

Ku80의 DNA-PKcs 결합부위 합성 Peptide 투여에 의한 유방암세포의 DNA-dependent protein kinase 억제 효과

김충희·김태숙·문양수·정장용·강정부*·김종수*·강명곤**·박희성¹

진주산업대학교 동물생명과학과

*경상대학교 수의과대학

**건국대학교 수의과대학

Effect on the Inhibition of DNA-PK in Breast Cancer Cell lines (MDA-465 and MDA-468) with DNA-PKcs Binding Domain Synthetic Peptide of Ku80

Chung-hui Kim, Tea-shuk Kim, Yangsoo Moon, Jang-yong Chung, Chung-boo Kang*, Jong-shu Kim*, Myung-gon Kang** and Hee-sung Park¹

Dept. of Animal Science & Biotechnology, Jinju National University, Jinju 150

*College of Veterinary medicine, Gyeongsang National University, Jinju 900

**College of Veterinary medicine, KonKuk University, Seoul

Abstract : DNA double-strand break (DSB) is a serious treat for the cells including mutations, chromosome rearrangements, and even cell death if not repaired or misrepaired. Ku heterodimer regulatory DNA binding subunits (Ku70/Ku80) bound to double strand DNA breaks are able to interact with 470-kDa DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PKcs), and the interaction is essential for DNA-dependent protein kinase (DNA-PK) activity. The Ku80 mutants were designed to bind Ku70 but not DNA end binding activity and the peptides were treated in breast cancer cells for co-therapy strategy to see whether the targeted inhibition of DNA-dependent protein kinase (DNA-PK) activity sensitized breast cancer cells to ionizing irradiation or chemotherapy drug to develop a treatment of breast tumors by targeting proteins involved in damage-signaling pathway and/or DNA repair. We designed domains of Ku80 mutants, 26 residues of amino acids (HN-26) as a control peptide or 38 (HNI-38) residues of amino acids which contain domains of the membrane-translocation hydrophobic signal sequence and the nuclear localization sequence, but HNI-38 has additional twelve residues of peptide inhibitor region. We observed that the synthesized peptide (HNI-38) prevented DNA-PKcs from binding to Ku70/Ku80, resulting in inactivation of DNA-PK complex activity in breast cancer cells (MDA-465 and MDA-468). Consequently, the peptide treated cells exhibited poor to no DNA repair, and became highly sensitive to irradiation or chemotherapy drugs. The growth of breast cancer cells was also inhibited. These results demonstrate the possibility of synthetic peptide to apply breast cancer therapy to induce apoptosis of cancer cells.

Key words : DNA-dependent protein kinase (DNA-PK), Ku70/Ku80 complex, ionizing radiation, breast cancer cells, DNA repair.

서 론

암 질환 환자의 치료를 위하여 항암제투여나 방사선조사를 하게 되면 암세포의 DNA는 이들 약제에 의하여 지속적으로 손상을 받게 되어 사멸하게 된다. 반면에 일부의 암세포들은 손상된 DNA를 회복하기 위한 기전이 일어나며, 이때 비정상적으로 회복된 DNA를 포함하게 된다⁸. 손상된

DNA를 회복한 암세포는 정상 또는 비정상의 DNA를 다음 세대로 계속 전달하게 되어, 일부의 암세포는 약제에 대한 저항성을 가지게 된다¹⁷. 이러한 과정을 위하여 암세포는 double-strand break(DSB)²¹ 회복 또는 nucleotide excision repair(NER)²과 같은 다양한 DNA 회복기전을 가지며, 또한 방사선 조사나 항암제등에 대하여 DNA-dependent protein kinase (DNA-PK)는 동종 kinase domain을 가진다⁹. DNA-PK는 DNA와 결합을 촉매시키는 단위로 nuclear serine/threonine 단백질 kinase로 구성되어 있다. DNA 결합단위는 Ku70와 Ku80의 이종 단백질로 구성되어 결손된 DNA 말단에 결합하며 dsDNA와 2개의 단일 DNA 사슬 사이에서 구조적 변화를 담당한다. Ku70/Ku80는 DNA 말단부위에

¹Corresponding author.

E-mail : hspark@jinju.ac.kr

본 연구는 한국과학재단 지정 진주산업대학교 동물생명산업 지역협력연구센터(과제번호: R12-2002-001-01004-0)의 연구비 지원에 의한 것.

