

## **V. DISCUSIÓN**

## 1. PLAKOGLOBINA Y $\beta$ -CATENINA INTERACCIONAN EN ZONAS ADYACENTES DE Tcf-4

La serina/treonina quinasa CKII es un enzima constitutivamente activo que se expresa de forma ubicua tanto en el citoplasma como en el núcleo de células eucariotas. Su actividad se encuentra elevada en algunos tumores humanos, en líneas celulares transformadas y en tejidos en rápida proliferación (Blanquet, 2000; Pinna y Meggio, 1997). Estas observaciones, junto con el hecho de que su sobreexpresión está asociada a la aparición de linfomas (Landesman-Bollag et al. 1998), implican a la CKII en el desarrollo del proceso de tumorigénesis.

Como se ha comentado en el apartado de *Resultados*, se había sugerido que dos elementos de la vía de señalización Wnt eran fosforilados directamente por esta quinasa:  $\beta$ -catenina y dishevelled. Se había descrito que tras la transfección de Wnt-1 en la línea celular mamaria de ratón C57MG, CKII y  $\beta$ -catenina co-precipitaban con dishevelled (Song et al. 2000). Este trabajo mostraba que, tanto en los inmunoprecipitados de dishevelled como en inmunoprecipitados de  $\beta$ -catenina,  $\beta$ -catenina se fosforilaba por CKII.

Nosotros hemos confirmado que CKII y  $\beta$ -catenina interaccionan (tanto por experimentos de *pull-down* con extractos celulares como por ensayos de interacción). Sin embargo, no hemos encontrado fosforilación directa de CKII purificada sobre  $\beta$ -catenina recombinante.

Recientemente ha sido caracterizada la fosforilación de  $\beta$ -catenina por CKII, se han identificado los residuos concretos modificados por esta quinasa y su implicación en la interacción con  $\alpha$ -catenina y en la estabilidad de la proteína (Bek y Kemler, 2002). Estos autores, mediante ensayos de fosforilación con las quinasas asociadas a  $\beta$ -catenina en sus inmunoprecipitados, han presentado evidencias de que CKII fosforila e interacciona con  $\beta$ -catenina. Trabajando con mutantes puntuales han localizado esta modificación en el extremo amino terminal de  $\beta$ -catenina, en las Ser-29, Thr-102 y Thr-112. El estudio muestra que CKII regula la estabilidad citosólica de  $\beta$ -catenina actuando coordinadamente con GSK3 $\beta$  en el complejo multiproteico que controla la degradación de  $\beta$ -catenina; por otro lado, muestra

también que la fosforilación de  $\beta$ -catenina por CKII afecta positivamente a su interacción con  $\alpha$ -catenina.

Estas discrepancias entre nuestros resultados y los obtenidos por otros autores, pueden ser interpretadas de distintas formas; 1) podría ser que  $\beta$ -catenina no fuera un sustrato directo de CKII sino de otra quinasa asociada a este enzima; 2) que  $\beta$ -catenina necesitara ser pre-fosforilada por otro enzima para que CKII fuera capaz de fosforilarla; 3) que la interacción de  $\beta$ -catenina con otros componentes celulares alterara su conformación dejando accesibles los centros de fosforilación de la  $\beta$ -catenina por CKII. Estas interpretaciones explicarían porqué la fosforilación de  $\beta$ -catenina que se observa en los ensayos llevados a cabo con los inmunoprecipitados no tiene lugar en nuestros ensayos de fosforilación directos de la CKII sobre la  $\beta$ -catenina.

Además de la fosforilación de  $\beta$ -catenina por CKII, otros estudios muestran que otros cofactores de la  $\beta$ -catenina pueden ser objeto de esta modificación. Stappert y colaboradores han mostrado como la fosforilación de la región citosólica de E-cadherina por las quinasas CKII y GSK3 $\beta$  afecta positivamente a la asociación E-cadherina- $\beta$ catenina y aumenta la adhesión célula-célula mediada por E-cadherina en fibroblastos NIH3T3 (Lickert et al. 2000). Otros trabajos también indican que la fosforilación de la región central de APC por GSK3 $\beta$  regula su interacción con  $\beta$ -catenina (Rubinfeld et al. 1996).

En esta tesis, se muestra que la serina/treonina quinasa CKII también fosforila eficientemente a otro miembro de la vía Wnt: el factor de transcripción Tcf-4. Se ha identificado que el residuo fosforilado más eficientemente en esta proteína es la Ser-60, un residuo localizado muy próximo al dominio de interacción del Tcf-4 con la  $\beta$ -catenina. Se ha demostrado que la modificación de este residuo es relevante ya que, aunque no afecta a la interacción con  $\beta$ -catenina, disminuye la asociación con plakoglobina y altera la capacidad del Tcf-4 para estimular la transcripción.

Estudios realizados en células SW480 y HT29-M6 nos han mostrado que el Tcf-4 se encuentra fosforilado *in vivo* y que esta fosforilación puede ser llevada a cabo por CKII. Tampoco hay que descartar la posibilidad de que la fosforilación observada, inhibida por apigenina, sea catalizada por MAPK o PI3K, puesto que la apigenina también inhibe la actividad de estas dos quinasas. Sin embargo, los

ensayos de transcripción mediada por  $\beta$ -catenina llevados a cabo en células MDCK sugieren que el Tcf-4 sobreexpresado en estas células no se fosforila. En el caso de que Tcf-4 lo hiciera, observaríamos diferencias en la activación transcripcional de las formas de Tcf-4 *wild-type* y el mutante Ser-58,59,60→Ala. De igual forma que vemos un aumento de la actividad de la forma mutada del Tcf-4 Ser-60→Glu, en la que la mutación mimetiza la fosforilación; si el Tcf-4 estuviera fosforilado *in vivo* por CKII deberíamos observar una mayor actividad transcripcional de la forma *wild-type* respecto al mutante Ser-58,59,60→Ala, puesto que esta forma mutada no puede fosforilarse. Podría ser que esta modificación no jugara un papel importante en la regulación de la transcripción mediada por el Tcf-4 en esta línea celular. Tampoco se puede descartar que en condiciones normales el Tcf-4 no se encuentre fosforilado y sea únicamente en determinados contextos celulares en los que tenga lugar esta modificación por CKII. Podría ser que en circunstancias en las que se necesitara activar la transcripción mediada por el Tcf-4, se estimulara su fosforilación por CKII; esto disminuiría su interacción con plakoglobina y favorecería la actividad transcripcional del complejo  $\beta$ -catenina-Tcf-4.

En la discusión sobre el estado de fosforilación del Tcf-4 *in vivo* y la implicación de esta modificación en su funcionalidad, debemos tener en cuenta que la capacidad de CKII de fosforilar al Tcf-4 es altamente inhibida por la unión de  $\beta$ -catenina y plakoglobina. Hemos comprobado que solamente se fosforila con alta eficiencia el Tcf-4 no unido ni a  $\beta$ -catenina ni a plakoglobina.

En todo caso, la fosforilación del Tcf-4 por CKII nos ha permitido identificar dos dominios de interacción diferentes en esta proteína para  $\beta$ -catenina y plakoglobina. Los dos dominios de unión de las cateninas se han localizado en diferentes secuencias del extremo amino terminal del Tcf-4, en los residuos 1-51 para  $\beta$ -catenina y en los aminoácidos 51-80 para plakoglobina (figura 34). Hemos comprobado que ambas proteínas no interfieren en su asociación con el factor de transcripción pudiéndose unir simultáneamente al Tcf-4.

Durante la realización de esta tesis se ha obtenido la estructura cristalizada de  $\beta$ -catenina unida a Tcf-3, otro factor de transcripción de la familia Tcf/LEF (Graham et al. 2000). De este estudio se desprende que la interacción del extremo amino terminal del Tcf-3 y el dominio central de  $\beta$ -catenina se da en una amplia zona (figura 71). Los 60 aminoácidos del extremo N-terminal del factor de transcripción

constituyen una elongada estructura que se extiende antiparalelamente a lo largo de surco cargado positivamente del dominio central armadillo de  $\beta$ -catenina. El análisis de los cristales obtenidos muestra que tres zonas de interacción del Tcf-3 (aa 7-15, aa 16-29 y aa 40-52), muy conservadas entre los miembros de la familia, se asocian a tres regiones principales de  $\beta$ -catenina (repeticiones armadillo 9-10, 5-8 y 3-4, respectivamente). Siendo los aminoácidos más importantes para la interacción el Asp-16, Glu-24 y Leu-48 de Tcf-3 que se asocian con la Lys-435, Lys-312 y el bolsillo hidrofóbico creado por la Phe-253 y la Phe-293 de  $\beta$ -catenina, respectivamente. El estudio de esta asociación muestra que la región mínima de interacción del Tcf-3 con  $\beta$ -catenina corresponde a la comprendida entre los aminoácidos 16-29.

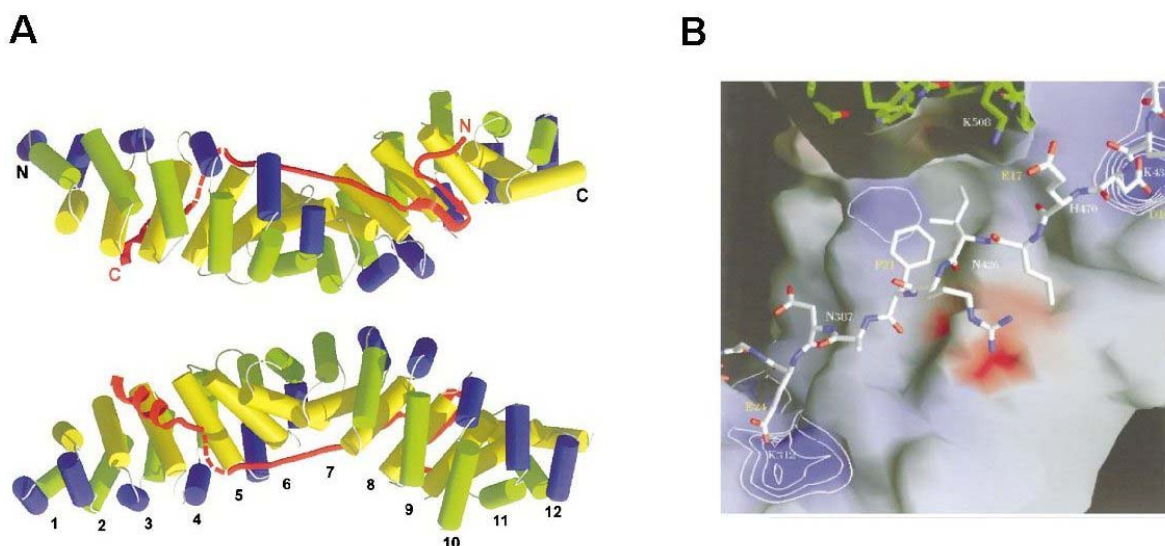


Fig.71 **Estructura del complejo Tcf-3/ $\beta$ -catenina.** (A) Estructura global del complejo visto desde dos ángulos distintos:  $\beta$ -catenina se representa con cilindros azules, verdes y amarillos mientras que el extremo N-terminal del Tcf-3 se muestra como una cinta roja con los extremos N y C marcados. (B) Detalle de la región mínima de interacción donde se indican en blanco los aminoácidos de  $\beta$ -catenina que establecen uniones con los residuos de Tcf-3 (amarillo) Se ha recortado la estructura de  $\beta$ -catenina (verde en la parte superior) para poder ver la interacción completa (adaptado de Graham et al. 2000).

Nuestros resultados, que localizan la interacción de  $\beta$ -catenina en el extremo más terminal del Tcf-4, concuerdan con estos estudios cristalográficos.

Comparando la secuencia aminoacídica de plakoglobina con  $\beta$ -catenina, es fácil pensar que, en la interacción de plakoglobina con el Tcf-3, se encuentren implicados los residuos Lys-425, Lys-302 y las Phe-244 y Phe-283, homólogos a los localizados

en  $\beta$ -catenina para esta interacción. Por la elevada homología de las zonas en las que se encuentran estos residuos, parecería que plakoglobina tuviera que interactuar con el Tcf-4 de la misma forma y con la misma región que lo hace la  $\beta$ -catenina. En cambio, hemos visto que plakoglobina se asocia a una región distinta en el Tcf-4.

Las diferencias encontradas entre ambas cateninas en cuanto a la especificidad de las secuencias de interacción en el Tcf-4 (plakoglobina se une al fragmento de 51-80 aminoácidos y  $\beta$ -catenina a la región 1-51) parecen ser debidas a la acción de sus extremos terminales. Tal como hemos comprobado, los dominios centrales de repeticiones armadillo de  $\beta$ -catenina y plakoglobina carentes de los extremos terminales, interactúan con los dos fragmentos del Tcf-4, tanto con el fragmento de 1-51 como con el de 51-110 (figuras 37 y 38). Todo parece indicar que los extremos terminales de estas dos cateninas regulan la interacción con el factor de transcripción y su actividad transcripcional. A este respecto, hemos de tener en cuenta que en nuestro grupo se ha caracterizado que los extremos terminales de  $\beta$ -catenina interactúan con su dominio armadillo y, al menos el C-terminal, compite por la interacción de  $\beta$ -catenina con factores celulares que se unen a las repeticiones armadillo como la E-cadherina y la TBP (Piedra et al. 2001). Otros estudios de nuestro grupo en este mismo sentido han mostrado que, además, ambos dominios terminales de  $\beta$ -catenina interactúan entre ellos y modulan la interacción de distintos cofactores con  $\beta$ -catenina (Castaño et al. 2002). Es fácil pensar que la presencia de los extremos terminales, asociados al dominio central de repeticiones armadillo, interfiere en la interacción de  $\beta$ -catenina con el factor Tcf-4 ya que, tal y como muestran los resultados cristalográficos, el Tcf-3 se extiende a lo largo de una amplia zona del dominio armadillo de la  $\beta$ -catenina interactuando con residuos localizados a lo largo de los armadillos 3-10.

El hecho de que plakoglobina y  $\beta$ -catenina no compitan en su asociación con el factor de transcripción indica que el efecto negativo de la plakoglobina en la transcripción mediada por  $\beta$ -catenina no es consecuencia de la competición de ambas cateninas por la unión a Tcf-4. Es más probable, como también sugieren Ben-Ze'ev y colaboradores (Zhurinsky et al. 2000b), que la asociación de

plakoglobina impida la interacción del Tcf-4 con el DNA independientemente de la interacción con  $\beta$ -catenina.

Estos autores sugieren asimismo que los extremos N y C terminales de la plakoglobina están implicados en esta represión transcripcional ya que, el dominio armadillo de plakoglobina sin los extremos terminales de la proteína, sí es capaz de formar complejos ternarios DNA/Tcf-4/Armadillo. Puede ser que la poca homología que existe entre los extremos terminales de  $\beta$ -catenina y plakoglobina (Cowin y Burke, 1996) sea la responsable de este efecto opuesto sobre la interacción Tcf-4-DNA. En relación a este aspecto, se han llevado a cabo estudios comparativos de la actividad transcripcional de  $\beta$ -catenina, plakoglobina y construcciones quiméricas con los extremos terminales de ambas cateninas intercambiados (Williams et al. 2000). Estos autores muestran que la construcción quimérica formada por las repeticiones armadillo de  $\beta$ -catenina y los extremos carboxilo y amino terminales de plakoglobina presenta un 75% menos de activación transcripcional que la forma *wild-type* de  $\beta$ -catenina. Según estos resultados los extremos amino y carboxilo terminales de plakoglobina intervendrían en la inhibición de la transcripción mediada por el Tcf-4.

