

DNA-PKcs 基因沉默抑制人乳腺上皮细胞对低剂量辐射损伤的修复

邹伟^{1,2,4}, 车鉴¹, 王崇杰³, 崔玉影¹, 张钦明⁴

1 辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116029

2 辽宁省生物技术和分子药物研发重点实验室, 大连 116029

3 辽宁师范大学物理学院, 大连 116029

4 美国科罗拉多州立大学环境与放射卫生学系, 柯林斯堡 80523

摘要: DNA-PKcs 作为 DNA 依赖性蛋白激酶(DNA-PK)的催化亚基在 DNA 双链断裂(DSBs)的非同源末端重组(NHEJ)通路中起重要的作用。本实验以人乳腺上皮细胞株 MCF10F 为研究对象, 通过 siRNA 技术抑制细胞内 DNA-PKcs 的表达, 用 50 cGy ¹³⁷Cs 照射细胞, 测定细胞生长曲线以确定细胞对低剂量辐射(LDR)的敏感性, 同时检测 DNA 修复相关蛋白表达的变化, 旨在探讨 DNA 依赖蛋白激酶(DNA-PKcs)基因沉默对人乳腺上皮细胞株 MCF10F 低剂量辐射敏感性的影响及机制。结果显示: 转染特异性 siRNA 可使人乳腺上皮细胞(MCF10F) DNA-PKcs 基因沉默, 增殖受到明显的抑制; 50 cGy γ 射线辐射可使乳腺细胞内 DNA-PKcs、Ku80、ATM、P53 等 DNA 修复相关蛋白表达增多, 但 DNA-PKcs 基因沉默细胞(MCF10F^{pk})中, 这些蛋白表达显著低于对照组(MCF10F^{mock})。以上结果提示, DNA-PKcs 基因沉默可引起乳腺细胞对低剂量辐射敏感性增加, 其原因可能与相关 DNA 修复蛋白表达减少有关。

关键词: 乳腺细胞, 基因沉默, DNA-PKcs 基因

DNA-PKcs silencing inhibit the DNA repair induced by low dose radiation on human breast epithelial cells

Wei Zou^{1,2,4}, Jian Che¹, Chongjie Wang³, Yuying Cui¹, and Qinming Zhang⁴

1 College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

2 Liaoning Key Laboratories of Biotechnology and Molecular Drug Research and Development, Dalian 116029, China

3 Institute of Physics, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

4 Departments of Environmental and Radiological Health Sciences, Colorado State University, Fort Collins 80523, USA

Abstract: DNA-PKcs, the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase (DNA-PK), plays an important role in the nonhomologous end-joining (NHEJ) pathway of DNA double-strand breaks (DSBs) repair. To investigate the effects of DNA-PKcs down-regulation on cell growth and sensitization to low dose radiation (LDR), we transfected DNA-PKcs siRNA into human mammary epithelia cells MCF10F, then, detected the proliferation curve of the cells and the expression of proteins in DNA repair pathways. The results showed that DNA-PKcs gene silencing, induced by the transfection of DNA-PKcs siRNA could suppress significantly the cell proliferation and inhibit the expression of the DNA repair proteins, such as Ku80, ATM and P53 after 50 cGy

Received: January 15, 2009; **Accepted:** March 9, 2009

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 30570225), Education Department of Liaoning Province (No. 05L206).

Corresponding author: Wei Zou. Tel: +86-411-82159360; E-mail: weizou60@hotmail.com

国家自然科学基金项目(No. 30570225), 辽宁省教育厅科研基金资助项目(No. 05L206)资助。

¹³⁷Cs γ -irradiation. The results suggested that DNA-PKcs gene silencing could increase the sensitivity of human breast epithelial cells to the LDR, which might be relative with the decrease of the proteins.

Keywords: breast epithelial cell line, gene silence, DNA-PKcs gene

乳腺癌的发生是一个多阶段、多因素参与的过程^[1]。多种环境因素包括物理的和化学的致癌因子如电离辐射(Ionizing radiation, IR), 均可引起 DNA 双链断裂(Double-strand breaks, DSBs), 如不能及时修复会诱发乳腺细胞转化和癌变^[2-4]。

