 정상임에도 불구하고 유전자 발현은 제대로 일어나지 않는다[8]. 또한 적혈구 세포주나 생쥐에서 LCR을 제거할 경우, 글로빈 유전자의 발현은 현저히 감소하거나 완전히 억제된다[34,39].

LCR의 DNase I HSs

LCR은 조직 특이적으로 형성되는 몇 개의 DNase I HS로 구성된다. HS의 길이는 보통 200-400 bp 정도이며, 정상적인 뉴클레오솜(nucleosome) 구조가 없는 것으로 보인다[35]. 이 부분의 DNA 염기 서열에는 조직 특이적 전사 활성자와 일반 전사 활성자의 결합부위가 여러 개 존재하며, 실제로 세포 내에서 특정 전사 활성자가 이들 결합부위에 결합하고 있음이 *in vivo* footprinting과 chromatin immunoprecipitation (ChIP) 분석을 통해 확인되고 있다[18,21,40,41]. 따라서 LCR의 HSs는 크로마틴 환경에서 전사인자들의 결합을 원활하게 만들어 LCR의 기능 수행을 돕는 것으로 생각된다.

DNase I HS에서 단백질 결합은 LCR의 기능을 직접적으로 수행한다. 먼저 DNA에 직접 결합하는 조직 특이적 전사 활성자는 HS의 형성과 coactivators 모집에 관여한다[2,24]. DNA에 직접 결합하지 않고 전사 활성자와 결합하는 coactivator는 주로 크로마틴 구조를 변화시키는 효소 활성을 가지고 있다. 히스톤 N 말단부의 아세틸화 또는 메틸화(methylation)를 담당하는 효소들과 뉴클레오솜 리모델링 복합체가 여기에 포함되며, 이들 단백질은 LCR과 표적 유전자들의 크로마틴 구조를 활성화시킨다[17,21]. 이처럼 LCR에 존재하는 대부분의 HSs는 단백질 결합을 통해 크로마틴을 활성화시키고 표적 유전자를 전사한다. 이에 반해 좌위의 가장자리에 위치한 HS는 insulator로서 작용하며, 활성 영역(active domain)의 경계 형성을 담당한다[28].

사람 β -글로빈 좌위의 LCR은 다섯 개의 DNase I HSs, HS1-5로 이루어져 있다. 각각의 HS는 NF-E2와 GATA-1 같은 적혈구 특이적 활성자의 결합부위를 가지고 있으며, HS에 따라 특이적인 단백질 결합 양상을 보여준다(Fig. 2)[21]. 가장 강력한 인핸서로 작용하는 HS2에는 이들 두 가지 활성자가 결합하며, 히스톤 아세틸화효소(acetyltransferase)와 메틸화효소(methyltransferase)도 자리잡고 있다. 특히 NF-E2 활성자의 결합은 HS2 부분에서 DNase I HS를 형성하고 히

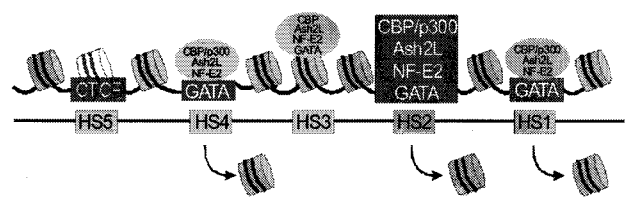


Fig. 2. A model illustrating nucleosome and protein occupancy at the human β -globin LCR. Major protein binding at HSs is boxed and weak binding is indicated in ovals. Adapted from [21].

스톤 메틸화효소를 모집하는데 중요한 역할을 한다[21]. 또한 생쥐 글로빈 좌위에서 HS3의 GATA-1 결합은 히스톤 아세틸화효소 모집에 관여한다[23,24]. LCR의 HSs 중 5' 끝 쪽에 위치하며 insulator 역할을 담당하는 HS5에는 NF-E2나 GATA-1이 아닌 CTCF 단백질이 결합하고 있으며, 이 단백질은 insulator 기능 수행을 위해 꼭 필요하다[20,44].