Nuestros estudios indican que la plakoglobina inhibe la transcripción mediada por  $\beta$ -catenina por bloqueo de la interacción Tcf-4-DNA (figura 39). Es interesante remarcar que, según estos resultados, la presencia de plakoglobina convierte a los complejos Tcf-4 en no funcionales. En estos complejos incapaces de unirse al DNA podríamos encontrar otros elementos necesarios para la transcripción mediada por  $\beta$ -catenina; de forma que, al unirse a los complejos no funcionales, se disminuyera la cantidad disponible de estos factores necesarios para mediar la transcripción. Este es el caso de la proteína de unión a la caja TATA (TBP), un componente esencial del complejo multiproteico iniciador de la transcripción. Se había descrito que TBP interaccionaba con dos dominios distintos de  $\beta$ -catenina necesarios para la transactivación (Hecht et al. 1999). Nosotros hemos comprobado mediante ensayos de *pull-down* (figura 72) que plakoglobina presenta mayor afinidad por TBP que  $\beta$ -catenina.

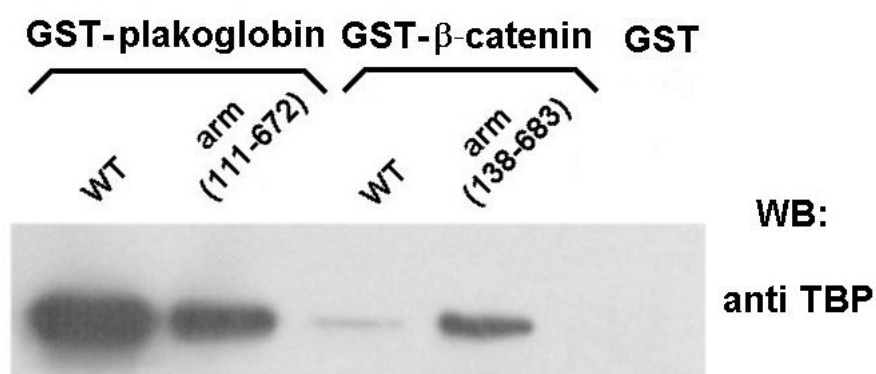


Fig.72 **Interacción de plakoglobina y  $\beta$ -catenina con TBP.** 5 pmoles de las distintas formas de  $\beta$ -catenina y plakoglobina con GST se incubaron con 100  $\mu$ g de extractos totales de células SW480. Los complejos formados se purificaron por glutathion-sepharosa y se analizaron en SDS-PAGE seguida de Western blot con anti-TBP.

Plakoglobina (carril 1) interacciona mejor con TBP que  $\beta$ -catenina (carril 3) y esta asociación, al igual que la interacción con el Tcf-4, está regulada por la presencia de los extremos terminales de ambas cateninas. Así, observamos que la forma de plakoglobina que carece de sus extremos terminales (arm 111-672, carril 2) interacciona peor con TBP que la forma de plakoglobina *wild-type*. En cambio, en el caso de la  $\beta$ -catenina, la ausencia de los extremos terminales de la proteína tiene el efecto opuesto: provoca un aumento de la interacción con la TBP (carril 4).

Así pues, los complejos que contengan Tcf-4 y plakoglobina funcionarían como inhibidores de la vía de señalización Wnt, secuestrando  $\beta$ -catenina y TBP e impidiendo que pudieran mediar la transcripción. En la siguiente figura se esquematizan los diferentes efectos que observaríamos sobre la actividad transcripcional del Tcf-4 al interaccionar con  $\beta$ -catenina, plakoglobina o ambas simultáneamente.



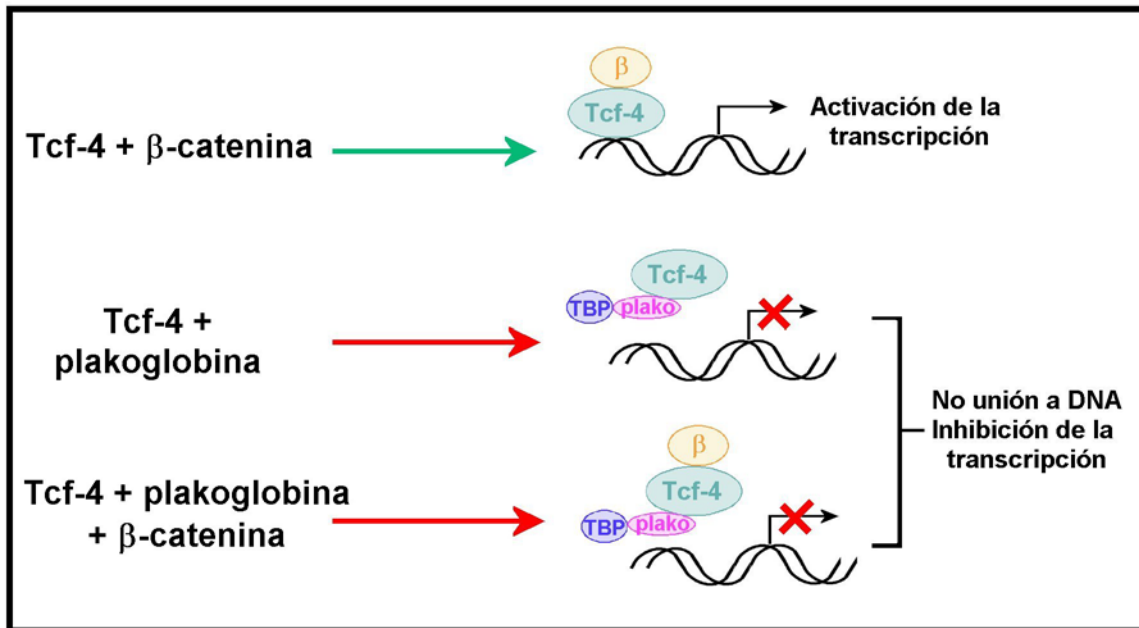


Fig.73 Esquema de los diferentes efectos de la β-catenina y la plakoglobina en la transcripción mediada por el Tcf-4. Los complejos que contienen plakoglobina son incapaces de unirse al DNA y activar la transcripción.

Aunque nuestros resultados indican que plakoglobina inhibe la transcripción mediada por Tcf-4, hay trabajos que demuestran que plakoglobina puede promover la activación transcripcional mediada por β-catenina en algunas líneas celulares (Simcha et al. 1998). No obstante, esta aparente contradicción puede explicarse teniendo en cuenta que plakoglobina y β-catenina son reguladas por el mismo sistema de degradación del proteosoma (Zhurinsky et al. 2000a). La plakoglobina parece no ser degradada tan activamente como β-catenina por el complejo de destrucción (Williams et al. 2000). La sobreexpresión de plakoglobina puede originar la competición de ambas cateninas por el sistema de degradación; plakoglobina aumenta la vida media de β-catenina e incrementa la cantidad de esta proteína disponible para ser transportada al núcleo y activar la transcripción. Si este es el único mecanismo por el cual plakoglobina puede ejercer un papel positivo sobre la transcripción, esta activación tendrá lugar únicamente en aquellas células en las que la degradación de β-catenina por el complejo del proteosoma se encuentre activada; por lo tanto, en las líneas celulares de colon, únicamente encontraremos este papel activador de plakoglobina en aquellas que no presenten alteraciones en los componentes del complejo de degradación (APC, axina,...).

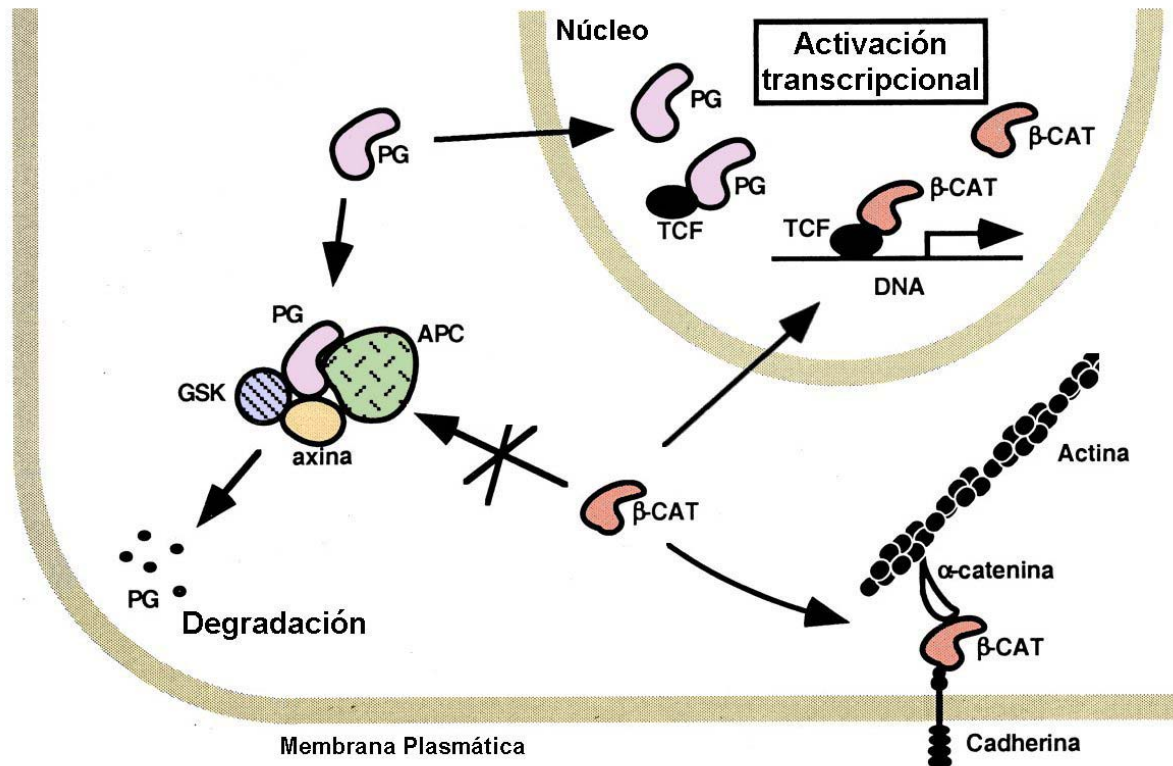


Fig.74 Representación esquemática del efecto activador sobre la transcripción propuesto para la plakoglobina. Plakoglobina bloquea la degradación de la β-catenina citosólica e induce su translocación al núcleo (adaptado de Zhurinsky et al. 2000a). PG, plakoglobina; β-CAT, β-catenina.

Por otro lado, la sobreexpresión de plakoglobina puede originar la competición de β-catenina y plakoglobina por los componentes de las uniones adherentes (E-cadherina y α-catenina). Este mecanismo también implicaría la acumulación de β-catenina citosólica y la activación de la transcripción mediada por los factores LEF/Tcf. Hay estudios que muestran cómo la expresión de elevados niveles de plakoglobina puede desplazar eficientemente la β-catenina endógena de los complejos de adhesión, promoviendo su degradación por el proteosoma y la translocación, del exceso de β-catenina libre, al núcleo (Salomon et al. 1997).

Por lo tanto, dependiendo de su localización en la membrana, en el citosol o en el núcleo, la plakoglobina ejercería un papel positivo o negativo en la transcripción mediada por β-catenina. En la membrana, plakoglobina actuaría como activador de la transcripción sustituyendo a β-catenina en los complejos de adhesión, promoviendo su acumulación en el citosol y su translocación al núcleo. En el citosol, plakoglobina activaría la transcripción impidiendo la degradación de β-catenina por el proteosoma. En el núcleo, debido a su incapacidad de formar complejos unidos al

DNA: plakoglobina/Tcf-4/DNA o plakoglobina/ $\beta$ -catenina/Tcf-4/DNA; plakoglobina se convertiría en inhibidor de la transcripción.

Podemos pensar en otros puntos adicionales de control de esta vía. La cantidad de  $\beta$ -catenina y plakoglobina citosólicas disponibles para ser transportadas al núcleo puede ser muy variable dependiendo de las diferentes líneas celulares, de sus niveles totales y del grado de asociación de estas cateninas con otras proteínas. Como hemos visto en la sección de *Resultados*, las interacciones de  $\beta$ -catenina y plakoglobina con componentes de las uniones adherentes y los desmosomas están reguladas por fosforilación en tirosina de las cateninas; esto convierte al mecanismo de fosforilación de la  $\beta$ -catenina y plakoglobina en otro posible punto de regulación de la activación transcripcional. El mecanismo de transporte al núcleo de estas dos proteínas, todavía desconocido, podría presentar una diferente eficiencia para las dos cateninas y, una vez en el núcleo, el grado de fosforilación del Tcf-4 podría favorecer la unión de  $\beta$ -catenina sobre la de plakoglobina. Tampoco hay que olvidar que la capacidad de  $\beta$ -catenina y plakoglobina de interactuar con componentes de la maquinaria basal de la transcripción puede estar regulada. Todos estos puntos deberían ser estudiados para poder caracterizar por completo la función de  $\beta$ -catenina y plakoglobina en la transcripción mediada por Tcf-4.

En todo caso, nuestros resultados, en los que la unión de plakoglobina a los complejos Tcf-4- $\beta$ -catenina bloquea la interacción con el DNA, indican una posible explicación de los papeles opuestos que juegan  $\beta$ -catenina y plakoglobina en el crecimiento de células epiteliales. Por ejemplo, contrariamente a lo que sucede con  $\beta$ -catenina, la sobreexpresión de plakoglobina disminuye la tumorigenicidad de muchas células altamente transformadas (Simcha et al. 1996). La expresión transgénica de  $\beta$ -catenina y plakoglobina actúa inversamente en el crecimiento del cabello; mientras que  $\beta$ -catenina induce tumores epiteliales (Gat et al. 1998), plakoglobina suprime la proliferación (Charpentier et al. 2000). Además, a diferencia de  $\beta$ -catenina, se ha descrito que la expresión de plakoglobina está regulada negativamente en muchos tumores epiteliales (Aberle et al. 1995; Sommers et al. 1994).

## 2. REGULACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE $\beta$ -CATENINA POR FOSFORILACIÓN EN RESIDUOS TIROSINA

### 2.1 REGULACIÓN DE LA INTERACCIÓN $\beta$ -CATENINA-E-CADHERINA POR FOSFORILACIÓN DE LA TIROSINA 654 DE $\beta$ -CATENINA

Varios estudios habían asociado el desensamblaje de las uniones adherentes con el aumento de la fosforilación en tirosinas de proteínas del complejo cadherina/cateninas (Behrens et al. 1993; Kinch et al. 1995; Ozawa y Kemler, 1998). Induciendo la expresión de oncogenes como v-src o ras o tratando las células con vanadato, inhibidor de tirosina-fosfatasas, estos autores observaban la pérdida de los contactos intercelulares, la desagregación celular y un aumento de fosforilación en tirosinas de diversas proteínas de los complejos de unión. Entre estas proteínas, los cambios más relevantes habían sido detectados en  $\beta$ -catenina; se había asumido que el incremento en la fosforilación en tirosinas de esta proteína era la causa de la pérdida de función de la E-cadherina. Sin embargo, al inicio de esta tesis, todavía no se había podido establecer una relación concluyente e incluso se habían propuesto explicaciones alternativas (Takeda et al. 1995).