결합하는 중요한 단백질로, 특히 Ku80는 C 말단부위에서 DNA-PKcs와 높은 특이적 상호작용을 가진다. 그러나 Ku70 또는 Ku80 단독으로는 DNA 말단부위의 결합력은 소실된다. DNA-PKcs는 DNA-PKcs-Ku 복합체를 형성할 때 DNA 말단부위에 결합력을 가지며 특히 Ku80의 말단 12개 아미노산(721~732)이 존재할 때 DNA repair 기능을 나타낸다. DNA-PK 촉매단위(DNA-PK-cs)는 470-kDa polypeptide로, 효소의 kinase 활성을 위하여 필요하다^{1,23}. DNA-PK는 또한 DNA 말단부위에서 non-homologous end joining(NHEJ) 경로와 V(D)J 조합의 구성역할을 담당한다^{20,27}. 여기에는 DNA 손상시 하부단위로 신호전달을 하는 경로를 포함한다¹⁶.

DNA 손상시 ATM kinase 인산화를 통한 p53의 활성화이 필수적이며, nucleotide excision repair와 손상에 의한 세포의 S 주기 등과 같은 여러 가지 증거들이 있다^{6,10,26}. 이러한 반응들은 항암제 등에 의한 세포의 유전적 변이로부터 보호하는 기능을 가지고 있다. DNA-PK 변이 세포들은 방사선 조사나 항암제 투여시 DNA 손상에 효율적으로 반응하는데 결합을 가지고 있으며, 이는 DNA 회복기전이 DNA-PKcs의 능동적 역할에 달려 있다고 제안할 수 있다²⁴. 여러 연구자들에 의해 약제 감수성을^{18,22} 가지는 세포를 이용하여 손상된 DNA의 축적으로 세포가 사멸된다는 연구가 되어 있다.

DNA-PK의 활성은 *in vivo*에서 DNA repair를 위해 필요하며, *in vivo*에서 DNA-PK가 결핍되어 있는 포유동물 세포주에 방사선을 조사하면 DNA-PKcs가 발현되지 않는다. *in vitro* 상에서 NHEJ 경로 단백질의 집합체를 형성하는 역할을 가진 DNA-PK 복합체는 DSB의 말단에 결합하는데 아주 밀접한 관련을 가진다⁷.

이상의 사실들을 볼 때 DNA-PK는 방사선 조사나 DNA 손상유발 약제에 의한 암세포의 저항성을 나타내는 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각된다. 그러나 다른 관점에서 보면 DNA-PK의 기능을 억제 할 수 있다면 암세포의 약제 저항성은 감소되어 사멸이 촉진될 것으로 생각된다. Peptide를 사용함으로써 DNA-PK의 기능을 직접적으로 간섭하여 방사선 조사시 DSBs 회복 경로를 차단하는 새로운 치료보조제를 개발할 수 있을 것으로 생각된다. 이것을 보다 효율적으로 사용한다면 광범위한 항암제 치료조제로 사용할 수 있을 것이다. 본 연구는 합성된 peptide(HNI-38)를 이용하여 DSBs 회복을 위한 DNA-PK의 기능을 억제하는 항암제 치료제를 개발하고자 한다.

재료 및 방법

세포주와 시약

31세 백인여성과 51세 흑인여성의 유방암세포로부터 분리되어진 MDA-465와 MDA-468 세포주를 Dr. Suk-Hee Lee (Indiana University Cancer Center, Indianapolis, IN)로부터 제공받았다. 그리고 세포의 배양을 위하여 MEM 배지에 10% 소태아 혈청을 첨가하고 37°C, 5% CO₂ 배양기를 사용하여 배양하였다. [γ -³²P]ATP(4500 Ci/mmol)는 ICN(CA, USA)에서 구입하였으며 dsDNA cellulose와 cisplatin은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 상업용으로 구입하였다.

DNA-PK에 대한 합성 펩타이드의 제작

합성 peptide의 제작은 먼저 세포막의 통과를 용이하게 하기 위한 membrane-translocation hydrophobic signal sequence와 핵내 침투를 위한 nuclear localization sequence를 제작하여 이를 대조군 peptide(HN-26)로 사용하였으며, 여기에 Ku70/Ku80에 결합하는 DNA-PKcs의 기능을 차단하기 위하여 DNA-PKcs와 결합부위인 Ku80의 C-terminus 말단12개 아미노산인 EGGDVDDLLDMI를 추가로 제작하여 target peptide(HNI-38)로 사용하였다.