LCR과 크로마틴 활성화

활성 상태의 LCR에서는 HSs의 형성과 더불어 LCR 전체에 걸친 히스톤 변형이 관찰된다. 대표적으로 히스톤 H3와 H4의 N 말단부 라이신 잔기에서 아세틸화가 일어나며, H3의 네 번째 라이신 잔기는 2-메틸화(di-methylation)된다[5,11]. 이 두 가지 변형은 활성화된 크로마틴의 대표적인 특징으로 접근 가능한(accessible 또는 permissive) 크로마틴 구조를 형성하는데 관여하는 것으로 생각된다. LCR에서 HSs와 그 주변 부분의 히스톤 변형을 비교하면, 흔히 HSs에서 주변보다 더 높은 수준의 히스톤 변형이 일어나지만, HS에 따라 오히려 낮은 수준의 변형이 일어나기도 한다[19,29]. 최근 보고된 LCR의 메틸화 양상을 보면 세 개의 H3 라이신 잔기, K4, K9, K36에서 1-메틸화(mono-methylation)가 일어나며, 이는 활성 상태인 LCR의 새로운 크로마틴 표지로 보인다[20].

단순한 인핸서와 구별되는 LCR의 기능으로 크로마틴 수준의 활성 또는 열린 구조 형성(opening)을 들 수 있다. 삽입된 염색체 내의 위치와 상관없는 유전자 발현이 보여주듯이 β -글로빈 LCR은 주변의 이질크로마틴(heterochromatin) 환경에 상관없이 크로마틴 구조를 활성화시키고 유전자 전사를 가능하게 한다[30]. 그리고 대부분의 LCR이 제거되면 β -글로빈 좌위는 전체적으로 DNase I에 대해 낮은 민감성을 나타내며, LCR과 프로모터에서 HSs가 형성되지 않는 등 불활성(closed) 상태의 크로마틴 구조가 된다[10]. 또한 발현되어야 할 유전자의 프로모터나 암호화 부위에서 히스톤 아세틸화 정도가 현저히 줄어든다[38]. 이러한 사실은 LCR이 글로빈 좌위 전체를 활성 상태의 열린 크로마틴 구조로 만드는 것을 보여주며, 이 구조는 유전자 전사를 위한 전제조건으로 생각된다.

그러나 생쥐 유전체의 β -글로빈 좌위에서는 이와 상반된 결과가 얻어지기도 하였다. 상동 재조합 방법으로 생쥐 유전체에서 글로빈 LCR을 제거한 경우, 좌위는 여전히 DNase I 공격에 민감하며 표적 유전자의 히스톤 아세틸화 수준도 영향을 받지 않는다[4,39]. 이렇듯 크로마틴 구조는 활성 상태를 유지하지만, 그럼에도 불구하고 유전자 전사는 일어나지 않는다. 이 때 유전자 전사가 일어나지 않는 이유는 pol II 신장이 제대로 이루어지지 않기 때문이며, 이 과정은 LCR을 필요로 한다[37]. 또한 같은 연구진의 최근 보고는 적혈구 성숙 과정에서 글로빈 유전자가 발현될 때, 글로빈 좌위가 핵의 가장자리에서 안쪽으로 이동하는데, 이 때 LCR이 필요하다고 밝히고 있다[33].

LCR에 의한 고리 형성(looping)

LCR은 조절의 대상이 되는 표적유전자와 멀리 떨어져 있기 때문에 위치적 문제를 해결할 수 있는 작용 기작으로 다양한 모델이 제시되어 왔다. 이 모델들은 크게 네 가지, looping, tracking, facilitated tracking, 그리고 linking 모델로 요약된다(Fig. 3)[26]. Looping 모델은 LCR HSs에 단백질들이 결합된 후 직접 표적 유전자의 프로모터와 결합하여 기능을 수행하는 것으로서, 중간 부분이 고리 모양(loop)을 형성하게 된다. Tracking 모델은 LCR HSs에 결합한 단백질들이 프로모터에 이르는 중간 부분을 따라 이동해가서 결국 프로모터에 결합한 단백질들과 만나 기능을 수행하는 것이다. Facilitated tracking 모델은 앞서 언급한 두 모델을 결합한 형태로, LCR HSs에 결합한 단백질들이 LCR과의 결합을 유