En esta tesis, se ha mostrado mediante ensayos *in vitro* con proteínas recombinantes que la fosforilación en tirosina de  $\beta$ -catenina afecta negativamente a su asociación con la E-cadherina, evidenciando una relación directa causa-efecto. Se ha identificado la tirosina implicada en la regulación de esta interacción, la Tyr-654, y se ha demostrado que la modificación de este residuo altera la asociación entre E-cadherina y  $\beta$ -catenina.

En los ensayos *in vitro*, la fosforilación de  $\beta$ -catenina se ha llevado a cabo por la tirosina quinasa Src. Esta proteína quinasa y su homóloga viral, v-Src, habían sido implicadas en la fosforilación de  $\beta$ -catenina en células MDCK y en el desensamblaje de las uniones adherentes y pérdida de función de la E-cadherina (Behrens et al. 1993). Los resultados de nuestro trabajo indican que Src fosforila a  $\beta$ -catenina en dos residuos tirosina, identificados como las tirosinas 86 y 654. Puesto que estas dos tirosinas modificadas *in vitro* por pp60<sup>c-src</sup> no son fosforiladas con la misma eficiencia, es posible que Src esté catalizando únicamente la fosforilación directa de la Tyr-86, residuo que modifica más eficientemente. Pensamos que otra quinasa podría ser la responsable de la fosforilación de la tirosina 654 y estudiamos esta

posibilidad. Otras quinasas que se han encontrado asociadas a  $\beta$ -catenina, como la quinasa FER, el receptor de EGF o su homólogo erbB2 (Rosato et al. 1998; Shibamoto et al. 1994; Shibata et al. 1996; respectivamente), eran posibles candidatos para la fosforilación del residuo 654. Los ensayos quinasa *in vitro* llevados a cabo en nuestro grupo nos han indicado que el EGFR y erbB2 fosforilan de manera específica y con alta eficiencia la tirosina 654 de  $\beta$ -catenina.

Durante la realización de esta tesis ha sido determinada la estructura tridimensional del complejo E-cadherina- $\beta$ -catenina. El análisis de los cristales obtenidos muestra que, la tirosina 654 de  $\beta$ -catenina es uno de los residuos de  $\beta$ -catenina que establecen uniones directas (bien por puente de hidrógeno o salino) con residuos de E-cadherina. Esta tirosina forma un puente de hidrógeno directamente con el aspártico 665 de la E-cadherina. Es fácil pensar que la introducción de un grupo fosfato en la posición 654 de  $\beta$ -catenina, causaría la disociación de la estructura, ya que el grupo fosfato es excesivamente grande para ser acomodado en la interfase, y repelería electrostáticamente al aspártico 665 de la cadherina (Huber y Weis, 2001).

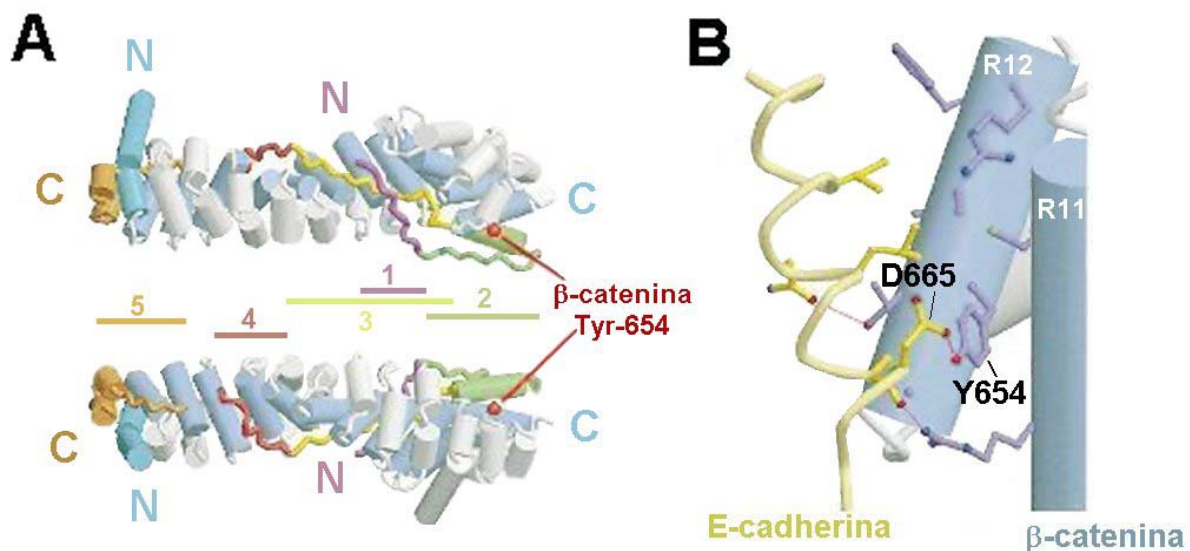


Fig.75 **Estructura del complejo cito-Ecadherina/ $\beta$ -catenina.** (A) Estructura global del complejo visto desde dos ángulos distintos:  $\beta$ -catenina se representa con cilindros azules y blancos mientras que el dominio citosólico de E-cadherina se muestra como una cinta coloreada donde cada color marca una región de interacción. Los extremos N y C terminales de cada proteína se indican así como la posición de la tirosina 654 de  $\beta$ -catenina. (B) Detalle de la región de interacción denominada II donde se indican en violeta los aminoácidos de  $\beta$ -catenina que establecen uniones con los residuos de E-cadherina (amarillo). Se destacan la tirosina 654 de  $\beta$ -catenina y el aspártico 665 de E-cadherina (adaptado de Huber y Weis, 2001).

## 2.2 REGULACIÓN DE LA INTERACCIÓN $\beta$ -CATENINA- $\alpha$ -CATENINA POR FOSFORILACIÓN DE LA TIROSINA 142 DE $\beta$ -CATENINA

Al igual que la asociación E-cadherina- $\beta$ -catenina, la interacción de  $\beta$ -catenina con  $\alpha$ -catenina también parece estar regulada por fosforilación en residuos tirosina (Hu et al. 2001; Ozawa y Kemler, 1998). Estudios llevados a cabo por estos últimos autores habían mostrado que la adición de pervanadato, inhibidor de tirosinafosfatasa, en varias líneas celulares provocaba la disociación de la  $\alpha$ -catenina de los complejos de adhesión celular.

Nuestro trabajo, ha permitido identificar la tirosina 142 de  $\beta$ -catenina como responsable del mantenimiento de la asociación  $\beta$ -catenina- $\alpha$ -catenina. El estado de fosforilación de este residuo regula esta interacción. Nuestros estudios han identificado asimismo las quinasas implicadas en su fosforilación.

Durante la realización de esta tesis ha sido determinada la estructura tridimensional del complejo  $\alpha$ -catenina- $\beta$ -catenina (Pokutta y Weis, 2000) y el análisis de los cristales obtenidos muestra que, la tirosina 142 de  $\beta$ -catenina establece interacciones por puente de hidrógeno y contactos de van der Waals con diversos residuos de  $\alpha$ -catenina y también con el aspártico 144 y el glutámico 147 de  $\beta$ -catenina. Puesto que el grupo hidroxilo de la tirosina 142 se localiza muy próximo a dos residuos ácidos, es muy probable que, como consecuencia de la fosforilación de esta tirosina, la introducción de un grupo fosfato con su consiguiente carga negativa afecte negativamente al mantenimiento de la estructura y a la interacción con  $\alpha$ -catenina.

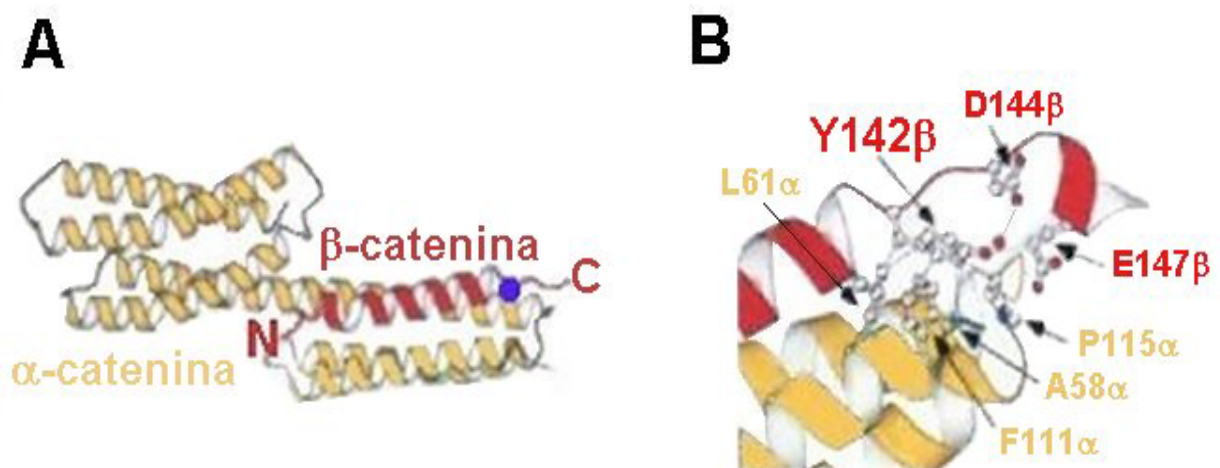


Fig.76 **Estructura del complejo  $\alpha$ -catenina/ $\beta$ -catenina.** (A) Representación esquemática de la interacción  $\beta$ -catenina/ $\alpha$ -catenina. En rojo se representa la  $\beta$ -catenina y el punto azul marca la tirosina 142. En amarillo se representa la región N-terminal de  $\alpha$ -catenina. (B) Detalle de la zona de interacción entre  $\alpha$ -catenina (en amarillo) y  $\beta$ -catenina (en rojo). Se muestran en color rojo los aminoácidos de  $\beta$ -catenina implicados en la interacción, y en amarillo los de  $\alpha$ -catenina (adaptado de Pokutta y Weis, 2000).

En nuestro trabajo, se han generado mutantes de  $\beta$ -catenina en los que se ha sustituido la tirosina 142 por fenilalanina o glutámico, y se ha ensayado *in vitro* la capacidad de diversas quinasas para fosforilar la forma nativa y mutada de  $\beta$ -catenina. De esta manera hemos detectado dos tirosina quinasas solubles que pueden modificar el residuo 142; las quinasas Fer (de *Fps/Fes-related*) y Fyn (miembro de la familia de Src). Ambas están ampliamente expresadas en tejido epitelial, y han sido implicadas en la fosforilación de  $\beta$ -catenina y la regulación de los contactos celulares (Rosato et al. 1998; Owens et al. 2000).

Mediante ensayos de interacción con proteínas recombinantes, fosforilando  $\beta$ -catenina con la quinasa Fer o bien simulando la fosforilación de  $\beta$ -catenina en la posición 142 mediante la mutación a glutámico (Tyr-142→Glu), hemos conseguido bloquear completamente la unión entre  $\beta$ -catenina y  $\alpha$ -catenina. Estos datos han confirmado que la interacción entre  $\beta$ -catenina y  $\alpha$ -catenina puede ser regulada por fosforilación de la tirosina 142 de  $\beta$ -catenina. Efectos similares se han detectado *in vivo* al transfectar transitoriamente células epiteliales RWP1 con las quinasas Fer o Fyn.

### 3. REGULACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE PLAKOGLOBINA POR FOSFORILACIÓN EN RESIDUOS TIROSINA

Como se ha indicado anteriormente, la plakoglobina es un componente de las uniones adherentes y los desmosomas cuya fosforilación en tirosinas también se ha postulado en la regulación de los contactos intercelulares. Al igual que  $\beta$ -catenina, plakoglobina se asocia con tirosina quinasas (tales como EGFR o erbB-2) y tirosina fosfatasas (como PTP  $\mu$  y LAR) sugiriendo que su fosforilación y defosforilación puede modular la adhesión celular (Hoschuetzki et al. 1994; Kanai et al. 1995; Fuchs et al. 1996; Müller et al. 1999). Aunque la fosforilación en tirosinas de  $\beta$ -catenina se

había correlacionado con la pérdida de la adhesión celular mediada por E-cadherina en algunos tipos celulares (Behrens et al. 1993; Hamaguchi et al. 1993), menos se conocía sobre los efectos de la fosforilación en tirosinas de plakoglobina. Se ha descrito que, en células A431, plakoglobina se fosforila en residuos tirosina tras la estimulación con EGF y esta modificación regula su asociación con desmoplakina (Gaudry et al. 2001).

La plakoglobina, como componente específico de los desmosomas, media la interacción de las cadherinas desmosómicas, desmogleína y desmocolina, con desmoplakina y los filamentos intermedios del citoesqueleto. Otras proteínas, como plakofilina, también participan en estos complejos de adhesión (Bornslaeger et al. 2001). Aunque plakoglobina se incorpora preferentemente en los desmosomas, puede desempeñar el mismo papel que  $\beta$ -catenina en las uniones adherentes interaccionando simultáneamente con E-cadherina y  $\alpha$ -catenina.

En nuestro trabajo hemos descrito como las mismas tirosina quinasa fosforilan de forma diferente residuos equivalentes en  $\beta$ -catenina y plakoglobina. Por ejemplo, EGFR no fosforila el residuo homólogo a la Tyr-654 de  $\beta$ -catenina, Tyr-643 en plakoglobina, pero modifica su extremo carboxilo terminal. Src cataliza con mayor eficiencia la fosforilación de la Tyr-643 de plakoglobina que la de la Tyr-654 de  $\beta$ -catenina. Por último, Fer o Fyn no fosforilan con alta eficiencia la Tyr-133 de plakoglobina, el residuo equivalente a la tirosina 142 de  $\beta$ -catenina. Hemos visto que Fer no puede modificar este residuo y Fyn lo hace con baja estequiometría. Estas dos quinasa actúan sobre otro residuo diferente, la Tyr-549, equivalente a la Phe-561 en  $\beta$ -catenina.

En la figura 77 se muestra un resumen de los residuos tirosina diana de las diferentes quinasa. Hasta el momento, no conocemos cuál es la quinasa responsable de la modificación de la Tyr-133 *in vivo*, ni si este residuo se encuentra realmente modificado.