DNA-PK kinase

DNA-PK kinase 분석을 위한 혼합 반응액은 20 mM HEPES-KOH(pH7.5), 1 mM EGTA, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 10 mM MgCl₂, 7 mM MnCl₂, 5 mM NaF, 1 mM NaVO₄, ³²P-ATP 50 μ l, 펩타이드 기질 150 μ l, DNase I-activated calf-thymus DNA 0.4 μ g으로 조성하였으며, 정제된 DNA-PK complex의 농도는 100 ng으로 하였다. Peptide 기질(EPPLSQEAFDLWKK)은 p53의 11-24의 아미노산으로 DNA-PK 분석을 위하여 사용하였다. DNA-PK kinase 활성의 간섭정도는 여러 농도의 peptide 억제제를 반응시 투여하였다. 반응은 30°C에서 30분간 배양하였으며 30% acetic acid를 반응정지액으로 사용한 후 반응액(5 μ l)을 P81-strip 위에 점적하고 건조한 후 세척하여 방사선 측정을 하였다. DNA-PK 활성은 ³²P의 pmol로 표현하였다³.

세포 생존

세포(1.0 \times 10⁴ cells/well)를 96 well plate에 분주하고 대조

HN-26	AAVALLPAVLLALLA <i>PVQRKRQK</i> LMY
HNI-38	AAVALLPAVLLALLA <i>PVQRKRQK</i> LMY EGGDVDDLLDMI

Fig. 1. Synthetic peptide used for co-therapy study. Binding sequences synthetic peptide of the Ku70/Ku80 and DNA-PKcs -based inhibitor and control peptides (single-letter amino acid code). The membrane-translocation hydrophobic signal sequence is indicated in italic letter and the nuclear localization sequence is shown in bold face. Twelve residues of peptide inhibitor region is normal letter at the C-terminus of HNI-38.

균 또는 HN-26 또는 HNI-38 peptide를 첨가하여 24시간 배양한 후 방사선 또는 cisplatin을 처리하였다. 37°C, 5% CO₂ 상태에서 72시간 배양한 후 MTT Cell Proliferation Kit(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 생존된 세포를 분석하였다. 다른 방법으로는 100 mm² 조직 배양기에 세포를 분주하여 방사선 또는 cisplatin을 처리한 후 균집화 된 생존세포를 분석하였다. 대조군의 세포들은 합성 peptide를 처리하지 않거나 DNA 손상을 가하지 않았다. 약제에 노출된 세포들은 5일간 배양하여 crystal violet 염색을 하고 균집 당 50개 이상의 세포들이 모여 있는 균을 측정하여 결과를 분석하였으며 각 실험군은 3개씩 한 그룹으로 하였다.

Double-stranded DNA breaks(DSBs) repair

유방암세포에 40 Gy 감마선(¹³⁷Cs)을 조사하여 손상된 DNA의 회복 측정은 pulsed field gel electrophoresis를 이용하였다. 이를 위해 유방암세포에 2.5 μM [¹⁴C]-thymidine (0.1 μCi/ml)과 대조군 또는 유사 peptide를 첨가하여 방사선을 조사(40 Gy)한 후 시간별로 세포를 모아 42°C로 전 처리된 배양액 넣고, DSB 회복정도를 측정하기 위하여 37°C serum-free 배지에 2.5 × 10⁶ cells/ml가 되게 하였다. 세포를 동량의 2% agarose에 혼합하고 50 mM NaCl, 0.5 M EDTA, 2% N-Laury sarcosyl, proteinase E & O(0.1 mg/ml)가 함유된 10 mM Tris(pH8.0) buffer에 용해하였다. DNA double-strand breaks 측정은 0.5% agarose gel을 asymmetric field inversion gel electrophoresis(AFIGE)에 넣어 10°C에서 36 시간 전기영동 하였다. 전기영동을 한 후 chromosome에서 분리된 손상된 DNA의 분석을 위해 gel 내에 있는 [¹⁴C]-thymidine의 함량을 liquid scintillation counter를 이용하여 fluorography 분석을 실시하였다.

통계분석

결과의 분석을 위하여 ANOVA 방법을 사용하였으며, 유의성은 P < 0.05가 되게 하였다.

결 과

DNA-PK kinase 활성화에 대한 유사 peptide의 효과

HN-26 또는 HNI-38 peptide를 처리하여 *in vitro* 상에서 DNA-PK kinase 활성을 측정하였다(Fig 2). DNA-PK kinase 활성은 대조군에 비하여 유사 peptide 투여군이 MDA-465에서 최대 50% 억제효과를 나타내었다(Fig 2A). MDA-468(Fig 2B) 세포는 유사 peptide에 의해 8 nM과 10 nM의 peptide 첨가한 군에 있어서 DNA-PKcs의 활성이 특이적으로 억제되는 효과를 나타내었다(< 0.05).