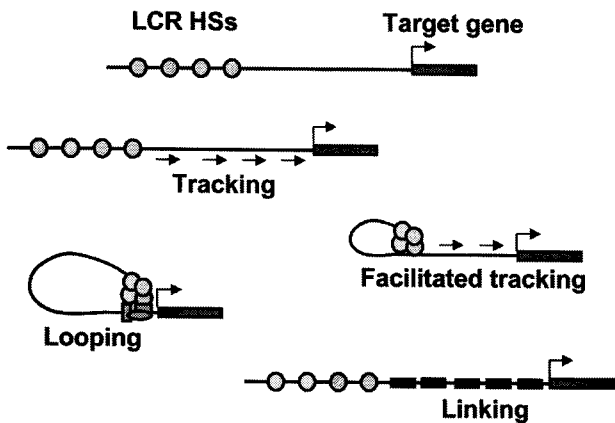


Fig. 3. Models of LCR function. HSs in LCR are depicted in circles. In tracking model, arrows in intervening region between LCR and target gene indicate the moving of proteins that are recruited to the LCR. In facilitated tracking, arrows in intervening region indicate the moving of both LCR and associated proteins into promoter. In linking models, rectangles represent the chromatin proteins which continuously bind to intervening region.

지한 채 중간 부분을 따라 프로모터까지 이동해가서 결국 고리를 형성하는 것이다. 마지막으로 linking 모델은 LCR과 프로모터 사이의 크로마틴에 단백질들이 연속적으로 결합하여 구획을 형성함으로써 LCR의 작용을 프로모터에 전달하는 것이다.

최근의 연구 결과들은 여러 가지 LCR 작용 기작 모델 중 looping 모델에 무게를 실어주고 있다. RNA-TRAP (tagging and recovery of associated proteins)과 3C (chromosome conformation capture)라는 서로 다른 두 가지 방법을 사용한 연구들은 LCR이 전사가 활발한 유전자와 위치적으로 근접한 거리에 놓여있음을 보여준다[6,42]. 이와 달리 전사가 되지 않는 유전자는 DNA 상에서 LCR과 더 가까이 존재하더라도, 전사가 활발한 유전자 보다 위치적으로 멀리 존재한다. 이것은 DNA 상의 절대 거리에 상관없는 LCR과 표적 유전자 사이의 위치적 근접성을 보여주는 것으로 고리가 형성됨을 의미한다. 그러나 이 고리가 직접적인 looping에 의해 형성되었는지, 아니면 facilitated tracking에 의해 형성되었는지는 명확하지 않다. 다만 고리 형성을 위해서는 유연한 크로마틴 구조가 필요할 것이며, 뉴클레오솜에 감겨있는 DNA의 접근성을 높여주고 상대적으로 응축되지 않은 구조를 만드는 히스톤 아세틸화는 크로마틴의 유연성을 증가시키는 한가지 방법일 것이다[1,12,25].

글로빈 좌위의 LCR은 활발히 전사되는 글로빈 유전자와 가까이 위치한다. 이때 LCR 뿐 만 아니라 좌위의 좀 더 위쪽과 아래쪽에 위치한 DNase I HSs도 전사되는 글로빈 유전자와 가까운 거리에 위치하며 ACH (active chromatin hub)를 형성한다[42]. 이에 반해 전사가 되지 않는 글로빈 유전자 부분은 ACH로부터 먼 거리에 존재하며 고리 형태로 빠져나오게 된다. ACH는 적혈구 분화에 따라 LCR의 모든 HSs가 가까이 모이게 되면서 형성되고, 발생이 진행됨에 따라 발생 단계 특이적으로 발현하는 글로빈 유전자와 선택적으로 형성된다[31]. 이것은 ACH 형성이 글로빈 유전자 발현 전환 과정(globin switching)에 관여함을 보여주는 것이며, 이 때 발생 단계에 따른 정상적인 ACH의 형성은 LCR의 모든 HSs를 필요로 한다[32]. 또한 EKLF, GATA-1과 같은 적혈구 특이적인 전사인자들도 글로빈 좌위의 ACH 형성과 유지에 관여한다[9,43].