修复 DSBs 主要通过同源重组(Homology recombination, HR)和非同源末端连接(Non-homology end joining, NHEJ)两条途径^[5]。NHEJ 修复途径主要依赖 4 个核心因子: DNA-PK (DNA 依赖性蛋白激酶)、XRCC4、DNA 连接酶 IV 和 Artemis^[6]。其中 DNA-PK 包含 1 个具有丝/苏氨酸激酶活性的催化亚基 DNA-PKcs 和 2 个能启动 NHEJ 修复的 Ku 亚基^[7]。DNA-PKcs 是一个重要的损伤修复基因, 除在 NHEJ、V D J 重组和维持端粒结构中起关键作用外, 还可磷酸化诸多转录因子和修复基因^[8]。研究发现, 抑制 DNA-PKcs 活性或者使其表达缺失, 不仅使乳腺细胞 DSBs 修复障碍, 还使其对 IR 的敏感性增强^[4,9,10]。从这一点上看, 抑制 DNA-PKcs 表达和活性可能是调节肿瘤治疗抵抗性的有效手段之一, 具有重要的意义。

ATM(Ataxia-telangiectasia mutated)是毛细血管扩张性共济失调症突变基因(*atm*)编码的一种磷酸化的大分子核磷蛋白(分子量约为 350 kD)。作为 P53 的重要调节蛋白, ATM 主要功能是参与细胞周期的调控、DNA 损伤识别和修复^[11], 是 HR 修复通路的关键蛋白。Peng 等^[12]发现, DNA-PKcs 基因沉默会引起一些细胞中 ATM 表达下调; Arlander 等^[13]发现, ATM 表达下调的人乳腺上皮细胞对 IR 的敏感性增加, 同时使 IR 诱导的 DNA-PK 依赖性的 G2 检验点延长。提示 DNA-PK 和 ATM 二者在辐射引起的乳腺细胞 DNA 损伤修复、细胞周期调控以及早期转化过程中可能起着重要的作用。

低剂量辐射(Low dose radiation, LDR)可以引起包括细胞周期调节蛋白在内的多种蛋白表达的变化, 但是其详细机制并不十分清楚^[14]。此外, DNA-PKcs 与乳腺细胞辐射敏感性有关^[4], 但是对其是否参与对 LDR 的敏感性变化并未见报道。本研究采用小分

子核酸干扰技术(siRNA)沉默 DNA-PKcs 基因, 探讨其在人乳腺上皮细胞中对 LDR 敏感性的影响及机制, 为从基因水平对乳腺癌放射治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人乳腺上皮细胞 MCF10F(The American Type Culture Collection(ATCC), USA)。DMEM/F12 培养基、马血清(Hyclone, USA)。Lipofactamine 转染试剂(Gibco, USA)。DNA-PKcs 基因 siRNA 由美国科罗拉多州立大学(CSU)放射生物学系 Dr.Bedford 实验室设计, Dharmacon 合成^[12]。其序列为: GAUCGCACC-UUACUCUGUdTdT; dTdTTCUAGCGUGGAAUGAGACAA。DNA-PKcs、ATM、Ku80、 β -actin、P53、P21 等抗体(Santa Cruz Biotechnology, Inc, USA)。Western blotting 发光底物 ECL(Amersham Pharmacia Biotech, Inc)。

1.2 培养与转染

人乳腺上皮细胞 MCF10F 细胞用含马血清(5%)、胰岛素(Insulin, 10 μ g/mL)、霍乱毒素(Cholera toxin, 100 ng/mL)、表皮生长因子(EGF, 20 ng/mL)、氢化可的松(Hydrocortisone, 1.4 μ mol/L)的 DMEM/F12 细胞培养基培养。临用前加入青霉素(Penicillin, 100 U/mL)、链霉素(Streptomycin, 100 mg/L)。将 MCF10F 细胞接种于培养瓶和 24 孔板内, 在 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱(Heraeus, Inc, Germany)中培养 20 h 用处于对数生长期的细胞进行实验, 且细胞的存活率均在 95%以上(台盼蓝法)。利用 Lipofactamine 试剂盒将目的 siRNA (0.15 μ mol/L)转染 MCF10F, 终浓度达到 100 nmol/L。分别于转染 24、48、72、96、120 h 收集细胞。本试验分为 2 组: 转染组(转染 DNA-PKcs siRNA, 简称 MCF10F^{pk})和对照组(转染非 DNA-PKcs siRNA 序列, 简称 MCF10F^{mock})。