방사선 조사에 의한 dsDNA breaks시 유사 peptide의 회복차단 효과

방사선(40 Gy)를 처리한 MDA-465(Fig 3A)와 MDA-

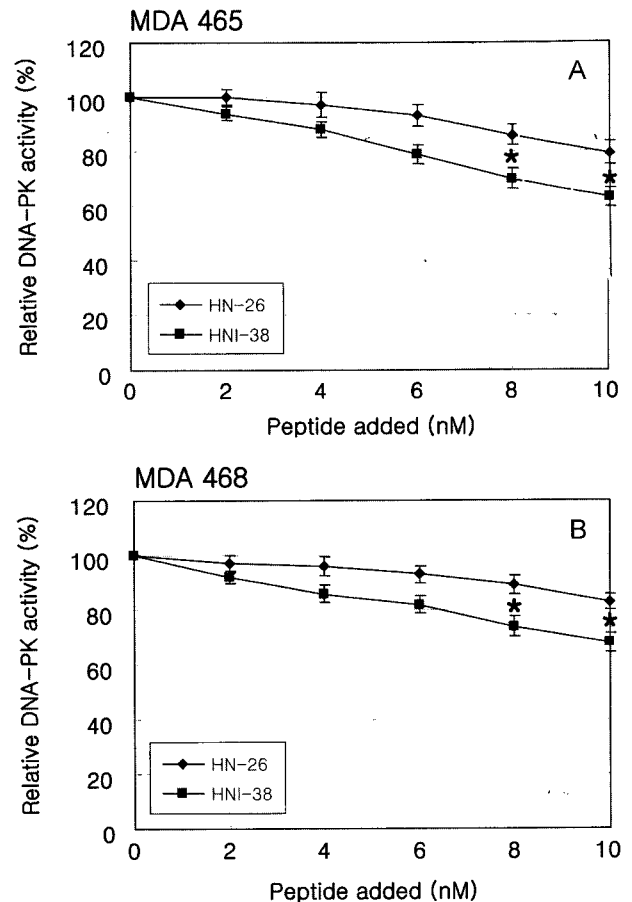


Fig. 2. *in vitro* effect of target peptide on DNA-PK kinase activity isolated from MDA-465 (A) and MDA-468 (B). Partially purified DNA-PK fraction was incubated with various concentration of either control peptide or target peptide prior to the addition of substrate peptides and other components for DNA-PK kinase assay. DNA-PK activity was measured as the relative amounts of ³²P transferred to the substrate peptide. *, significantly different from that in the presence of HN-26 (p < 0.05).

468(Fig 3B)군에서 dsDNA breaks의 유발이 일어났으며, 이들의 대부분이 4시간 경과시 손상된 DNA가 회복됨을 알 수 있었다. MDA-465와 MDA-468은 HNI-38 peptide를 처리하였을 때 4시간 경과시 대조군에 비하여 DSBs 회복 활성이 각각 22.3%와 14.3% 감소됨을 나타내었다(< 0.05). 이러한 결과는 합성 peptide가 *in vivo* 상에서 DNA-PK complex 활성이 억제함을 나타내는 것이다.

유방암세포의 DNA 손상시 유사 peptide에 의한 성장억제 효과

MDA-465(Fig 4A)와 MDA-468(Fig 4B)는 HNI-38의 peptide에 의한 DNA-PK의 억제효과에 기인한다는 것을 세포생존실험에서 보여주고 있다. MDA-465 및 MDA-468에서 나타내었듯이 방사선을 조사하지 않은 군에서는 대조군과 합