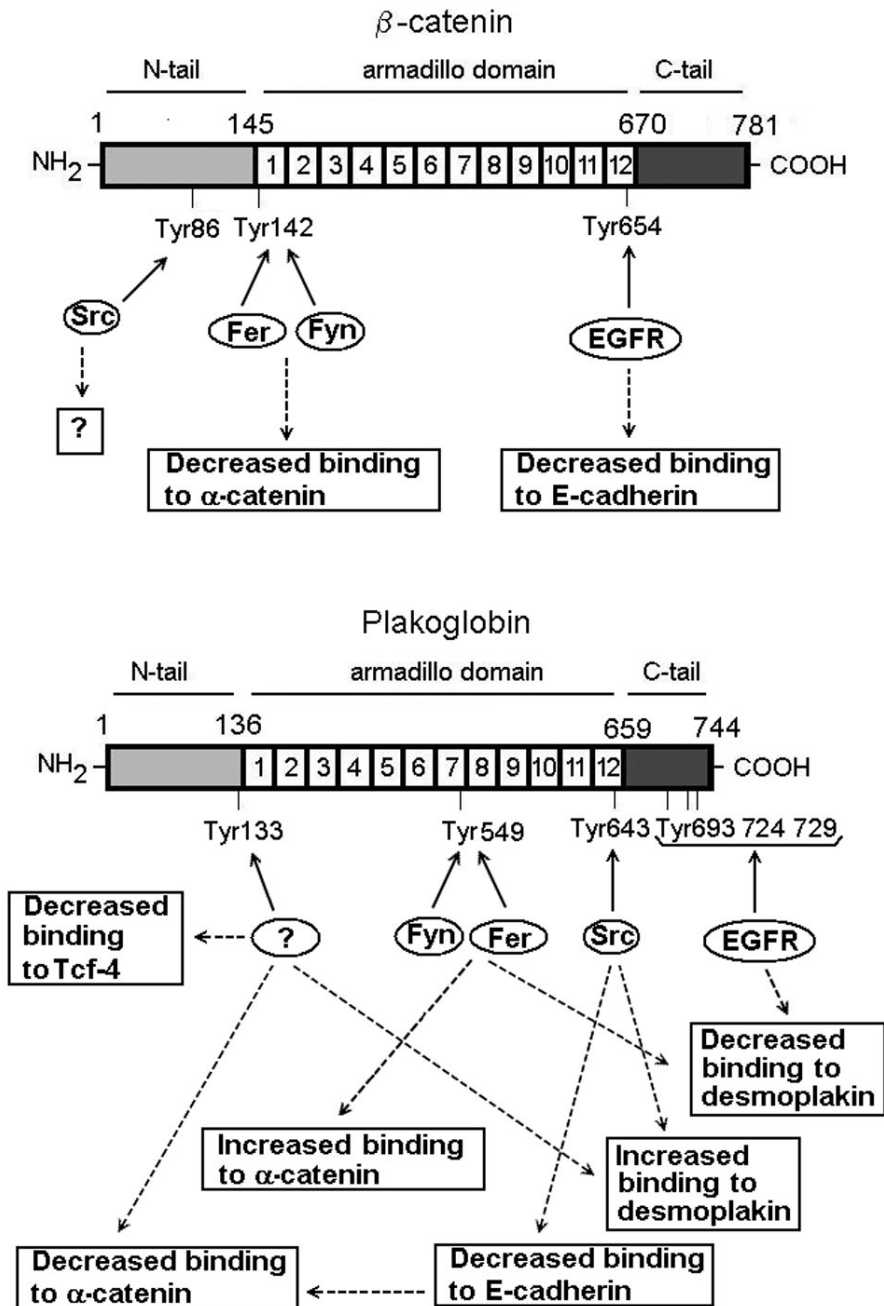


Fig.77 Diagrama de los residuos tirosina de β-catenina y plakoglobina fosforilados por las quinasas Src, EGFR, Fer y Fyn y sus efectos. Se muestran las quinasas implicadas en la fosforilación de los residuos relevantes en β-catenina y plakoglobina y los efectos causados por estas quinasas en la interacción de estas proteínas con sus cofactores celulares. Las cuestiones marcadas (?) indican que el efecto de la fosforilación no ha sido demostrado (en el caso de la Tyr-86 de β-catenina) o que la quinasa responsable no ha sido identificada (en el caso de la Tyr-133 de plakoglobina).

Aunque algunos de los efectos de estas modificaciones tienen lugar tanto en la plakoglobina como en la β-catenina, también se han detectado algunas diferencias significativas. Respecto a la interacción de estas dos cateninas con componentes de

las uniones adherentes, aunque las quinasas implicadas no son las mismas, la introducción de cargas negativas en las tirosinas 643 y 133 de plakoglobina y 654 y 142 de  $\beta$ -catenina afecta negativamente a la interacción con E-cadherina y  $\alpha$ -catenina respectivamente. Sin embargo, la fosforilación de la Tyr-133 de plakoglobina ejerce un efecto adicional: bloquea la interacción con el Tcf-4; una inhibición que no se ha detectado al fosforilar  $\beta$ -catenina en el residuo 142 o cuando se mutagenizó a glutámico. Esta diferencia observada es probablemente consecuencia de los diferentes sitios de interacción del Tcf-4 en plakoglobina y  $\beta$ -catenina. La tirosina 133 se localiza en el extremo amino terminal de la plakoglobina justo al inicio de la primera repetición armadillo. Tal y como hemos descrito en la sección de *Resultados*, el Tcf-4 se asocia principalmente a las repeticiones armadillo 1-6 de plakoglobina mientras que requiere las repeticiones armadillo 3-10 de  $\beta$ -catenina (Graham et al. 2000).

La fosforilación de plakoglobina también modula la interacción de esta proteína con los componentes de los desmosomas. La fosforilación de la Tyr-133 y Tyr-643 aumenta su asociación con desmoplakina, una proteína que se ha mostrado que interacciona con el dominio central de repeticiones armadillo (Kowalczyk et al. 1997; Green y Gaudry, 2000).

Estos resultados, en los que observamos que la fosforilación de las tirosinas 133 y 643 de plakoglobina regula de forma contraria la interacción con cofactores de las uniones adherentes o los desmosomas, sugieren que estas tirosinas podrían regular el intercambio de plakoglobina de un tipo de unión celular a otro: la fosforilación de la Tyr-643 (por Src) o la Tyr-133 (por un mecanismo todavía desconocido) provocaría la disociación de la interacción de plakoglobina con componentes de las uniones adherentes (E-cadherina y  $\alpha$ -catenina, en el caso de la Tyr-643; o sólo  $\alpha$ -catenina para la Tyr-133) y favorecería en ambos casos la asociación a la proteína desmosómica, desmoplakina. Para comprobar si estas modificaciones tenían lugar *in vivo* hemos transfectado Src en células RWP1 y hemos confirmado que este cambio de la plakoglobina por las afinidades de los componentes de ambos tipos de uniones celulares se producía cuando Src se sobreexpresaba en estas células epiteliales.

A parte de las tirosinas 133 y 643, cuyos residuos homólogos en  $\beta$ -catenina también son modificados, otros centros de fosforilación adicionales son modificados en la plakoglobina. Así, el receptor de EGF modifica residuos tirosina del extremo

carboxilo terminal de la plakoglobina; según Gaudry y colaboradores las Tyr-693, Tyr-724 o Tyr-729 son las implicadas en esta fosforilación. Como consecuencia de esta modificación, la interacción plakoglobina-desmoplakina se encuentra disminuída. Por otro lado, las quinasas Fer y Fyn actúan sobre la tirosina 549 de plakoglobina. La introducción de una carga negativa en este residuo aumenta su asociación con  $\alpha$ -catenina al mismo tiempo que inhibe la interacción con desmoplakina. Así, estas dos quinasas actúan de forma opuesta a Src: desestabilizan las uniones entre plakoglobina y la proteína asociada a los desmosomas (desmoplakina) y favorecen la asociación con proteínas de las uniones adherentes ( $\alpha$ -catenina). La expresión ectópica de Fer en células RWP1 confirmó esta conclusión puesto que la sobreexpresión de la quinasa provocó el intercambio de las proteínas unidas a plakoglobina.

Por lo tanto, nuestros resultados indican que la fosforilación en tirosinas puede modular la localización específica de plakoglobina en las uniones adherentes y los desmosomas, desplazando a esta proteína desde un tipo de complejo de adhesión a otro (figura 78).

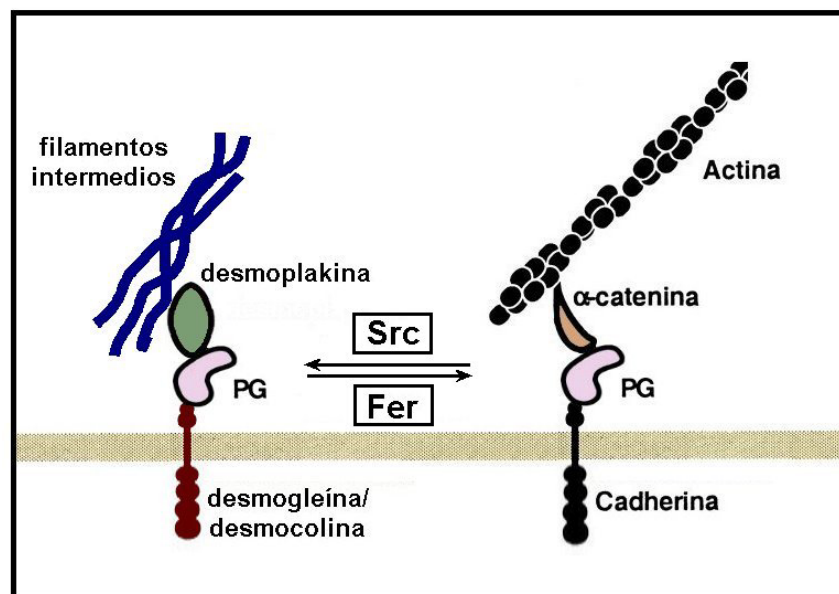


Fig. 78 **Modelo propuesto para el intercambio de la plakoglobina entre las uniones adherentes y los desmosomas.** Las quinasas Src y Fer promueven el paso de la plakoglobina de un tipo de unión a otro. **PG**, plakoglobina.

Estos resultados obtenidos pueden explicar porqué algunos autores han asociado la fosforilación en tirosinas de las cateninas con un aumento de la

adhesión célula-célula en algunos sistemas celulares como los queratinocitos (Calautti et al. 1998 y 2002). Estas células presentan una elevada cantidad de plakoglobina debido principalmente a que contienen un gran número de desmosomas, uniones celulares características de tejidos sometidos a un importante estrés mecánico (Green y Gaudry, 2000). Un incremento en la cantidad de plakoglobina conlleva la elevada presencia de esta catenina en las uniones adherentes, pudiendo compensar incluso la ausencia de  $\beta$ -catenina en queratinocitos deficientes (Posthaus et al. 2002). Estas observaciones junto con el hecho de que tanto actividad como niveles elevados de la quinasa Fyn se detectan en este tipo celular podrían explicar porqué los resultados obtenidos en estas células no se hayan reproducido en otros sistemas celulares.

Además, el paso de plakoglobina de un tipo de complejo de adhesión a otro puede tener otro significado funcional, como sugieren nuestros resultados. Como ya comentamos en otro apartado de la *Discusión* la transfección de plakoglobina aumenta la actividad transcripcional de los complejos  $\beta$ -catenina-Tcf-4. Esta activación es llevada a cabo por plakoglobina de forma indirecta puesto que la presencia de plakoglobina previene la unión del Tcf-4 al DNA. Esta activación debería de tener lugar en condiciones que prevengan a la plakoglobina de su translocación al núcleo, por ejemplo por su incremento de unión a  $\alpha$ -catenina. Nuestros resultados son consistentes con esta conclusión: el aumento de interacción de plakoglobina con  $\alpha$ -catenina se detecta en las células IEC-18 transfectadas de forma estable con el oncogen Kras, un sistema celular en el que la sobreexpresión de Kras conlleva un incremento en la actividad transcripcional. Además, el efecto positivo de la plakoglobina en la activación transcripcional mediada por Tcf-4 no se observa con las formas mutadas de plakoglobina incapaces de interaccionar con las uniones adherentes e incapaces de competir por el desplazamiento de  $\beta$ -catenina de los complejos de adhesión, como son los mutantes Tyr-133→Glu y Tyr-643→Glu.

Finalmente, nuestros resultados sugieren que plakoglobina y  $\beta$ -catenina aunque comparten una estructura muy similar presentan diferencias importantes para su funcionalidad. Al igual que sucede con  $\beta$ -catenina, hay evidencias que indican que los extremos amino y carboxilo terminales de la plakoglobina regulan la interacción de diferentes factores con su dominio central de repeticiones armadillo. Se han realizado estudios de interacción entre la desmogleína y construcciones quiméricas

del dominio armadillo de plakoglobina con los extremos terminales de  $\beta$ -catenina (Wahl et al. 2000). Estos ensayos indican que, de forma coordinada, los extremos terminales de  $\beta$ -catenina impiden la asociación de esta catenina con componentes de los desmosomas. Estos trabajos junto con resultados que hemos observado respecto a la interacción de las cateninas con el Tcf-4 (mostrados en el primer apartado de esta tesis), indican que los extremos terminales de ambas cateninas modulan la interacción del dominio armadillo con sus cofactores celulares.

Análogamente a lo observado para  $\beta$ -catenina (Piedra et al. 2001), podemos pensar que la fosforilación en residuos tirosina del dominio de repeticiones armadillo de plakoglobina puede prevenir la interacción entre los extremos terminales y el dominio central armadillo facilitando la asociación de diferentes cofactores de plakoglobina. Este efecto explicaría por qué la fosforilación del residuo 549 facilita la asociación de  $\alpha$ -catenina con plakoglobina, unión que tiene lugar en los aminoácidos 109-137 de plakoglobina (Aberle et al. 1996).

Por otro lado, como ya se ha comentado, nuestro grupo había mostrado una interacción coordinada de E-cadherina y  $\alpha$ -catenina en la unión a  $\beta$ -catenina. Este efecto era dependiente de la presencia de los dos extremos terminales y era debido a la modulación de  $\alpha$ -catenina sobre el extremo amino terminal que inducía una disminución de la unión del extremo carboxilo terminal al dominio armadillo (Castaño et al. 2002). En la plakoglobina, una asociación coordinada de los dos cofactores también ha sido detectada pero de forma contraria: la previa asociación de E-cadherina disminuye notablemente la interacción con  $\alpha$ -catenina, siendo el efecto incluso más evidente que en el caso de la  $\beta$ -catenina. Estos resultados sugieren que ambos extremos terminales de plakoglobina también interaccionan con el dominio central de repeticiones armadillo y la unión de E-cadherina, a través de cambios conformacionales que afectan al extremo carboxilo terminal, aumenta la asociación plakoglobina- $\alpha$ -catenina.

La verificación de este modelo para la plakoglobina es actualmente tema de estudio en nuestro laboratorio. El hecho de que los dominios terminales de plakoglobina y  $\beta$ -catenina estén implicados en la regulación de las interacciones con otras proteínas y la poca homología que presentan los extremos de ambas cateninas podría explicar las diferencias funcionales observadas entre estas dos proteínas. Para profundizar más en esta hipótesis hemos realizado recientemente

construcciones quiméricas de plakoglobina y  $\beta$ -catenina con los extremos terminales de ambas cateninas intercambiados (figura 79, panel A). Con estas formas quiméricas de las cateninas hemos realizado ensayos de interacción por *pull-down* para comprobar si la presencia de los extremos de plakoglobina con el dominio armadillo de  $\beta$ -catenina se comportaba de forma similar a la plakoglobina *wild-type* y viceversa. En la figura 79 se muestran los resultados preliminares que hemos obtenido.