LCR로부터 non-coding RNA 전사

활성 상태의 LCR에서는 RNA transcript가 만들어진다. 이때 만들어지는 RNA 분자는 non-coding 또는 intergenic transcript로 불리며, LCR이 표적 유전자의 전사를 활성화시키는데 있어서 매개체 역할을 하는 것으로 보인다[13,16,29]. LCR에서 시작되는 전사는 RNA pol II에 의해 일어나며, RNA pol II의 신장과 함께 주로 표적 유전자를 향해 진행된다. Pol II가 모집되어 전사가 시작되는 곳은 LCR의 HSs로,

HSs에 결합하는 전사 활성자는 pol II 모집에 중요한 역할을 한다[18,36]. 그러나 표적 유전자의 프로모터 활성화나 전사 상태는 LCR/HS로부터의 non-coding RNA 전사에 영향을 미치지 않으며, 이는 intergenic 전사가 LCR의 자체적 기능임을 보여준다[22,27].

Intergenic 전사가 일어나는 LCR과 intervening region에서는 높은 수준의 히스톤 아세틸화가 관찰된다. 이는 아세틸화효소들이 신장중인 RNA pol II와 복합체를 형성하는 것과 관련이 있는 것으로 생각되며, intergenic 전사는 히스톤 아세틸화를 통해 활성화된 크로마틴 영역을 형성함으로써 유전자 전사를 조절하는 것으로 보인다[7]. 실제로 배아와 태아 글로빈 유전자를 발현하는 인간 글로빈 좌위에서 intergenic 전사는 LCR로부터 활성화 유전자에 이르는 영역에서 발견되며 히스톤 아세틸화 영역과도 일치한다[19,20]. 그러나 일부 연구는 intergenic 전사와 히스톤 아세틸화 사이에 직접적인 관계가 없음을 보여주고 있다. 인간 성장 호르몬 좌위에서는 LCR과 표적 유전자 사이의 히스톤 아세틸화가 intergenic 전사 없이도 유지되며, TH2 cytokine 좌위에서도 히스톤 아세틸화를 위해 intergenic 전사가 꼭 필요하지는 않다[3,16].

LCR에서 시작되어 표적 유전자에 이르는 부분에서 만들어지는 intergenic transcript는 LCR의 작용 기작 중 tracking 모델을 뒷받침한다. LCR HS는 pol II를 모집한 후, intergenic 전사 과정을 통해 pol II를 표적 유전자의 프로모터로 운반함으로써 인해서 기능을 수행하는 것으로 보인다. 그 예로, minichromosome의 좌위를 이용하여 LCR HS와 표적 유전자 사이에 insulator를 삽입한 경우, 표적 유전자의 전사는 현저히 줄어든다[44]. 이때 LCR HS에서의 pol II 모집은 계속되지만, 프로모터로의 이동이 insulator에 의해 차단된다. 그 결과 HS와 insulator 사이에서는 히스톤 아세틸화가 일어나고 pol II의 축적과 함께 intergenic RNA가 발견되지만, insulator 이후 부분에서는 이러한 일들이 일어나지 않는다. 또한 최근 연구에 따르면 HS의 DNA는 pol II가 함께 intervening region을 따라 이동해 가면서 transcript를 생성하고 히스톤을 아세틸화시키며 결국 프로모터와 가까운 거리에 놓이게 되지만, 중간에 insulator가 존재할 경우 이 모든 일들이 제대로 일어나지 않는다[46]. 이것은 LCR로부터의 intergenic 전사가 pol II 이동과 히스톤 아세틸화를 위한 방법임을 의미하며, LCR의 facilitated tracking 기작을 보여준다.