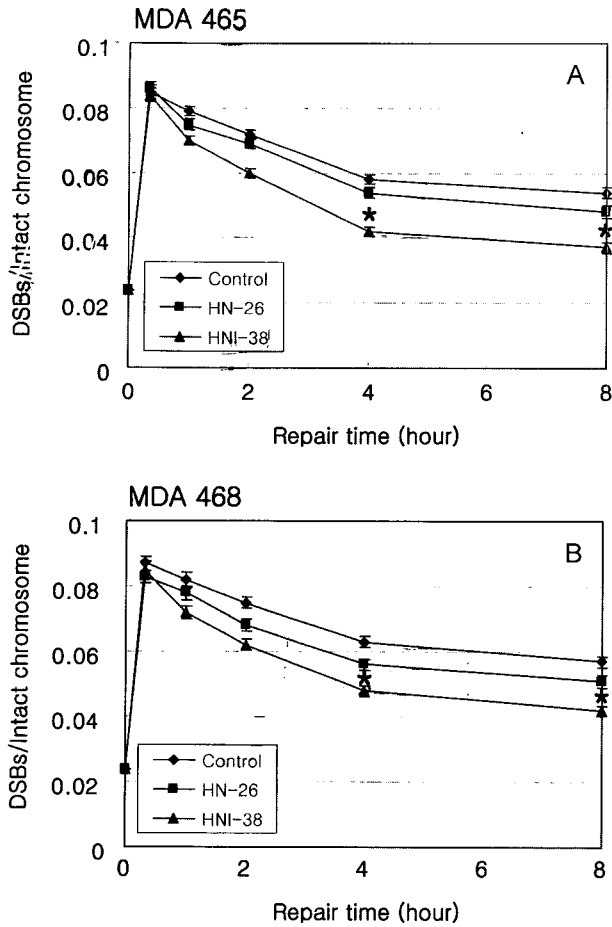


Fig. 3. Effect of target peptide on double-stranded DNA breaks (DSB) repair. MDA-465 (A) and MDA-468 (B) grown in ^{14}C -containing media were treated with ionizing radiation (40 Gy) in the presence of no peptide, 50 nM control peptide, or 50 nM target peptide. After harvesting the cells at various time points, intact chromosomes and double-stranded DNA breaks (DSBs) were quantified by liquid scintillation counter. *, significantly different from control and the presence of HN-26 ($p < 0.05$).

성 peptide에 의한 세포 성장에 미치는 효과는 없었다. 그러나 2와 5 Gy 방사선 조사 처리군에서는 HNI-38 peptide 투여군이 대조군(Fig 4)에 비하여 세포의 성장이 현저히 억제되었다(< 0.05). HNI-38 peptide 투여 후 cisplatin을 처리하여 비교한 결과 MDA-465 및 MDA-468에 cisplatin 2 μM 과 1 μM 을 처리하였을 때 각각 22.6%와 30%(Fig 5A 및 5B)의 성장억제효과를 나타내었다(< 0.05).

고 찰

암 환자의 치료를 위하여 방사선 조사나 항암제를 투여하면 암세포의 DNA가 절단되는 현상이 일어나며 이때 절단된 DNA의 회복과 유전자의 변형을 막기 위한 기전이 즉시 암세포에서 일어나게 된다. 사람에서 DNA 회복경로는 여러 가

지가 있는데 이들은 multimeric polypeptide 활성화에 의존한다²⁵. Ku70/Ku80는 손상된 DNA를 처음으로 인지한 다음 DNA-PK를 활성화시킨다. 이와 같이 DNA 손상인지 단백질들은 하부신호전달로 단백질을 활성화하여 손상된 DNA를 복원시킨다. DNA-PK는 dsDNA breaks에 의한 NHEJ 경로의 주요한 결정 구성원이다¹¹. 방사선조사에 의해 dsDNA breaks가 유발되면 NHEJ 과정에 의해 즉시 손상된 부위를 회복하기 위한 기전이 일어나게 된다. 유전적 또는 생화학적 관점에서 볼 때 NHEJ의 역할은 DNA-PK 역할을 위하여 필수적이다. 따라서 방사선조사에 따른 dsDNA breaks repair를 합성 peptide를 투여함으로써 효과적으로 억제할 것으로 기대하며 실험을 하였다. 약제 감수성을 나타내는 암세포에 DNA-PK complex는 약제 저항성을 유도하며 낮은 DNA-PK complex의 활성화는 전형적인 약제 감수성과 연관된다¹⁹. 이는 DNA-PK complex가 DNA 손상을 유발하는 항암제에 대한 약제 저항성에 중요한 역할을 한다는 것으로 해석된다. DNA-PKcs와 Ku70/Ku80와의 상호작용에서 DNA 회복기능을 담당하는 DNA-PK의 활성을 억제하면 약제에 대하여 감수성을 나타내어 암세포의 사멸을 촉진할 것이다. 이 점을 기초하여 DNA-PKcs와 Ku 복합체(Ku70/Ku80)의 상호작용을 특이적으로 억제하는 peptide를 이용한 항암제 치료 보조제 개발을 시도하였다.

본 연구에서 Ku80 C 말단부분을 포함하는 유사 peptide (HNI-38)는 DNA-PKcs와 Ku 복합체의 상호작용을 간섭하여 활성을 억제하는 결과를 나타내었다. 같은 조건에서 대조군 peptide(HN-26)는 상호작용의 억제효과가 유사 peptide에 비하여 거의 나타나지 않았으나 유사 peptide는 DNA-PK의 활성을 50% 까지 감소시켰다.