1.3 蛋白质免疫印迹鉴定 DNA-PKcs 的表达

分别收集对照组 MCF10F^{mock} 细胞和转染组 MCF10F^{pk} 细胞。用裂解缓冲液提取细胞总蛋白, 经

Bradford 法定量后进行 SDS-PAGE 电泳。将分离的蛋白电转移至 PVDF 膜上。用 5% 的脱脂奶粉室温封闭 1 h, 与 DNA-PKcs 一抗 4°C 孵育过夜, 再与对应的 HRP 标记二抗于 37°C 摇床中孵育 1 h。经 ECL 显色后, 用暗室 X 光胶片(Kodak)感光; 室温显影、定影, 用扫描仪和凝胶成像系统记录相应条带的透射光积分光密度值(ICO)。以 MCF10F^{mock} 作为阳性对照, 确定 DNA-PKcs 基因表达下调水平。

1.4 DNA-PKcs 蛋白功能检测

DNA-PKcs 基因沉默后, 将 MCF10F^{pk} 细胞和 MCF10F^{mock} 两组细胞重新接种于 24 孔细胞培养板中, 待细胞贴壁后, 接受 50 cGy ¹³⁷Cs γ 射线照射, 分别于照射后 10 min、60 min 和 120 min 三个时间点收集细胞、提取细胞总蛋白、考马斯亮蓝蛋白定量, SDS-PAGE 电泳、转膜、Western blotting 检测细胞内 DNA 修复通路相关蛋白的表达变化。

1.5 细胞生长曲线的测定

上述同样方法分别接种 2 组细胞于 24 孔板中, 待细胞贴壁后, 分别接受 50 cGy 和 100 cGy 的 ¹³⁷Cs γ 射线照射(day0), 每天同一时间, 收集细胞计数, 测定细胞生长曲线, 以确定细胞的辐射敏感性。

2 结果

2.1 siRNA 抑制人乳腺上皮细胞 MCF10F DNA-PKcs 基因的表达

如图 1 所示, 正常人乳腺上皮细胞 MCF10F 细胞具有较高水平的 DNA-PKcs 蛋白的表达。利用 DNA-PKcs 特异性 siRNA 转染人乳腺上皮细胞 MCF10F, 96 h 后 DNA-PKcs 基因的表达下调约 90%。表明 siRNA 转染可以有效地使乳腺细胞 DNA-PKcs 基因沉默。

2.2 DNA-PKcs 基因沉默使细胞 LDR 的敏感性增加

分别给予 MCF10F^{pk} 和 MCF10F^{mock} 两组细胞 50 cGy 和 100 cGy 的 γ 射线照射, 通过测定细胞生长速度确定细胞对辐射的敏感性。结果如图 2 所示, 正常乳腺细胞接受低剂量 50 cGy 辐射后第 3 天, 细胞的生长受到抑制, 具有时间和剂量依赖性。当转染 siRNA 使细胞 DNA-PKcs 表达降低后, 可显著抑制细胞的生长, 低剂量辐射使基因沉默细胞生长进一步减慢, 但 50 cGy 和 100 cGy 没有明显差异。

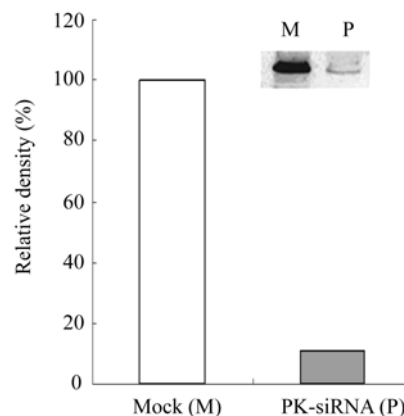


图 1 siRNA 转染对人乳腺上皮细胞 DNA-PKcs 基因表达的影响

Fig. 1 Expression of DNA-PKcs after transfection of DNA-PKcs siRNA into MCF10F cells. M (Mock): MCF10F; P (PK-siRNA): MCF10F /DNA-PKcs siRNA.

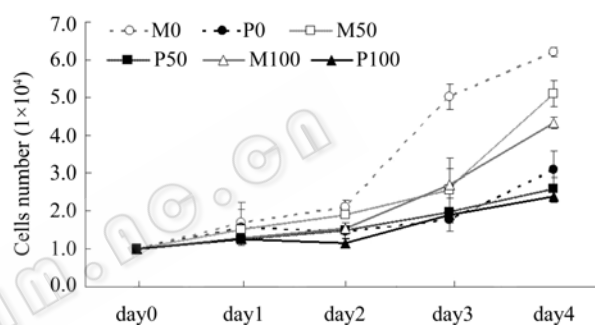


图 2 细胞生长曲线

Fig. 2 Growth curve of the cells after DNA-PKcs knockdown followed LDR. M0, M50, M100: MCF10F^{mock} after 0, 50, 100 cGy IR; P0, P50, P100: MCF10F^{pk} after 0, 50, 100 cGy IR. (M: Mock; P: PK-siRNA).