LCR 연구 방향

LCR은 표적 유전자의 특이적인 전사를 조절한다. 그리고 크로마틴 구조 활성화, 히스톤 변형, 고리 형성, intergenic RNA 전사 등 표적 유전자의 전사 조절과 관계가 있는 것으로 보이는 다양한 일들을 수행한다. 그러나 이 일들이 어떤 기작으로 수행되는지, 그리고 그 기작에서 LCR이 어떤 역할을 하는지 아직 확실하지 않다. LCR에 결합하는 여러 전사

인자들이 coactivator를 포함한 여러 단백질의 결합을 유도하여 이 일들을 수행할 것으로 예상되지만, 정확한 기작은 밝혀야 할 과제이다. 또한 LCR에 의해 수행된다고 보고된 다양한 일들이 서로 어떤 관계가 있는지 설명해야 할 것이다. 아마도 이 일들은 궁극적으로 같은 목표 수행을 위해 상호 작용을 하거나 또는 다른 일을 순차적으로 유도할 것으로 생각된다. 현재 LCR에 의해 조절되는 다양한 포유류 유전자들이 밝혀졌으며, 본문에서 언급한 일들도 관찰되고 있다[26]. 일부 결과는 크로마틴 활성화나 히스톤 변형에서 LCR의 역할을 부정하고 있지만, 표적 유전자의 적절한 전사를 위해서 LCR이 필요한 것은 분명해 보인다. 따라서 LCR에 의해 수행되는 일들을 연구하고, 그 기작을 밝히는 것은 고등 진핵 생물의 유전자 조절 기작을 설명하기 위해 꼭 필요한 과제로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

참고 문헌

1. Anderson, J. D., P. T. Lowary and J. Widom. 2001. Effects of histone acetylation on the equilibrium accessibility of nucleosomal DNA target sites. *J. Mol. Biol.* **307**, 977-985.
2. Armstrong, J. A. and B. M. Emerson. 1996. NF-E2 disrupts chromatin structure at human β -globin locus control region hypersensitive site 2 in vitro. *Mol. Cell. Biol.* **16**, 5634-5644.
3. Baguet, A., X. Sun, T. Arroll, A. Krummand M. Bix. 2005. Intergenic transcription is not required in Th2 cells to maintain histone acetylation and transcriptional permissiveness at the Il4-Il13 locus. *J. Immunol.* **175**, 8146-8153.
4. Bender, M. A., M. Bulger, J. Closeand M. Groudine. 2000. Beta-globin gene switching and DNase I sensitivity of the endogenous beta-globin locus in mice do not require the locus control region. *Mol. Cell* **5**, 387-393.
5. Bulger, M., D. Schubeler, M. A. Bender, J. Hamilton, C. M. Farrell, R. C. Hardisonand M. Groudine. 2003. A complex chromatin landscape revealed by patterns of nuclease sensitivity and histone modification within the mouse beta-globin locus. *Mol. Cell. Biol.* **23**, 5234-5244.
6. Carter, D., L. Chakalova, C. S. Osborne, Y. F. Daiand P. Fraser. 2002. Long-range chromatin regulatory interactions in vivo. *Nat. Genet.* **32**, 623-626.
7. Dean, A. 2006. On a chromosome far, far away: LCRs and gene regulation. *Trends Genet.* **22**, 38-45.
8. Driscoll, M. C., C. S. Dobkinand B. P. Alter. 1989. Gamma delta beta-thalassemia due to a de novo mutation deleting the 5' beta-globin gene activation-region hypersensitive sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 7470-7474.