유사 peptide를 과량으로 투여 했을 때에는 DNA-PK kinase 활성의 억제를 더 이상 나타내지 않았다. DNA-PKcs가 Ku 복합체가 없을 때에는 활성정도가 약하지만 기능을 가지고 있다는 것을 나타낸다. 방사선 조사나 항암제에 의해 DNA가 손상되었을 때 DNA-PK는 DNA 회복뿐만 아니라 세포주기 조절에도 영향을 미친다. 이것은 손상된 세포가 apoptosis로부터 보호하기 위한 과정이다. 방사선 조사(40 Gy)를 한 세포군에 유사 peptide를 투여하였을 때 DSB 회복기전이 현저히 감소하였는데, 이는 HNI-38이 *in vivo* 상태에서 특이적으로 DNA-PK의 활성을 억제하여 나타나는 결과로 생각된다. HNI-38에 의한 DNA-PK의 억제는 또한 방사선 처리하였을 때 MDA-465와 MDA-468 모두에서 성장억제 효과를 나타내었는데, 이는 결국 DNA-PK의 활성억제는 세포의 성장억제의 원인이 된다고 할 수 있다. HNI-38을 처리한 후 cisplatin을 투여하였을 때 세포의 성장억제를 나타내었다. 이것은 DNA-PK가 명백하게 포유동물에서 직접적으로 NER 활성을 갖는다는 것을 의미한다⁴.

결 론

항암치료를 위하여 방사선조사나 항암제를 투여하면 암세

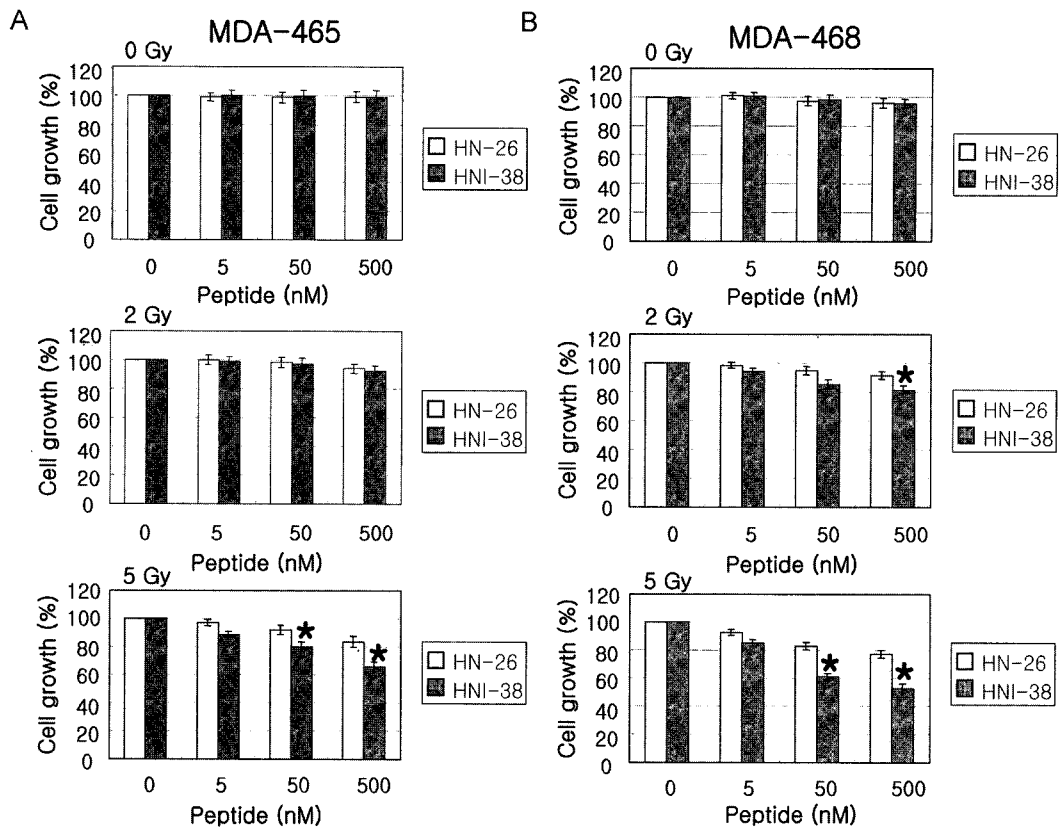


Fig. 4. Effect of control (HN-26) and target peptide (HNI-38) on the growth of MDA-465 (A) and MDA-468 treated with ionizing radiation (0, 2, and 5 Gy). Values expressed means \pm SE of four replications (*, $p < 0.05$). The clonogenic assay was used for the cells treated with ionizing radiation.