2.3 LDR 对 DNA-PKcs 基因沉默乳腺上皮细胞 DNA-PK 复合体成分、ATM、P53 和 P21 蛋白表达的影响

为了确定 DNA-PKcs siRNA 瞬时转染是否影响低剂量辐射所致的 DNA 损伤修复, 首先观察了对照组 MCF10F^{mock} 细胞和转染组 MCF10F^{pk} 细胞低剂量辐射后 DNA-PKcs 的表达, 然后分别比较了 2 组细胞在 50 cGy 辐射 0 min、10 min、60 min 和 120 min 后, Ku80、ATM、P53 和 P21 蛋白表达的变化(图 3)。

瞬时转染 96 h 后, 将 2 组细胞重新接板贴壁, 检测发现, 50 cGy 低剂量辐射后 10 min 的 MCF10F^{mock} 组 DNA-PKcs 蛋白表达先下调, 而后逐渐增加; MCF10F^{pk} 组细胞内 DNA-PKcs 表达低于对照 90%左右, 辐射后虽然也略有增加, 但始终处于较低的水平(图 3A)。进一步观察发现, DNA-PKcs

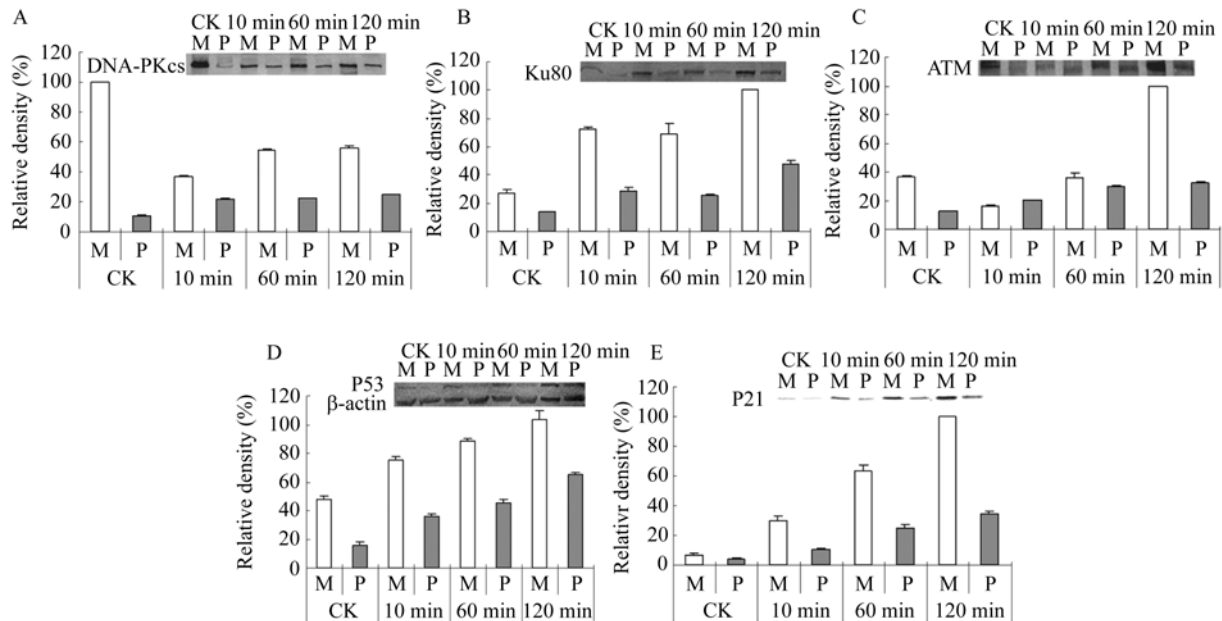


图3 低剂量辐射对 DNA-PKcs 基因沉默乳腺上皮细胞 DNA-PKcs、Ku80、ATM、P53 和 P21 蛋白表达的影响

Fig. 3 Effect of LDR on expression of DNA-PKcs, Ku80, ATM, P53 and P21 in the DNA-PKcs gene silencing MCF10F cell. (A) The expression of DNA-PKcs in the MCF10F cells after 50 cGy IR by Western blotting. (B) Expression of Ku80 in the MCF10F cells after 50 cGy IR by Western blotting. The results show the expression of Ku80 in MCF10F^{pk} cells slightly lower than MCF10F^{mock} cells, but independent with time. (C) Expression of ATM after 50 cGy IR. Western blotting analysis show a remarkable change of ATM in MCF10F^{pk} cells relative to MCF10F^{mock} cells. (D, E) Expression of P53 and P21 after 50 cGy IR, Western blotting results show observable increase of P53 expression in MCF10F^{mock} and MCF10F^{pk} cells, expression of P53 evidently increases in MCF10F^{mock} relative to MCF10F^{pk} cells. M: Mock; P: PK-siRNA.