9. Drissen, R., R. J. Palstra, N. Gillemans, E. Splinter, F. Grosveld, S. Philipsen and W. de Laat. 2004. The active spatial organization of the beta-globin locus requires the transcription factor EKLF. *Genes Dev.* **18**, 2485-2490.
10. Forrester, W. C., E. Epner, M. C. Driscoll, T. Enver, M. Brice, T. Papayannopoulou and M. Groudine. 1990. A deletion of the human beta-globin locus activation region causes a major alteration in chromatin structure and replication across the entire beta-globin locus. *Genes Dev.* **4**, 1637-1649.
11. Forsberg, E. C., K. M. Downs, H. M. Christensen, H. Im, P. A. Nuzzi and E. H. Bresnick. 2000. Developmentally dynamic histone acetylation pattern of a tissue-specific chromatin domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**, 14494-14499.
12. Garcia-Ramirez, M., C. Rocchini and J. Ausio. 1995. Modulation of chromatin folding by histone acetylation. *J. Biol. Chem.* **270**, 17923-17928.
13. Gribnau, J., K. Diderich, S. Pruzina, R. Calzolari and P. Fraser. 2000. Intergenic transcription and developmental remodeling of chromatin subdomains in the human beta-globin locus. *Mol. Cell* **5**, 377-386.
14. Grosveld, F., G. B. van Assendelft, D. R. Greaves and G. Kollias. 1987. Position-independent, high-level expression of the human beta-globin gene in transgenic mice. *Cell* **51**, 975-985.
15. Ho, Y., F. Elefant, N. Cooke and S. Liebhaber. 2002. A defined locus control region determinant links chromatin domain acetylation with long-range gene activation. *Mol. Cell* **9**, 291-302.
16. Ho, Y., F. Elefant, S. A. Liebhaber and N. E. Cooke. 2006. Locus control region transcription plays an active role in long-range gene activation. *Mol. Cell* **23**, 365-375.
17. Im, H., J. A. Grass, K. D. Johnson, S. Kim, M. E. Boyer, A. N. Imbalzano, J. J. Bieker and E. H. Bresnick. 2005. Chromatin domain activation via GATA-1 utilization of a small subset of dispersed GATA motifs within a broad chromosomal region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 17065-17070.
18. Johnson, K. D., J. A. Grass, M. E. Boyer, C. M. Kiehaefer, G. A. Blobel, M. J. Weiss and E. H. Bresnick. 2002. Cooperative activities of hematopoietic regulators recruit RNA polymerase II to a tissue-specific chromatin domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 11760-11765.
19. Kim, A. and A. Dean. 2004. Developmental stage differences in chromatin sub-domains of the beta-globin locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 7028-7033.
20. Kim, A., C. M. Kiefer and A. Dean. 2007. Distinctive signatures of histone methylation in transcribed coding and noncoding human {beta}-globin sequences. *Mol. Cell. Biol.* **27**, 1271-1279.
21. Kim, A., S. H. Song, M. Brand and A. Dean. 2007. Nucleosome and transcription activator antagonism at human {beta}-globin locus control region DNase I hypersensitive sites. *Nucleic Acids Res.* In press.
22. Kim, A., H. Zhao, I. Ifrim and A. Dean. 2007. Beta-globin intergenic transcription and histone acetylation dependent on an enhancer. *Mol. Cell Biol.* **27**, 2980-2986.
23. Kim, S. I., S. J. Bultman, H. Jing, G. A. Blobel and E. H. Bresnick. 2007. Dissecting molecular steps in chromatin domain activation during hematopoietic differentiation. *Mol. Cell Biol.* **27**, 4551-4565.
24. Letting, D. L., C. Rakowski, M. J. Weiss and G. A. Blobel. 2003. Formation of a tissue-specific histone acetylation pattern by the hematopoietic transcription factor GATA-1. *Mol. Cell Biol.* **23**, 1334-1340.
25. Li, Q., G. Barkess and H. Qian. 2006. Chromatin looping and the probability of transcription. *Trends Genet.* **22**, 197-202.
26. Li, Q., K. R. Peterson, X. Fang and G. Stamatoyannopoulos. 2002. Locus control regions. *Blood* **100**, 3077-3086.
27. Ling, J., B. Baibakov, W. Pi, B. M. Emerson and D. Tuan. 2005. The HS2 enhancer of the beta-globin locus control region initiates synthesis of non-coding, polyadenylated RNAs independent of a cis-linked globin promoter. *J. Mol. Biol.* **350**, 883-896.
28. Litt, M. D., M. Simpson, F. Recillas-Targa, M. N. Prioleau and G. Felsenfeld. 2001. Transitions in histone acetylation reveal boundaries of three separately regulated neighboring loci. *EMBO J.* **20**, 2224-2235.
29. Masternak, K., N. Peyraud, M. Krawczyk, E. Barras and W. Reith. 2003. Chromatin remodeling and extragenic transcription at the MHC class II locus control region. *Nat. Immunol.* **4**, 132-137.
30. Milot, E., J. Strouboulis, T. Trimborn, M. Wijgerde, E. de Boer, A. Langeveld, K. Tan-Un, W. Vergeer, N. Yannoutsos, F. Grosveld and P. Fraser. 1996. Heterochromatin effects on the frequency and duration of LCR-mediated gene transcription. *Cell* **87**, 105-114.
31. Palstra, R. J., B. Tolhuis, E. Splinter, R. Nijmeijer, F. Grosveld and W. de Laat. 2003. The beta-globin nuclear compartment in development and erythroid differentiation. *Nat. Genet.* **35**, 190-194.
32. Patrinos, G. P., M. de Krom, E. de Boer, A. Langeveld, A. M. Imam, J. Strouboulis, W. de Laat and F. G. Grosveld. 2004. Multiple interactions between regulatory regions are required to stabilize an active chromatin hub. *Genes Dev.* **18**, 1495-1509.
33. Ragoczy, T., M. A. Bender, A. Telling, R. Byron and M. Groudine. 2006. The locus control region is required for association of the murine beta-globin locus with engaged transcription factories during erythroid maturation. *Genes Dev.* **20**, 1447-1157.
34. Reik, A., A. Telling, G. Zitnik, D. Cimborra, E. Epner and M. Groudine. 1998. The locus control region is necessary for gene expression in the human beta-globin locus but not the maintenance of an open chromatin structure in erythroid cells. *Mol. Cell Biol.* **18**, 5992-6000.
35. Reinke, H. and W. Horz. 2004. Anatomy of a hypersensitive site. *Biochim. Biophys. Acta.* **1677**, 24-29.
36. Routledge, S. J. and N. J. Proudfoot. 2002. Definition of transcriptional promoters in the human beta globin locus