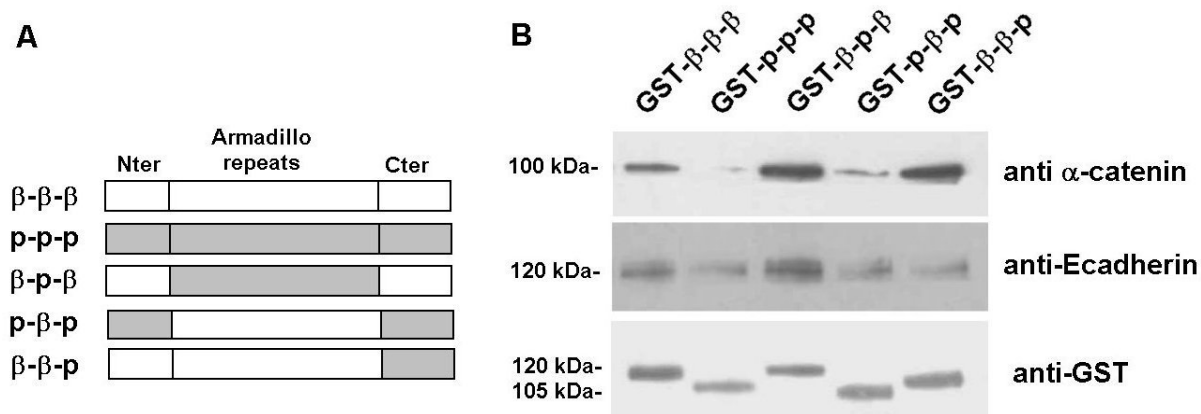


Fig.79 **Los extremos terminales de  $\beta$ -catenina y plakoglobina modulan su interacción con  $\alpha$ -catenina y E-cadherina.** (A) Esquema de las distintas formas quiméricas de  $\beta$ -catenina y plakoglobina. (B) 5 pmoles de las distintas formas quiméricas con GST se incubaron con 100  $\mu$ g de extractos totales de células SW480. Los complejos formados se purificaron por glutation-sepharosa y se analizaron en SDS-PAGE seguida de Western blot con los anticuerpos indicados. Se indican los pesos moleculares estimados de las bandas detectadas por cada anticuerpo.

Los ensayos preliminares llevados a cabo indican que los extremos terminales de ambas proteínas modulan de forma distinta la interacción con E-cadherina y  $\alpha$ -catenina; aquellas construcciones que tienen presente el extremo amino terminal de la plakoglobina (p-p-p y p- $\beta$ -p, carriles 2 y 4, panel B) presentan disminuida drásticamente su afinidad por  $\alpha$ -catenina y las formas que contienen el extremo carboxilo terminal de plakoglobina (p-p-p, p- $\beta$ -p y  $\beta$ - $\beta$ -p, carriles 2, 4 y 5, panel B) presentan una reducción en su interacción con E-cadherina. Estos resultados podrían indicar que los extremos terminales de plakoglobina interaccionan con los dominios armadillo de ambas cateninas y lo hacen con mayor afinidad que los extremos terminales de  $\beta$ -catenina. Esta mayor interacción implicaría una menor asociación de otros cofactores, como  $\alpha$ -catenina y E-cadherina, con el dominio central armadillo.

En conjunto, nuestros resultados indican que plakoglobina y  $\beta$ -catenina, aunque estructural y funcionalmente similares, están reguladas de forma diferente por tirosina quinasas y aportan nuevas evidencias para la regulación de las uniones celulares presentes en las células epiteliales.

## **VI. CONCLUSIONES**



1.- Se ha determinado que el factor de transcripción Tcf-4 presenta dos zonas de interacción diferentes para  $\beta$ -catenina y plakoglobina y que la unión de esta última proteína al Tcf-4 impide la activación transcripcional del complejo. Asimismo, se ha caracterizado la fosforilación del Tcf-4 por la caseína quinasa CKII y la regulación de la interacción del Tcf-4 con  $\beta$ -catenina y plakoglobina por esta modificación.

2.- Se han identificado los residuos de  $\beta$ -catenina fosforilados por Src como las tirosinas 86 y 654. Estudios de interacción con mutantes puntuales indican que la introducción de una carga negativa en la posición 654 de  $\beta$ -catenina provoca la disminución de afinidad por la E-cadherina tanto *in vitro* como *in vivo*. Se ha determinado que el receptor de EGF y su homólogo erbB2 fosforilan específicamente la tirosina 654 de  $\beta$ -catenina.

3.- La interacción entre  $\beta$ -catenina y  $\alpha$ -catenina también es sensible a la fosforilación en tirosinas. La introducción de una carga negativa en la tirosina 142 de  $\beta$ -catenina inhibe la interacción entre  $\beta$ -catenina y  $\alpha$ -catenina tanto *in vitro* como *in vivo*. Las tirosina quinasas Fer o Fyn fosforilan eficientemente esta tirosina *in vitro*.

4.- Al contrario de lo que ocurre en la  $\beta$ -catenina, en la plakoglobina las mismas tirosina quinasas no fosforilan los residuos equivalentes. Así por ejemplo, el receptor de EGFR no fosforila la Tyr-643 sino el extremo carboxi terminal de la plakoglobina.

5.- Se ha caracterizado que Src fosforila *in vitro* la tirosina 643 de plakoglobina provocando una disminución de afinidad por E-cadherina y  $\alpha$ -catenina y un aumento en su asociación con la proteína equivalente a  $\alpha$ -catenina en los desmosomas, la desmoplakina.

6.- La fosforilación de la tirosina 549 de plakoglobina por las quinasas Fer o Fyn regula positivamente la interacción entre plakoglobina y  $\alpha$ -catenina y de forma negativa su asociación a desmoplakina.

7.- Src induce una translocación de la plakoglobina de las uniones adherentes a los desmosomas. Por el contrario Fer causa el efecto opuesto.

8.- La asociación de plakoglobina con  $\alpha$ -catenina se incrementa en condiciones celulares en las que la actividad transcripcional mediada por  $\beta$ -catenina/Tcf-4 se encuentra activada.

## **VII. BIBLIOGRAFÍA**

**A**

- Aberle, H., Butz S., Stappert, J., Weissig, H., Kemler, R. and Hoschuetzky, H. 1994. Assembly of the cadherin-catenin complex in vitro with recombinant proteins. *J. Cell Sci.* **107**:3655-63.
- Aberle, H., Bierkamp, C., Torchard, D., Serova, O., Wagner, T., Natt, E., Wirsching, J., Heidkamper, C., Montagna, M. and Lynch, H, 1995. The human plakoglobin gene localizes on chromosome 17q21 and is subjected to loss of heterozygosity in breast and ovarian cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **92**:6384-8.
- Aberle, H., Schwartz, H., Hoschuetzky, H. and Kemler, R. 1996. Single amino-acid substitution in proteins of the armadillo gene family abolish their binding to  $\alpha$ -catenin. *J. Biol. Chem.* **271**:1520-6.
- Aberle, H., Bauer, A., Stappert, J., Kispert, A. and Kemler, R. 1997. beta-catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway. *EMBO J.* **16**:3797-804.
- Amar, L.S., Shabana, A.H., Oboeuf, M., Martin, N. and Forest, N. 1999. Involvement of desmoplakin phosphorylation in the regulation of desmosomes by protein kinase C, in HeLa cells. *Cell Adhes. Commun.* **7**:125-38.
- Anastasiadis, P.Z. and Reynolds, A.B. 2000. The p120 catenin family: complex roles in adhesion, signalling and cancer. *J. Cell Sci.* **113**:1319-34.
- Anastasiadis, P.Z., Moon, S.Y., Thoreson, M.A., Mariner, D.J., Crawford, H.C., Zheng, Y. and Reynolds, A.B. 2000. Inhibition of RhoA by p120 catenin. *Nat. Cell Biol.* **2**:637-44.
- Anderson, J.M. 2001. Molecular structure of tight junctions and their role in epithelial transport. *News Physiol. Sci.* **16**:126-30.
- Aono, S., Nagakawa, S., Reynolds, A.B. and Takeichi, M. 1999. p120ctn acts as an inhibitory regulator of cadherin function in colon carcinoma cells. *J. Cell Biol.* **145**:551-62.

- Aoyama, Y., Owada, M.K. and Kitajima, Y. 1999. A pathogenic autoantibody, pemphigus vulgaris-IgG, induces phosphorylation of desmoglein 3, and its dissociation from plakoglobin in cultured keratinocytes. *Eur. J. Immunol.* **29**:2233-40.
- Armstrong, D.K., McKenna, K.E., Purkis, P.E., Green, K.J., Eady, R.A., Leigh, I.M. and Hughes, A.E. 1999. Haploinsufficiency of desmoplakin causes a striate subtype of palmoplantar keratoderma. *Hum. Mol. Genet.* **8**:143-8.
- Arnemann, J., Sullivan, K.H., Magee, A.I., King, I.A. and Buxton, R.S. 1993. Stratification-related expression of isoforms of the desmosomal cadherins in human epidermis. *J. Cell Sci.* **104**:741-50.

## B

- Battle, S.E., Sancho E., Franci, C., Dominguez, D., Monfar, M., Baulida, J. and Garcia de Herreros, A. 2000. The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nat. Cell Biol.* **2**:84-9.
- Battle, E., Henderson, J.T., Beghtel, H., van den Born, M.M., Sancho, E., Huls, G., Meeldijk, J., Robertson, J., van de Wetering, M., Pawson, T. and Clevers, H. 2002. Beta-catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by controlling the expression of EphB/ephrinB. *Cell* **111**:251-63.
- Batsche, E., Muchardt, C., Behrens, J., Hurst, H.C. and Cremisi, C. 1998. RB and c-Myc activate expression of the E-cadherin gene in epithelial cells through interaction with transcriptional factor AP-2. *Mol. Cell. Biol.* **18**:3647-58.
- Bauer, A., Chauvet, S., Huber, O., Usseglio, F., Rothbacher, U., Aragnol, D., Kemler, R. and Pradel, J. 2000. Pontin52 and reptin52 function as antagonistic regulators of beta-catenin signalling activity. *EMBO J.* **19**:6121-30.
- Beavon, I.R. 2000. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis: structure, function and regulation. *Eur. J. Cancer* **36**:1607-20.
- Behrens, J., Vakaert, L., Friis, R., Winterhager, E., Roy, F.V., Mareel, M.M. and Birchmeier, W. 1993. Loss of epithelial differentiation and gain of invasiveness correlates with

- tyrosine phosphorylation of the E-cadherin/ $\beta$ -catenin complex in cell transformed with a temperature sensitive v-src gene. *J. Cell Biol.* **120**:757-66.
- Behrens, J., von Kries, J.P., Kuhl, M., Bruhn, L., Wedlich, D., Grosschedl, R. and Birchmeier, W. 1996. Functional interaction of  $\beta$ -catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature* **382**:638-42.
- Bek, S. and Kemler, R. 2002. Protein kinase CKII regulates the interaction of beta-catenin with alpha-catenin and its protein stability. *J. Cell Sci.* **115**:4743-53.
- Ben-Ze'ev, A. 1999. The dual role of cytoskeletal anchor proteins in cell adhesion and signal transduction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **886**:37-47.
- Bierkamp, C., Mclaughlin, K.J., Schwarz, H., Huber, O. and Kemler, R. 1996. Embryonic heart and skin defects in mice lacking plakoglobin. *Dev. Biol.* **180**:780-5.
- Bierkamp, C., Schwarz, H., Huber, O. and Kemler, R. 1999. Desmosomal localization of beta-catenin in the skin of plakoglobin null-mutant mice. *Development* **126**:371-81.
- Blanquet, P.R. 2000. Casein kinase 2 as a potentially important enzyme in the nervous system. *Prog. Neurobiol.* **60**:211-46.
- Bonne, S., van Hengel, J., Nollet, F., Kools, P. and van Roy F. 1999. Plakophilin-3, a novel armadillo-like protein present in nuclei and desmosomes of epithelial cells. *J. Cell Sci.* **112**:2265-76.
- Bornslaeger, E.A., Corcoran, C.M., Stappenbeck, T.S. and Green, K.J. 1996. Breaking the connection: displacement of the desmosomal plaque protein desmoplakin from cell-cell interfaces disrupts anchorage of intermediate filament bundles and alters intercellular junction assembly. *J. Cell Biol.* **134**:985-1001.
- Bornslaeger, E.A., Godsel, L.M., Corcoran, C.M., Park, J.K., Hatzfeld, M., Kowalczyk, A.P. and Green, K.J. 2001. Plakophilin 1 interferes with plakoglobin binding to desmoplakin, yet together with plakoglobin promotes clustering of desmosomal plaque complexes at cell-cell borders. *J. Cell Sci.* **114**:727-38.

- Borradori, L. and Sonnenberg, A. 1996. Hemidesmosomes: roles in adhesion, signaling and human diseases. *Curr. Opin. Cell Biol.* **8**:647-56.
- Bousset, K., Oelgeschlager, M.H., Henriksson, M., Schreek, S., Burkhardt, H., Litchfield, D.W., Luscher-Firzlaff, J.M. and Luscher, B. 1994. Regulation of transcription factors c-Myc, Max, and c-Myb by casein kinase II. *Cell. Mol. Biol. Res.* **40**:501-11.
- Brabletz, T., Jung, A., Dag, S., Hlubek, F. and Kirchner, T. 1999. beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer. *Am. J. Pathol.* **155**:1033-8.
- Brabletz, T., Jung, A., Reu, S., Porzner, M., Hlubek, F., Kunz-Schughart, L.A., Knuechel R. and Kirchner, T. 2001. Variable  $\beta$ -catenin expression in colorectal cancers indicates tumor progression driven by the tumor environment. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **98**:10356-61.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-54.
- Brieher, WM., Yap, AS. and Gumbiner, BM. 1996. Lateral dimerization is required for the homophilic binding activity of C-cadherin. *J. Cell Biol.* **135**:487-9.
- Bullions, L., Notterman, D., Chung, L. and Levine, A. 1997. Expression of wild-type  $\alpha$ -catenin protein in cells with a mutant  $\alpha$ -catenin gene restores both growth regulation and tumor suppressor activities. *Mol. Cell. Biol.* **17**:4501-8.

## C

- Cadigan, K.M. and Nusse, R. 1997. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev.* **11**:3286-305.
- Calautti, E., Cabodi, S., Stein, P.L., Hatzfeld, M., Kedersha, N. and Dotto, G.P. 1998. Tyrosine phosphorylation and src family kinases control keratinocyte cell-cell adhesion. *J. Cell Biol.* **141**:1449-65.