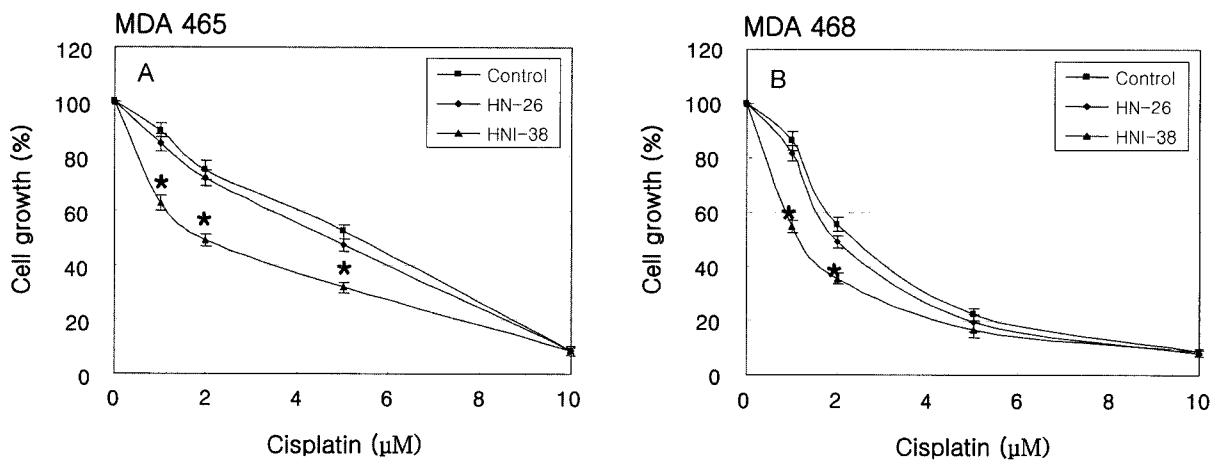


Fig. 5. Effect of control (HN-26) and target peptides (HNI-38) on the growth of MDA-465 (A) and MDA-468 (B), treated with cisplatin. The cell survival assay (MTT) was employed for those treated with cisplatin. *, significantly different from control and the presence of HN-26 ($p < 0.05$).

포의 두 가닥 genomic DNA가 절단되면서 암세포는 대부분 사멸된다. 반면에 일부의 암세포는 DNA 회복 단백질이 절단된 DNA와 결합하여 복구함으로써 생존하게 된다. 암세포의 회복기전은 DNA-PK complex의 구성요소인 DNA-PKcs와

heterodimer Ku70/Ku80의 3가지 단백질이 중요한 역할을 담당한다. 따라서 DNA-PKcs와 Ku70/Ku80의 상호 결합을 억제함으로써 DNA 회복기전을 차단하여 암세포의 사멸을 촉진시킬 수 있는지 검토하였다. 암세포의 사멸 촉진기전은

Ku80의 C-terminus domain 말단 12개 sequence가 DNA-PKcs와 결합하므로 이 부분에 해당하는 유사 peptide를 제작하여 투여함으로써 DNA-PK complex의 결합을 저해하도록 하였으며 결과는 다음과 같다.

1. DNA-PK kinase 활성화에 대한 합성 peptide의 효과에 있어서 유방암 세포주인 MDA-465와 MDA-468 모두에서 10 nM의 HNI-38 peptide 투여군이 대조군에 비하여 kinase 활성이 유의성 있게 감소되었다.

2. 방사선 조사에 의한 dsDNA breaks시 유사 peptide의 회복차단 효과로서는 40 Gy의 방사선 조사시 유사 peptide 50 mM 투여군 4시간 경과부터 MDA-465와 MDA-468 모두 유의성 있게 DNA 회복이 감소되었다.

3. 유방암세포의 DNA 손상시 유사 peptide에 의한 성장억제 효과로서는 5 Gy 방사선 조사시 500 nM의 유사 peptide 투여군에서 MDA-465와 MDA-468 모두 유의성 있게 세포의 성장이 억제되었다.

이상의 결과로 보아 유방암세포주에 Ku70/Ku80와 DNA-PKcs의 결합을 차단하는 합성 peptide(HNI-38)를 투여하였을 때 방사선조사 또는 cisplatin 투여 후 암세포의 성장이 대조군에 비하여 현저히 억제되었다.