- control region. *J. Mol. Biol.* **323**, 601-611.
37. Sawado, T., J. Halow, M. A. Bender and M. Groudine. 2003. The beta -globin locus control region (LCR) functions primarily by enhancing the transition from transcription initiation to elongation. *Genes Dev.* **17**, 1009-1018.
 38. Schubeler, D., C. Francastel, D. M. Cimborra, A. Reik, D. I. Martin and M. Groudine. 2000. Nuclear localization and histone acetylation: a pathway for chromatin opening and transcriptional activation of the human beta-globin locus. *Genes Dev.* **14**, 940-950.
 39. Schubeler, D., M. Groudine and M. A. Bender. 2001. The murine beta-globin locus control region regulates the rate of transcription but not the hyperacetylation of histones at the active genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 11432-11437.
 40. Shewchuk, B. M., S. L. Asa, N. E. Cooke and S. A. Liebhaber. 1999. Pit-1 binding sites at the somatotrope-specific DNase I hypersensitive sites I, II of the human growth hormone locus control region are essential for in vivo hGH-N gene activation. *J. Biol. Chem.* **274**, 35725-35733.
 41. Strauss, E. C. and S. H. Orkin. 1992. In vivo protein-DNA interactions at hypersensitive site 3 of the human beta-globin locus control region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 5809-5813.
 42. Tolhuis, B., R. J. Palstra, E. Splinter, F. Grosveld and W. de Laat. 2002. Looping and interaction between hypersensitive sites in the active b-globin locus. *Mol. Cell* **10**, 1453-1465.
 43. Vakoc, C. R., D. L. Letting, N. Gheldof, T. Sawado, M. A. Bender, M. Groudine, M. J. Weiss, J. Dekker and G. A. Blobel. 2005. Proximity among distant regulatory elements at the beta-globin locus requires GATA-1 and FOG-1. *Mol. Cell* **17**, 453-462.
 44. Zhao, H. and A. Dean. 2004. An insulator blocks spreading of histone acetylation and interferes with RNA polymerase II transfer between an enhancer and gene. *Nucleic Acids Res.* **32**, 4903-4919.
 45. Zhao, H.R. D. Friedman, and R. E. Fournier. 2007. The locus control region activates serpin gene expression through recruitment of liver-specific transcription factors and RNA polymerase II. *Mol. Cell Biol.* **27**, 5286-5295.
 46. Zhu, X., J. Ling, L. Zhang, W. Pi, M. Wu and D. Tuan. 2007. A facilitated tracking and transcription mechanism of long-range enhancer function. *Nucleic Acids Res.* **35**, 5532-5544.