- Calautti, E., Grossi, M., Mammucari, C., Aoyama, Y., Pirro, M., Ono, Y., Li, J. and Dotto, G.P. 2002. Fyn tyrosine kinase is a downstream mediator of Rho/PRK2 function in keratinocyte cell-cell adhesion. *J. Cell Biol.* **156**:137-48.
- Campbell, N.A. 1993. *Biology*, Third edition. The Benjamin/Cummings Publishing.
- Castaño, J., Raurell, I., Piedra, J.A., Miravet, S., Dunach, M. and Garcia de Herreros A. 2002. Beta-catenin N- and C-terminal tails modulate the coordinated binding of adherens junction proteins to beta-catenin. *J. Biol. Chem.* **277**:31541-50.
- Cavallo, R., Rubenstein, D. and Peifer, M. 1997. Armadillo and dTcf: a marriage made in the nucleus. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **7**:459-66.
- Cavallo, R.A., Cox, R.T., Moline, M.M., Roose, J., Polevoy, G.A., Clevers, H., Peifer, M. and Bejsovec, A. 1998. Drosophila Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity. *Nature* **395**:604-8.
- Charpentier, E., Lavker, R.M., Acquista, E. and Cowin, P. 2000. Plakoglobin suppresses epithelial proliferation and hair growth in vivo. *J. Cell Biol.* **149**:503-20.
- Chen, X., Bonne, S., Hatzfeld, M., van Roy, F. and Green, K.J. 2002. Protein binding and functional characterization of plakophilin 2. Evidence for its diverse roles in desmosomes and beta-catenin signaling. *J. Biol. Chem.* **277**:10512-22.
- Collins, J.E., Lorimer, J.E., Garrod, D.R., Pidsley, S.C., Buxton, R.S. and Fleming, T.P. 1995. Regulation of desmocollin transcription in mouse preimplantation embryos. *Development* **121**:743-53.
- Conacci-Sorrell, M.E., Ben-Yedidia, T., Shtutman, M., Feinstein, E., Einat, P. and Ben-Ze'ev, A. 2002. Nr-CAM is a target gene of the beta-catenin/LEF-1 pathway in melanoma and colon cancer and its expression enhances motility and confers tumorigenesis. *Genes Dev.* **16**:2058-72.
- Cowin, P. and Burke, B. 1996. Cytoskeleton-membrane interactions. *Curr. Opin. Cell Biol.* **8**: 56-65.



---

Crawford, H.C., Fingleton, B.M., Rudolph-Owen, L.A., Goss, K.J., Rubinfeld, B., Polakis, P. and Matrisian, L.M. 1999. The metalloproteinase matrilysin is a target of beta-catenin transactivation in intestinal tumors. *Oncogene* **18**:2883-91.

## D

Daniel, J.M. and Reynolds, A.B. 1995. The tyrosine kinase substrate p120<sup>cas</sup> binds directly to E-cadherin but not to the adenomatous polyposis coli protein or  $\alpha$ -catenin. *Mol. Cell. Biol.* **15**:4819-24.

Daniel, J.M. and Reynolds, A.B. 1997. Tyrosine phosphorylation and cadherin/ catenin function. *Bioessays* **19**:883-91.

Daniel, J.M. and Reynolds, A.B. 1999. The catenin p120<sup>ctn</sup> interacts with Kaiso, a novel BTB/POZ domain zinc finger transcription factor. *Mol. Cell. Biol.* **19**:3614-23.

Downing, J.R. and Reynolds, A.B. 1991. PDGF, CSF-1, and EGF induce tyrosine phosphorylation of p120, a pp60src transformation-associated substrate. *Oncogene* **6**: 607-13.

## E

Evans, W.H. and Martin, P.E. 2002. Gap junctions: structure and function (Review). *Mol. Membr. Biol.* **19**:121-36.

## F

Fagotto, F., Gluck, U. and Gumbiner, B.M. 1998. Nuclear localization signal-independent and importin/karyopherin-independent nuclear import of beta-catenin. *Curr. Biol.* **8**:181-90.

Fuchs, M., Muller, T., Lerch, M.M. and Ullrich, A. 1996. Association of human protein-tyrosine phosphatase  $\kappa$  with members of the armadillo family. *J. Biol. Chem.* **271**: 16712-9.

Fujita, Y., Krause, G., Scheffner, M., Zechner, D., Leddy, H.E., Behrens, J., Sommer, T. and Birchmeier, W. 2002. Hakai, a c-Cbl-like protein, ubiquitinates and induces endocytosis of the E-cadherin complex. *Nat. Cell Biol.* **4**:222-31.

Fukata, M., Kuroda, S., Nakagawa, M., Kawajiri, A., Itoh, N., Shoji, I., Matsuura, Y., Yonehara, S., Fujisawa, H., Kikuchi, A. and Kaibuchi, K. 1999. Cdc42 and Rac1 regulate the interaction of IQGAP1 with beta-catenin. *J. Biol. Chem.* **274**:26044-50.

Fukata, M., Nakagawa, M., Itoh, N., Kawajiri, A., Yamaga, M., Kuroda, S. and Kaibuchi, K. 2001. Involvement of IQGAP1, an effector of Rac1 and Cdc42 GTPases, in cell-cell dissociation during cell scattering. *Mol. Cell. Biol.* **21**:2165-83.

## G

Gallicano, G.I., Kouklis, P., Bauer, C., Yin, M., Vasioukhin, V., Degenstein, L. and Fuchs, E. 1998. Desmoplakin is required early in development for assembly of desmosomes and cytoskeletal linkage. *J. Cell Biol.* **143**:2009-22.

Garrod, D., Chidgey, M. and North, A. 1996. Desmosomes: differentiation, development, dynamics and disease. *Curr. Opin. Cell Biol.* **8**:670-8.

Garrod, D.R., Merritt, A.J. and Nie, Z. 2002. Desmosomal cadherins. *Curr. Opin. Cell Biol.* **14**:537-45.

Gat, U., DasGupta, R., Degenstein, L. and Fuchs, E. 1998. De Novo hair follicle morphogenesis and hair tumors in mice expressing a truncated beta-catenin in skin. *Cell* **95**:605-14.

Gaudry, C.A., Palka, H.L., Dusek, R.L., Huen, A.C., Khandekar, M.J., Hudson, L.G. and Green, K.J. 2001. Tyrosine-phosphorylated plakoglobin is associated with desmogleins but not desmoplakin after epidermal growth factor receptor activation. *J. Biol. Chem.* **276**:24871-80.

Giannini, A.M., Vivanco, M. and Kipta, R.M. 2000.  $\alpha$ -catenin inhibits  $\beta$ -catenin signaling by preventing formation of a  $\beta$ -catenin-T-Cell Factor-DNA complex. *J. Biol. Chem.* **275**: 21883-8.

Gloy, J., Hikasa, H. and Sokol, S.Y. 2002. Frodo interacts with Dishevelled to transduce Wnt signals. *Nat. Cell Biol.* **4**:351-7.

Graham, T., Weaver, C., Mao, F., Kimelman, D. and Xu, W. 2000. Crystal Structure of a  $\beta$ -Catenin/Tcf Complex. *Cell* **103**:885-96.

Green, K.J. and Gaudry, C.A. 2000. Are desmosomes more than tethers for intermediate filaments? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **1**:208-16.

Gumbiner, B.M. 2000. Regulation of cadherin adhesive activity. *J. Cell Biol.* **148**:399-404.

## H

Haegel, H., Larue, L., Ohsugi, M., Fedorov, L., Herrenknecht, K. and Kemler, R. 1995. Lack of  $\beta$ -catenin affects mouse development at gastrulation. *Development.* **121**:3529-37.

Hamaguchi, M., Matsuyoshi, N., Ohnishi, Y., Gotoh, B., Takeichi, M. and Nagai, Y. 1993. p60v-src causes tyrosine phosphorylation and inactivation of the N-cadherin-catenin cell adhesion system. *EMBO J.* **12**:307-14.

Hazan, R.B. and Norton, L.. 1998. The epidermal growth factor receptor modulates the interaction of E-cadherin with the actin cytoskeleton. *J. Biol. Chem.* **273**:9078-84.

He, T. C., Sparks, A. B., Rago, C., Hermiking, H., Zawel, L., da Costa, L. T., Morin, P. J., Vogelstein, B. and Kinzler, K. W. 1998. Identification of c-myc gene as a target of APC pathway. *Science* **281**:1509-1512.

He, T. C., Chan, T. A., Vogelstein, B. and Kinzler, K. W. 1999. PPARdelta is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell* **99**:335-45.

Hecht, A., Litterst, C. M., Huber, O. and Kemler, R. 1999. Functional characterization of multiple transactivating elements in beta-catenin, some of which interact with the TATA-binding protein in vitro. *J. Biol. Chem.* **274**:18017-25.

- Hirano, S., Kimoto, N., Shimoyama, Y., Hirohashi, S. and Takeichi, M. 1992. Identification of a neural  $\alpha$ -catenin as a key regulator of cadherin function and multicellular organization. *Cell* **70**:293-301.
- Hirohashi, S. 1998. Inactivation of the E-cadherin-mediated cell-adhesion system in human cancers. *Am. J. Pathol.* **153**:333-9.
- Hofmann, I., Mertens, C., Brettel, M., Nimmrich, V., Schnolzer, M. and Herrmann, H. 2000. Interaction of plakophilins with desmoplakin and intermediate filament proteins: an in vitro analysis. *J. Cell Sci.* **113**:2471-83.
- Hoschuetzky, H., Aberle, H. and Kemler, R. 1994.  $\beta$ -catenin mediates the interaction of the cadherin-catenin complex with epidermal growth factor receptor. *J. Cell Biol.* **127**:1375-80.
- Hosono, S., Gross, I., English, M.A., Hajra, K.M., Fearon, E.R. and Licht, J.D. 2000. E-cadherin is a WT1 target gene. *J. Biol. Chem.* **275**:10943-53
- Hu, P., O'Keefe, E.J. and Rubenstein, D.S. 2001. Tyrosine phosphorylation of human keratinocyte beta-catenin and plakoglobin reversibly regulates their binding to E-cadherin and alpha-catenin. *J. Invest. Dermatol.* **117**:1059-67.
- Huber, O., Krohn, M. and Kemler, R. 1997a. A specific domain in  $\alpha$ -catenin mediates binding to  $\beta$ -catenin or plakoglobin. *J. Cell Sci.* **110**:1759-65.
- Huber, A.H., Nelson, W.J. and Weiss, W.I. 1997b. Three-dimensional structure of the armadillo repeat region of  $\beta$ -catenin. *Cell* **90**:871-82.
- Huber, A.H. and Weis, W.I. 2001. The structure of the  $\beta$ -catenin/E-cadherin complex and the molecular basis of diverse ligand recognition by  $\beta$ -catenin. *Cell* **105**:391-402.
- Huen, A.C., Park, J.K., Godsel, L.M., Chen, X., Bannon, L.J., Amargo, E.V., Hudson, T.Y., Mongiui, A.K., Leigh, I.M., Kelsell, D.P., Gumbiner, B.M. and Green, K.J. 2002. Intermediate filament-membrane attachments function synergistically with actin-dependent contacts to regulate intercellular adhesive strength. *J. Cell Biol.* **159**:1005-17.

Hülsken, J., Birchmeier, W. and Behrens, J. 1994. E-cadherin and APC compete for the interaction with beta-catenin and the cytoskeleton. *J. Cell Biol.* **127**:2061-9.

Hülsken, J. and Behrens, J. 2000. The Wnt signalling pathway. *J. Cell Sci.* **113**:3545.

## J

Janssens, B., Goossens, S., Staes, K., Gilbert, B., van Hengel, J., Colpaert, C., Bruyneel, E., Mareel, M. and van Roy, F. 2001. alphaT-catenin: a novel tissue-specific beta-catenin-binding protein mediating strong cell-cell adhesion. *J. Cell Sci.* **114**:3177-88.

Jho, E.H., Zhang, T., Domon, C., Joo, C.K., Freund, J.N. and Costantini, F. 2002. Wnt/beta-catenin/Tcf signaling induces the transcription of Axin2, a negative regulator of the signaling pathway. *Mol. Cell. Biol.* **22**:1172-83.

## K

Kadowaki, T., Shiozaki, H., Inoue, M., Tamura, S., Oka, H., Doki, Y., Iihara, K., Matsui, S., Iwazawa, T. and Nagafuchi, A. 1994. E-cadherin and alpha-catenin expression in human esophageal cancer. *Cancer Res.* **54**:291-6.

Kaibuchi, K., Kuroda, S., Fukata, M. and Nakagawa, M. 1999. Regulation of cadherin-mediated cell-cell adhesion by the Rho family GTPases. *Curr. Opin. Cell Biol.* **11**:591-6.

Kallakury, B.V., Sheehan, C.E., Winn-Deen, E., Oliver, J., Fisher, H.A., Kaufman, R.P. Jr and Ross, J.S. 2001. Decreased expression of catenins (alpha and beta), p120 CTN, and E-cadherin cell adhesion proteins and E-cadherin gene promoter methylation in prostatic adenocarcinomas. *Cancer* **92**:2786-95.

Kanai, Y., Ochiai, A., Shibata, T., Oyama, T., Ushijima, S., Akimoto, S. and Hirohashi, S. 1995. c-erbB-2 gene product directly associates with beta-catenin and plakoglobin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **208**:1067-72.

- Keiffer-Combeau, S., Meyer, J.M. and Lessot, H. 2001. Cell-matrix interactions and cell-cell junctions during epithelial histo-morphogenesis in developing mouse incisor. *Int.J.Dev.Biol.* **45**:733-742.
- Keirsebilck, A.S., Bonn e, K., Staes, J., van Hengel, F., Nollet, A., Reynolds, A.B. and van Roy, F. 1998. Molecular cloning of the human p120ctn catenin gene (CTNND1): expression of multiple alternatively spliced isoforms. *Genomics* **50**:129-46.
- Kim, L. and Wong, T.W. 1995. The cytoplasmic tyrosine kinase FER is associated with the catenin-like substrate pp120 and is activated by growth factors. *Mol. Cell. Biol.* **15**: 4553-61.
- Kim, S.W., Fang, X., Ji, H., Paulson, A.F., Daniel, J.M., Ciesiolka, M., van Roy, F. and McCrea, P.D. 2002. Isolation and characterization of Xkaiso, a transcriptional repressor that associates with the catenin Xp120ctn in *Xenopus laevis*. *J. Biol. Chem.* **277**:8202-8.
- Kinch, M.S., Clark, G.J., Der, C.J., and Burridge, K. 1995. Tyrosine phosphorylation regulates the adhesions of Ras-transformed breast epithelia. *J. Cell Biol.* **130**:461-71.
- Kinzler, K.W. and Vogelstein, B.W. 1996. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* **87**:159-70.
- Kodama, S., Ikeda, S., Asahara, T., Kishida, M. and Kikuchi, A. 1999. Axin directly interacts with plakoglobin and regulates its stability. *J. Biol. Chem.* **274**:27682-8.
- Koh, T.J., Bulitta, C.J., Fleming, J.V., Dockray, G.J., Varro, A. and Wang, T.C. 2000. Gastrin is a target of the beta-catenin/TCF-4 growth-signaling pathway in a model of intestinal polyposis. *J. Clin. Invest.* **106**:533-9.
- Kolligs, F.T., Kolligs, B., Hajra, K.M., Hu, G., Tani, M., Cho, K.R. and Fearon, E.R. 2000. gamma-catenin is regulated by the APC tumor suppressor and its oncogenic activity is distinct from that of beta-catenin. *Genes Dev.* **14**:1319-31.
- Kolligs, F.T., Nieman, M.T., Winer, I., Hu, G., Van Mater, D., Feng, Y., Smith, I.M., Wu, R., Zhai, Y., Cho, K.R. and Fearon, E.R. 2002. ITF-2, a downstream target of the Wnt/TCF

pathway, is activated in human cancers with beta-catenin defects and promotes neoplastic transformation. *Cancer Cell* **1**:145-55.