참 고 문 헌

- Blunt T, Finnie HJ, Taccioli GC, Demengot J, Gottlieb TM, Mizuta R, Varghese AJ, Alt FW, Jeggo PA. Defective DNA-dependent protein kinase activity is linked to V(D)J recombination and DNA repair defects associated with the murine scid mutation. *Cell* 1995; 80: 813-823.
- Cary RB, Peterson SR, Wang J, Bear DG, Bradbury EM, Chen DJ. DNA looping by Ku and the DNA-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 4267-4272.
- DiBiase SJ, Zeng ZC, Chen R, Hyslop T, Curran WJ, Lliakis G. DNA-dependent protein kinase stimulates an independently active, nonhomologous, end-joining apparatus. *Cancer Res* 2000; 60: 1245-1253.
- Douglas P, Sapkota GP, Morrice N, Yu Y, Goodarzi AA, Merkle D, Meek K, Alessi DR, Lees-Miller SP. Identification of *in vitro* and *in vivo* phosphorylation sites in the catalytic subunit of the DNA-dependent protein kinase. *Biochem J* 2002; 368: 243-51.
- Featherstone C, Jackson SP. Ku, a DNA repair protein with multiple cellular functions? *Mutat Res* 1999; 434: 3-15.
- Friedberg EC. Relationship between DNA repair and transcription. *Ann Rev Biochem* 1996; 65: 15-42.
- Frit P, Calsou P, Chen DJ, Salles B. Ku70/Ku80 protein complex inhibits the binding of nucleotide excision repair proteins on linear DNA *in vitro*. *J Mol Biol* 1998; 284: 963-73.
- Gell D, Jackson SP. Mapping of protein-protein interactions within the DNA-dependent protein kinase complex. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 3494-3502.
- Hammarsten O, Chu G. DNA-dependent protein kinase: DNA binding and activation in the absence of Ku. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 525-530.
- Hartley KO, Gel D, Smith GC, Zhang H, Divecha N, Connelly MA, Admon A, Lees-Miller SP, Anderson CW, Jackson SP. DNA-dependent protein kinase catalytic subunit: a relative of phosphatidylinositol 3-kinase and the ataxia telangiectasia gene product. *Cell* 1995; 82: 849-856.
- Jin S, Lnoue S, Weaver DT. Functions of the DNA dependent protein kinase. *Cancer Surv* 1997; 29: 221-261.
- Kim SH, Um JH, Dong-Won B, Kwon BH, Kim DW, Chung BS, Kang CD. Potentiation of chemo sensitivity in multidrug-resistant human leukemia CEM cells by inhibition of DNA-dependent protein kinase using wortmanin. *Leuk Res* 2000; 24: 917-925.
- Lee SH, Kim CH. DNA-dependent protein kinase complex: a multifunctional protein in DNA repair and damage checkpoint. *Molecules and Cells* 2002; 13: 159-166.
- Lee SH. Recognition of DNA in mammals. *J Biochem & Mol Biol* 2001; 34: 489-495.
- Lees-Miller SP, Chen YR, Anderson CW. Hyman cells contain a DNA-activated protein kinase that phosphorylates simian virus 40 T antigen, mouse p53, and the human Ku autoantigen. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 6472-6481.
- Lees-Miller SP, Godbout R, Chan DW, Weinfeld M, Day RS 3rd, Barron GM, Allalunis-Tumer J. Absence of p350 subunit of DNA-activated protein kinase from a radiosensitive human cell line. *Science* 1995; 267: 1183-1185.
- Lieber MR, Grawunder U, Wu X, Yaneva M. Tying loose ends: roles of Ku and DNA-dependent protein kinase in the repair of double-strand breaks. *Curr Opin Genet Dev* 1997; 7: 99-104.
- Mirzayans R, Pollock S, Scott A, Enns L, Andrais B, Murray D. Relationship between the radiosensitizing effect of wortmannin, DNA double-strand break rejoining, and p21WAF1 induction in human normal and tumor-derived cells. *Mol Carcinog* 2004; 39: 164-72.
- Muller C, Calsou P, Frit P, Cayrol C, Cater T, Salles B. UV sensitivity and impaired nucleotide excision repair in DNA-dependent protein kinase mutant cells. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 1382-1389.
- Park JS, Park SJ, Peng X, Yu M, Wang M, Lee SH. Involvement of DNA-dependent protein kinase in UV-damage induced replication arrest. *J Biol Chem* 1999; 274: 32520-32527.
- Shen H, Schultz M, Kruh GD, Tew KD. Increased expression of DNA-dependent protein kinase confers resistance to adrimycin. *Biochim Biophys Acta* 1998; 23: 131-138.
- Suwa A, Hirakata M, Takeda Y, Jesch SA, Mimori T, Hardin JA. DNA-dependent protein kinase (Ku protein-p350 complex) assembles on double-stranded DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6904-6908.
- Taverna P, Liu L, Hanson AJ, Monks A, Gerson SL. Characterization of MLH1 and MSH2 DNA mismatch repair proteins in cell lines of the NCI anticancer drug screen. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; 46: 507-16.
- Tew KD, O'Brien M, Laing NM, Shen H. Coordinate changes in expression of protective genes in drug-resistant cells. *Chem Biol Interact* 1998; 111: 199-211.
- Woo RA, McLure KG, Lees-Miller SP, Rancourt DE, Lee PWK. DNA-dependent protein kinase acts upstream of p53 in response to DNA damage. *Nature* 1998; 394: 700-704.
- Wu X, Lieber MR. Protein-protein and protein-DNA interaction regions within the DNA end-binding protein Ku70-Ku86. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 5193-5196.