Korinek, V., Barker, N., Morin, P.J., van Wichen, D., de Weger, R., Kinzler, K.W., Vogelstein, B. and Clevers, H. 1997. Constitutive Transcriptional Activation by a  $\beta$ -catenin-Tcf complex in APC<sup>-/-</sup> colon carcinomas. *Science* **275**:1784-7.

Koslov, E.R., Maupin, P., Pradhan, D., Morrow, J.S. and Rimm, D.L. 1997. Alpha-catenin can form asymmetric homodimeric complexes and/or heterodimeric complexes with beta-catenin. *J. Biol. Chem.* **272**:27301-6.

Kowalczyk, A.P., Bornslaeger, E.A., Borgwardt, J.E., Palka, H.L., Dhaliwal, A.S., Corcoran, C.M., Denning, M.F. and Green, K.J. 1997. The amino-terminal domain of desmoplakin binds to plakoglobin and clusters desmosomal cadherin-plakoglobin complexes. *J. Cell Biol.* **139**:773-84.

Kowalczyk, A.P., Hatzfeld, M., Bornslaeger, E.A., Kopp, D.S., Borgwardt, J.E., Corcoran, C.M., Settler, A. and Green, K.J. 1999. The head domain of plakophilin-1 binds to desmoplakin and enhances its recruitment to desmosomes. Implications for cutaneous disease. *J. Biol. Chem.* **274**:18145-8.

Kuroda, S., Fukata, M., Nakagawa, M., Fujii, K., Nakamura, T., Ookubo, T., Izawa, I., Nagase, T., Nomura, N., Tani, H., Shoji, I., Matsuura, Y., Yonehara, S. and Kaibuchi, K. 1998. Role of IQGAP1, a target of the small GTPases Cdc42 and Rac1, in regulation of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Science* **281**:832-5.

Kypta, R.M., Su, H. and Reichardt, L.F. 1996. Association between a transmembrane protein tyrosine phosphatase and the cadherin-catenin complex. *J. Cell Biol.* **134**:1519-29.

## L

Landesman-Bollag, E., Channavajhala, P.L., Cardiff, R.D., Seldin, D.C. 1998. p53 deficiency and misexpression of protein kinase CK2alpha collaborate in the development of thymic lymphomas in mice. *Oncogene* **16**:2965-74.

- 
- Larue, L., Ohsugi, M., Hircherhain, J. and Kemler, R. 1994. E-cadherin null mutant embryos fail to form a trophectoderm epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**:8263-7.
- Leung, C.L., Green, K.J. and Liem R.K. 2002. Plakins: a family of versatile cytolinker proteins. *Trends Cell Biol.* **12**:37-45.
- Li, X., Yost, H.J., Virshup, D.M. and Seeling, J.M. 2001. Protein phosphatase 2A and its B56 regulatory subunit inhibit Wnt signaling in Xenopus. *EMBO J.* **20**:4122-31.
- Lickert, H., Bauer, A., Kemler, R. and Stappert, J. 2000. Casein kinase II phosphorylation of E-cadherin increases E-cadherin/  $\beta$ -catenin interaction and strengthens cell-cell adhesion. *J. Biol. Chem.* **275**:5090-5.
- Lilien, J., Balsamo, J., Arregui, C. and Xu, G. 2002. Turn-off, drop-out: functional state switching of cadherins. *Dev. Dyn.* **224**:18-29.
- Lin, A., Frost, J., Deng, T., Smeal, T., al-Alawi, N., Kikkawa, U., Hunter, T., Brenner, D. and Karin, M. 1992. Casein kinase II is a negative regulator of c-Jun DNA binding and AP-1 activity. *Cell* **70**:777-89.
- Litchfield, D.W. 2003. Protein kinase CK2: structure, regulation and role in cellular decisions of life and death. *Biochem. J.* **369**:1-15.
- Liu, J., Stevens, J., Rote, C.A., Yost, H.J., Hu, Y., Neufeld, K.L., White, R.L. and Matsunami, N. 2001. Siah-1 mediates a novel beta-catenin degradation pathway linking p53 to the adenomatous polyposis coli protein. *Mol. Cell* **7**:927-36.
- Liu, C., Li, Y., Semenov, M., Han, C., Baeg, G.H., Tan, Y., Zhang, Z., Lin, X. and He, X. 2002. Control of beta-catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell* **108**:837-47.
- Lustig, B., Jerchow, B., Sachs, M., Weiler, S., Pietsch, T., Karsten, U., van de Wetering, M., Clevers, H., Schlag, P.M., Birchmeier, W. and Behrens, J. 2002. Negative feedback loop of Wnt signaling through upregulation of conductin/axin2 in colorectal and liver tumors. *Mol. Cell. Biol.* **22**:1184-93.



**M**

- Mahmoud, N.N., Boolbol, S.K., Bilinski, R.T., Martucci, C., Chadburn, A. and Bertagnoli, M. 1997. Apc gene mutation is associated with a dominant-negative effect upon intestinal cell migration. *Cancer Res.* **52**:5045-50.
- Manak, J.R. and Prywes, R. 1993. Phosphorylation of serum response factor by casein kinase II: evidence against a role in growth factor regulation of fos expression. *Oncogene* **8**:703-11.
- Mann, B., Gelos, M., Siedow, A., Hanski, M.L., Gratchev, A., Ilyas, M., Bodmer, W., Moyer, M.P., Riecken, E.O., Buhr, H.J. and Hanski, C. 1999. Target genes of  $\beta$ -catenin-T-cell-factor/ lymphoid-enhancer-factor signalling in human colorectal carcinomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:1603-8.
- Martin, K.H., Slack, J.K., Boerner, S.A., Martin, C.C. and Parsons, J.T. 2002. Integrin connections map: to infinity and beyond. *Science* **296**:1652-3.
- Mathur, M., Goodwin, L. and Cowin, P. 1994. Interactions of the cytoplasmic domain of the desmosomal cadherin Dsg1 with plakoglobin. *J. Biol. Chem.* **269**:14075-80.
- Matsuzawa, S.I. and Reed, J.C. 2001. Siah-1, SIP, and Ebi collaborate in a novel pathway for beta-catenin degradation linked to p53 responses. *Mol. Cell* **7**:915-26.
- McCrea, P., Turck, C. and Gumbiner, B. 1991. An homolog of the armadillo protein in *Drosophila* (plakoglobin) associated with E-cadherin. *Science* **254**:1359-61.
- McGrath, J.A., McMillan, J.R., Shemanko, C.S., Runswick, S.K., Leigh, I.M., Lane, E.B., Garrod, D.R. and Eady, R.A. 1997. Mutations in the plakophilin 1 gene result in ectodermal dysplasia/skin fragility syndrome. *Nat. Genet.* **17**:240-4.
- Merritt, A.J., Berika, M.Y., Zhai, W., Kirk, S.E., Ji, B., Hardman, M.J. and Garrod, D.R. 2002. Suprabasal desmoglein 3 expression in the epidermis of transgenic mice results in hyperproliferation and abnormal differentiation. *Mol. Cell. Biol.* **22**:5846-58.

- Mertens, C., Hofmann, I., Wang, Z., Teichmann, M., Sepehri, Chong, S., Schnolzer, M. and Franke, W.W. 2001. Nuclear particles containing RNA polymerase III complexes associated with the junctional plaque protein plakophilin 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **98**:7795-800.
- Miller, J.R., Hocking, A.M., Brown, J.D. and Moon, R.T. 1999. Mechanism and function of signal transduction by the Wnt/beta-catenin and Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathways. *Oncogene* **18**: 7860-72.
- Mitic, L.L., Van Itallie, C.M. and Anderson, J.M. 2000. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions I. Tight junction structure and function: lessons from mutant animals and proteins. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* **279**:G250-4.
- Miwa, N., Furuse, M., Tsukita, S., Niikawa, N., Nakamura, Y. and Furukawa, Y. 2002. Involvement of claudin-1 in the beta-catenin/Tcf signaling pathway and its frequent upregulation in human colorectal cancers. *Oncol. Res.* **12**:469-76.
- Molenaar, M., van de Wetering, M., Oosterwegel, M., Peterson-Maduro, J., Godsave, S., Korinek, V., Roose, J., Destree, O. and Clevers H. 1996. XTcf-3 transcription factor mediates beta-catenin-induced axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell* **86**:391-9.
- Moll, I., Kurzen, H., Langbein, L. and Franke, W.W. 1997. The distribution of the desmosomal protein, plakophilin 1, in human skin and skin tumors. *J. Invest. Dermatol.* **108**:139-46.
- Moon, R.T., Brown, J.D. and Torres, M. 1997. WNTs modulate cell fate and behavior during vertebrate development. *Trends Genet.* **13**:157-62.
- Morin, P.J., Parks, A.B., Korinek, V., Barker, N., Clevers, H., Vogelstein, B. and Kinzler, K.W. 1997. Activation of  $\beta$ -catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in  $\beta$ -catenin or APC. *Science* **275**:1787-90.
- Morton, R.A., Ewing, C.M., Nagafuchi, A., Tsukita, S. and Isaacs, W.B. 1993. Reduction of E-cadherin levels and deletion of the  $\alpha$ -catenin gene in human prostate cancer cells. *Cancer Res.* **53**:3585-90.

Muller, T., Choidas, A., Reichmann, E. and Ullrich, A. 1999. Phosphorylation and free pool of beta-catenin are regulated by tyrosine kinases and tyrosine phosphatases during epithelial cell migration. *J. Biol. Chem.* **274**:10173-83.

## N

Nagafuchi, A. 2001. Molecular architecture of adherens junctions. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**: 600-3.

Navarro, P., Lozano, E. and Cano, A. 1993. Expression of E- or P-cadherin is not sufficient to modify the morphology and the tumorigenic behavior of murine spindle carcinoma cells. Possible involvement of plakoglobin. *J. Cell Sci.* **105**:923-34.

Norgett, E.E., Hatsell, S.J., Carvajal-Huerta, L., Cabezas, J.C., Common, J., Purkis, P.E., Whittock, N., Leigh, I.M., Stevens, H.P. and Kelsell, D.P. 2000. Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum. Mol. Genet.* **9**:2761-6.

North, A.J., Chidgey, M.A., Clarke, J.P., Bardsley, W.G. and Garrod, D.R. 1996. Distinct desmocollin isoforms occur in the same desmosomes and show reciprocally graded distributions in bovine nasal epidermis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **93**:7701-5.

North, A.J., Bardsley, W.G., Hyam, J., Bornslaeger, E.A., Cordingley, H.C., Trinnaman, B., Hatzfeld, M., Green, K.J., Magee, A.I. and Garrod, D.R. 1999. Molecular map of the desmosomal plaque. *J. Cell Sci.* **112**:4325-36.

Nusse, R. and Varmus, H.E. 1992. Wnt genes. *Cell* **69**:1073-87.

## O

Ohkubo, T. and Ozawa, M. 1999. p120<sup>ctn</sup> binds to the membrane-proximal region of the E-cadherin cytoplasmic domain and is involved in modulation of adhesion activity. *J. Biol. Chem.* **274**:21409-15.

- Omer, C.A., Miller, P.J., Diehl, R.E. and Kral, A.M. 1999. Identification of Tcf4 residues involved in high-affinity beta-catenin binding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **256**:584-90.
- Oosterwegel, M., van de Wetering, M., Dooijes, D., Klomp, L., Winoto, A., Georgopoulos, K., Meijlink, F. and Clevers, H. 1991. Cloning of murine TCF-1, a T cell-specific transcription factor interacting with functional motifs in the CD3-epsilon and T cell receptor alpha enhancers. *J. Exp. Med.* **173**:1133-42.
- Orford, K., Crockett, C., Jensen, J.P., Weissman, A.M. and Byers, S.W. 1997. Serine phosphorylation-regulated ubiquitination and degradation of beta-catenin. *J. Biol. Chem.* **272**:24735-8.
- Orsulic, S., Huber, O., Aberle, H., Arnold, S., and Kemler, R. 1999. E-cadherin binding prevents  $\beta$ -catenin nuclear localization and  $\beta$ -catenin/ LEF-1-mediated transactivation. *J. Cell Sci.* **112**:1237-45.
- Overduin, M., Harvey, T.S., Bagby, S., Tong, K.I., Yau, P., Takeichi, M. and Ikura, M. 1995. Solution structure of the epithelial cadherin domain responsible for selective cell adhesion. *Science* **267**:386-9.
- Owens, D.W., McLean, G.W., Wyke, A.W., Paraskeva, C., Parkinson, E.K., Frame, M.C., and Brunton, V.G. 2000. The catalytic activity of the Src family kinases is required to disrupt cadherin-dependent cell-cell contacts. *Mol. Biol. Cell* **11**:51-64.
- Ozawa, M. and Kemler, R. 1998. Altered cell adhesion activity by pervanadate due to the dissociation of alpha-catenin from the E-cadherin-catenin complex. *J. Biol. Chem.* **273**: 6166-70.

## P

- Palmer, H.G., Gonzalez-Sancho, J.M., Espada, J., Berciano, M.T., Puig, I., Baulida, J., Quintanilla, M., Cano, A., de Herreros A.G., Lafarga, M. and Munoz, A. 2001. Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J. Cell Biol.* **154**:369-87.

- 
- Papadavid, E. and Katsambas, A. 2001. The interactions and role of epithelial cadherin and catenins in tumorigenicity. *Int. J. Dermatol.* **40**:254-7.
- Parr, B.A. and McMahon, A.P. 1994. Wnt genes and vertebrate development. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **4**:523-8.
- Peifer, M., Berg, S. and Reynolds, A.B. 1994. A repeating aminoacid motif shared by proteins with diverse cellular roles. *Cell* **76**:789-91.
- Perez-Moreno, M.A., Locascio, A., Rodrigo, I., Dhondt, G., Portillo, F., Nieto, M.A. and Cano, A. 2001. A new role for E12/E47 in the repression of E-cadherin expression and epithelial-mesenchymal transitions. *J. Biol. Chem.* **276**:27424-31.
- Piedra, J., Martinez, D., Castano, J., Miravet, S., Dunach, M. and de Herreros, A.G. 2001. Regulation of beta-catenin structure and activity by tyrosine phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **276**:20436-43.
- Pinna, L.A. and Meggio, F. 1997. Protein kinase CK2 ("casein kinase-2") and its implication in cell division and proliferation. *Prog. Cell Cycle Res.* **3**:77-97.
- Pokutta, S. and Weis, W. 2000. Structure of the dimerization and  $\beta$ -catenin-binding region of  $\alpha$ -catenin. *Mol. Cell* **5**:533-43.
- Pokutta, S. and Weis, W.I. 2002. The cytoplasmic face of cell contact sites. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **12**:255-62.
- Polakis, P. 1997. The adenomatous polyposis coli (APC) tumor suppressor. *Bioch. Biophys. Acta* **1332**:F127-F147.
- Posthaus, H., Williamson, L., Baumann, D., Kemler, R., Caldelari, R., Suter, M.M., Schwarz, H. and Muller, E. 2002. beta-Catenin is not required for proliferation and differentiation of epidermal mouse keratinocytes. *J. Cell Sci.* **115**:4587-95.

**R**

- Reynolds, A.B., Roesel, D.J., Kanner, S.B. and Parsons, J.T. 1989. Transformation-specific tyrosine phosphorylation of a novel cellular protein in chicken cells expressing oncogenic variants of the avian cellular src gene. *Mol. Cell. Biol.* **9**:629-38.
- Rockman, S.P., Currie, S.A., Ciavarella, M., Vincan, E., Dow, C., Thomas, R.J. and Phillips, W.A. 2001. Id2 is a target of the beta-catenin/T cell factor pathway in colon carcinoma. *J. Biol. Chem.* **276**:45113-9.
- Roose, J., Huls, G., van Best, M., Moerer, P., van der Horn, K., Goldschmeding, R., Logtenberg, T. and Clevers, H. 1999. Synergy between tumor suppressor APC and the beta-catenin-Tcf4 target Tcf1. *Science* **285**:1923-26.
- Rosato, R., Veltmaat, J., Groffen, J. and Heisterkamp, N. 1998. Involvement of the tyrosine kinase Fer in cell adhesion. *Mol. Cell. Biol.* **18**:5762-70.
- Rubinfeld, B., Albert, I., Porfiri, E., Fiol, C., Munemitsu, S. and Polakis, P. 1996. Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly. *Science* **272**:1023-6.
- Rubinfeld, B., Robbins, P., El-Gamil, M., Albert, I., Porfiri, E. and Polakis, P. 1997. Stabilization of beta-catenin by genetic defects in melanoma cell lines. *Science* **275**:1790-2.
- Ruiz, P., Brinkmann, V., Ledermann, B., Behrend, M., Grund, C., Thalhammer, C., Vogel, F., Birchmeier, C., Gunthert, U., Franke, W.W. and Birchmeier, W. 1996. Targeted mutation of plakoglobin in mice reveals essential functions of desmosomes in the embryonic heart. *J. Cell Biol.* **135**:215-25.

**S**

- Sadot, E., Simcha, I., Iwai, K., Ciechanover, A., Geiger, B. and Ben-Ze'ev, A. 2000. Differential interaction of plakoglobin and beta-catenin with the ubiquitin-proteasome system. *Oncogene* **19**:1992-2001.

- Sakanaka, C. 2002. Phosphorylation and Regulation of beta-Catenin by Casein Kinase Iepsilon. *J. Biochem. (Tokyo)*. **132**:697-703.
- Salomon, D., Sacco, P.A., Roy, S.G., Simcha, I., Johnson, K.R., Wheelock, M.J. and Ben-Ze'ev, A. 1997. Regulation of beta-catenin levels and localization by overexpression of plakoglobin and inhibition of the ubiquitin-proteasome system. *J. Cell Biol.* **139**:1325-35.
- Schmidt, A., Langbein, L., Rode, M., Pratzel, S., Zimbelmann, R. and Franke, W.W. 1997. Plakophilins 1a and 1b: widespread nuclear proteins recruited in specific epithelial cells as desmosomal plaque components. *Cell Tissue Res.* **290**:481-99.
- Schmidt, A., Langbein, L., Pratzel, S., Rode, M., Rackwitz, H.R. and Franke, W.W. 1999. Plakophilin 3--a novel cell-type-specific desmosomal plaque protein. *Differentiation* **64**:291-306.
- Schwarz, M.A., Owaribe, K., Kartenbeck, J. and Franke, W.W. 1990. Desmosomes and hemidesmosomes: constitutive molecular components. *Annu. Rev. Cell Biol.* **6**:461-91.
- Seeling, J.M., Miller, J.R., Gil, R., Moon, R.T., White, R. and Virshup, D.M. 1999. Regulation of beta-catenin signaling by the B56 subunit of protein phosphatase 2A. *Science* **283**:2089-91.
- Shapiro, L., Fannon, A.M., Kwong, P.D., Thompson, A., Lehmann, M.S., Grübel, G., Legrand, J.F., Als-Nielsen, J., Colman, D.R. and Hendrickson, W.A. 1995. Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature* **374**:327-37.
- Shibamoto, S., Hayakawa, M., Takeuchi, K., Hori, T., Oku, N., Miyazawa, K., Kitamura, N., Takeichi, M., and Ito, F. 1994. Tyrosine phosphorylation of beta-catenin and plakoglobin enhanced by hepatocyte growth factor and epidermal growth factor in human carcinoma cells. *Cell Adhes. Commun.* **1**:295-305.
- Shibata, T., Ochiai, A., Kanai, Y., Akimoto, S., Gotoh, M., Yasui, N., N. Machinami, N. and Hirohashi, S. 1996. Dominant negative inhibition of the association between  $\beta$ -catenin and c-erbB2 by N-terminally deleted  $\beta$ -catenin suppresses the invasion and metastasis of cancer cells. *Oncogene* **13**:883-9.

- Shtutman, M., Zhurinsky, J., Simcha, I., Albanese, C., D'Amico, M., Pestell, R. and Ben-Ze'ev, A. 1999. The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin/LEF-1 pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **96**:5522-7.
- Simcha, I., Geiger, B., Yehuda-Levenberg, S., Salomon, D. and Ben-Ze'ev, A. 1996. Suppression of tumorigenicity by plakoglobin: an augmenting effect of N-cadherin. *J. Cell Biol.* **133**:199-209.
- Simcha, I., Shtutman, M., Salomon, D., Zhurinsky, J., Sadot, E., Geiger, B. and Ben-Ze'ev, A. 1998. Differential nuclear translocation and transactivation potential of beta-catenin and plakoglobin. *J. Cell Biol.* **141**:1433-48.
- Sommers, C.L., Gelmann, E.P., Kemler, R., Cowin, P. and Byers, S.W. 1994. Alterations in beta-catenin phosphorylation and plakoglobin expression in human breast cancer cells. *Cancer Res.* **54**:3544-52.
- Song, D.H., Sussman, D.J. and Seldin, D.C. 2000. Endogenous protein kinase CK2 participates in Wnt signaling in mammary epithelial cells. *J. Biol. Chem.* **275**:23790-7.
- Stappenbeck, T.S. and Green, K.J. 1992. The desmoplakin carboxyl terminus coaligns with and specifically disrupts intermediate filament networks when expressed in cultured cells. *J. Cell Biol.* **116**:1197-209.
- Stappenbeck, T.S., Lamb, J.A., Corcoran, C.M. and Green, K.J. 1994. Phosphorylation of the desmoplakin COOH terminus negatively regulates its interaction with keratin intermediate filament networks. *J. Biol. Chem.* **269**:29351-4.
- Stuart, R.O., Sun, A., Bush, K.T. and Nigam, S.K. 1996. Dependence of epithelial intercellular junction biogenesis on thapsigargin-sensitive intracellular calcium stores. *J. Biol. Chem.* **271**:13636-41.

## T

- Takeda, H., Nagafuchi, A., Yonemura, S., Tsukita, S., Behrens, J., Birchmeier, W., and Tsukita, S. 1995. V-src kinase shifts the cadherin-based cell adhesion from the strong



- to the weak state and beta catenin is not required for the shift. *J. Cell Biol.* **131**:1839-47.
- Takeichi, M. 1990. Cadherins: a molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu. Rev. Biochem.* **59**:237-52.
- Tamai, K., Semenov, M., Kato, Y., Spokony, R., Liu, C., Katsuyama, Y., Hess, F., Saint-Jeannet, J.P. and He, X. 2000. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature* **407**:530-5.
- Tetsu, O. and McCormick, F. 1999.  $\beta$ -catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* **398**:422-6.
- Thiery, JP. 2002. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer* **2**:442-54.
- Thomas, S.M. and Brugge, J.S. 1997. Cellular functions regulated by Src family kinases. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **13**:513-609.
- Thomas, G.M., Frame, S., Goedert, M., Nathke, I., Polakis, P. and Cohen, P. 1999. A GSK3-binding peptide from FRAT1 selectively inhibits the GSK3-catalysed phosphorylation of axin and beta-catenin. *FEBS Lett.* **458**:247-51.
- Thoreson, M.A., Anastasiadis, P.Z., Daniel, J.M., Ireton, R.C., Wheelock, M.J., Johnson, K.R., Hummingbird, D.K. and Reynolds, A.B. 2000. Selective uncoupling of p120(ctn) from E-cadherin disrupts strong adhesion. *J. Cell Biol.* **148**:189-202.
- Torres, M., Stoykova, A., Huber, O., Chowdhury, K., Bonaldo, P., Mansouri, A., Butz, S., Kemler, R. and Gruss, P. 1997. An  $\alpha$ -E-catenin gene trap mutation defines its function in preimplantation development. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **94**:901-6.
- Troyanovsky, S.M., Eshkind, L.G., Troyanovsky, R.B., Leube, R.E. and Franke, W.W. 1993. Contributions of cytoplasmic domains of desmosomal cadherins to desmosome assembly and intermediate filament anchorage. *Cell* **72**:561-74.

---

Tsukita, S., Itoh, M., Nagafuchi, A., Yonemura, S. and Tsukita, S. 1993. Submembranous junctional plaque proteins include potential tumor suppressor molecules. *J. Cell Biol.* **123**:1049-53.

## V

Van de Wetering, M., Cavallo, R., Doojies, D., van Beest, M., van Es, J., Loureiro, J., Ypma, A., Hursh, D., Jones, T., Bejsovec, A., Peifer, M., Mortin, M. and Clevers, H. 1997. Armadillo coactivates transcription driven by the product of the *Drosophila* segment polarity gene dTCF. *Cell* **88**:789-99.

Van Hengel, J., Vanhoenacker, P., Staes, K. and van Roy, F. 1999. Nuclear localization of the p120(ctn) Armadillo-like catenin is counteracted by a nuclear export signal and by E-cadherin expression. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **96**:7980-5.

Vasioukhin, V., Bauer, C., Degenstein, L., Wise, B. and Fuchs, E. 2001a. Hyperproliferation and defects in epithelial polarity upon conditional ablation of  $\alpha$ -catenin in skin. *Cell* **104**: 605-17.

Vasioukhin, V., Bowers, E., Bauer, C., Degenstein, L. and Fuchs, E. 2001b. Desmoplakin is essential in epidermal sheet formation. *Nat. Cell Biol.* **3**:1076-85.

## W

Wahl, J.K., Sacco, P.A., McGranahan-Sadler, T.M., Sauppe, L.M., Wheelock, M.J. and Johnson, K.R. 1996. Plakoglobin domains that define its association with the desmosomal cadherins and the classical cadherins: identification of unique and shared domains. *J. Cell Sci.* **109**:1143-54.

Wahl, J. K., Nieset, J. E., Sacco-Bubulya, P. A., Sadler, T. M., Johnson, K. R., and Wheelock, M. J. 2000. The amino- and carboxyl-terminal tails of (beta)-catenin reduce its affinity for desmoglein 2. *J. Cell Sci.* **113**:1737-45.

Wallis, S., Lloyd, S., Wise, I., Ireland, G., Fleming, T.P. and Garrod, D. 2000. The alpha isoform of protein kinase C is involved in signaling the response of desmosomes to wounding in cultured epithelial cells. *Mol. Biol. Cell* **11**:1077-92.

- Watt, F.M., Matthey, D.L. and Garrod, D.R. 1984. Calcium-induced reorganization of desmosomal components in cultured human keratinocytes. *J. Cell Biol.* **99**:2211-5.
- Wielenga, V.J., Smits, R., Korinek, V., Smit, L., Kielman, M., Fodde, R., Clevers, H. and Pals, S.T. 1999. Expression of CD44 in Apc and Tcf mutant mice implies regulation by the WNT pathway. *Am. J. Pathol.* **154**:515-23.
- Willert, K., Brink, M., Wodarz, A., Varmus, H. and Nusse, R. 1997. Casein kinase 2 associates with and phosphorylates dishevelled. *EMBO J.* **16**:3089-96.
- Willert, J., Epping, M., Pollack, J.R., Brown, P.O. and Nusse, R. 2002. A transcriptional response to Wnt protein in human embryonic carcinoma cells. *BMC Dev. Biol.* **2**:8.
- Williams, B.O., Barish, G.D., Klymkowsky, M.W. and Varmus, H.E. 2000. A comparative evaluation of beta-catenin and plakoglobin signaling activity. *Oncogene* **19**:5720-8.

## X

- Xu, Y. and Carpenter, G. 1999. Identification of cadherin tyrosine residues that are phosphorylated and mediate Shc association. *J. Cell. Biochem.* **75**:264-71.

## Y

- Yan, D., Wiesmann, M., Rohan, M., Chan, V., Jefferson, A.B., Guo, L., Sakamoto, D., Caothien, R.H., Fuller, J.H., Reinhard, C., Garcia, P.D., Randazzo, F.M., Escobedo, J., Fantl, W.J. and Williams, L.T. Elevated expression of axin2 and hnkcd mRNA provides evidence that Wnt/beta -catenin signaling is activated in human colon tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **98**:14973-8.
- Yang, J., Dokurno, P., Tonks, N.K. and Barford, D. 2001. Crystal structure of the M-fragment of  $\alpha$ -catenin: implications for modulation of cell adhesion. *EMBO J.* **20**:3645-56.

---

Yap, A.S., Niessen, C.M. and Gumbiner, B.M. 1998. The juxtamembrane region of the cadherin cytoplasmic tail supports lateral clustering, adhesive strengthening, and interaction with p120<sup>ctn</sup>. *J. Cell Biol.* **141**:779-89.

## Z

Zhang, X., Gaspard, J.P. and Chung, D.C. 2001. Regulation of vascular endothelial growth factor by the Wnt and K-ras pathways in colonic neoplasia. *Cancer Res.* **61**:6050-4.

Zhurinsky, J., Shtutman, M. and Ben-Ze'ev, A. 2000a. Differential mechanisms of LEF/TCF family-dependent transcriptional activation by beta-catenin and plakoglobin. *Mol. Cell. Biol.* **20**:4238-52.

Zhurinsky, J., Shtutman, M., and Ben-Ze'ev, A. 2000b. Plakoglobin and beta-catenin: protein interactions, regulation and biological roles. *J. Cell Sci.* **113**:3127-39.

Los resultados de esta tesis han sido publicados en los siguientes artículos :

Roura\*, S., Miravet\*, S., Piedra\*, J., G<sup>a</sup> de Herreros, A. and Duñach, M. 1999. Regulation of E-cadherin/catenin association by tyrosine phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **274**: 36734-40.( \* estos autores han contribuído por igual en este trabajo).

Miravet, S., Piedra, J., Miró, F., Itarte, E., G<sup>a</sup> de Herreros, A. and Duñach, M. 2002. The transcriptional factor Tcf-4 contains different binding sites for  $\beta$ -catenin and plakoglobin. *J. Biol. Chem.* **277**: 1884-91.

Piedra, J., Miravet, S., Castaño, J., Pálmer, H.G<sup>a</sup>., Heisterkamp, N., G<sup>a</sup> de Herreros, A. and Duñach, M. 2003. p120-catenin-associated Fer and Fyn tyrosine kinases regulate  $\beta$ -catenin Tyr-142 phosphorylation and  $\beta$ -catenin- $\alpha$ -catenin interaction. *Mol. Cell. Biol.* **23**: 2287-97.

Miravet, S., Piedra, J., Castaño, J., Raurell, I., Duñach, M. and G<sup>a</sup> de Herreros, A. 2003. Tyrosine phosphorylation of plakoglobin modulates its switch from desmosomes to adherens junctions. (Enviado).