基因沉默可减弱 DNA-PK 的成分之一 Ku80 蛋白的表达,但没有显著性差异(图 3B)。50 cGy 辐射后, MCF10F^{pk} 细胞内 Ku80 蛋白的表达总是低于 MCF10F^{mock} 细胞内 Ku80 蛋白的表达,呈显著差异 ($P<0.05$)。

与 Ku80 变化不同的是, DNA-PKcs 基因沉默后的 MCF10F^{pk} 细胞中 ATM 蛋白表达降低约 2 倍(图 3C), 50 cGy 低剂量辐射后,随着时间的增加,对照组和转染组细胞内的 ATM 蛋白表达都有升高,其中对照组在辐射后 120 min 增加约 2.5 倍。

P53 作为 DNA-PK 和 ATM 下游靶蛋白在 DNA 修复中具有重要的作用。为了确定 siRNA 抑制 DNA-PKcs 后对 P53 蛋白的影响以及与 LDR 敏感性的关系,我们观察了辐射前后 2 组细胞 P53 蛋白的表达变化。结果如图 3D 所示,辐射前 2 组细胞内的 P53 蛋白表达都很低,辐射后 10 min、60 min 和 120 min 的 MCF10F^{mock} 细胞内 P53 表达明显增加,具有显著意义 ($P<0.05$), MCF10F^{pk} 细胞内的 P53 蛋白也出现相同趋势,但始终低于 MCF10F^{mock} 细胞。图 3E 中,其下游调节细胞周期的靶蛋白 P21 也出现

类似的变化趋势。

3 讨论

研究表明,以 DNA 依赖蛋白激酶(DNA-PK)为代表的 NHEJ 修复是人类最主要的修复途径, DNA-PK 的关键组分是 DNA-PKcs, 所以 DNA-PKcs 是整个 NHEJ 修复过程中的重中之重^[15]。

Hamer 等发现, DNA-PKcs 缺陷型细胞的存活率降低^[16], Sak 等观察到 DNA-PKcs 基因表达下调会导致细胞对 10Gy γ 射线敏感性增强^[10]。本实验中采用小分子核酸干扰技术抑制乳腺上皮细胞 MCF10F DNA-PKcs 基因的表达,发现在转染第 4 天后,抑制率约达到 90%。在此基础上,利用 50 cGy ^{137}Cs γ 射线照射转染组 MCF10F^{pk} 细胞和对照组 MCF10F^{mock} 细胞,结果发现,随着时间的延长和剂量的增加,照射后第 4 天 MCF10F^{pk} 细胞生长受到明显的抑制,表明 DNA-PKcs 缺陷可以增加乳腺细胞 LDR 敏感性。

实验中发现, MCF10F^{mock} 细胞经 LDR 后, DNA-PKcs 蛋白表达先略有减少,而后逐渐增加,

产生对抗 LDR 的效应。但也发现, MCF10F^{pk} 组细胞尽管由于 siRNA 的作用, DNA-PKcs 的总体表达水平很低, 但仍表现有部分的增加。分析原因可能是由于瞬时转染小片段的 RNA, 没有完全抑制细胞内原有的 DNA-PKcs, 故导致照射后也略有增加。提示, LDR 引起的放射敏感性变化与 DNA-PKcs 缺陷有关。此结果与 Sirzen 等报道的在人肺癌细胞系中 DNA-PKcs 的活性和含量可以预示细胞内在放射敏感性的观点相一致^[17]。

LDR 敏感性机制通常涉及 DNA 修复通路调节和细胞周期的关系^[18]。Ku 亚基是由一个 70 kD 的 Ku70 和一个 86 kD 的 Ku80 DNA 结合蛋白组成的异源二聚体, 是 DNA-PK 的重要组成成分^[7]。本实验显示 MCF10F^{pk} 细胞内 Ku80 蛋白的表达低于 MCF10F^{mock} 细胞内 Ku80 蛋白的表达。Hammarsten 等早就发现 DNA-PKcs 可以不需要 Ku 蛋白的帮助, 而直接将断裂的 DNA 两端连接, 说明 DNA-PKcs 作为 DNA-PK 蛋白的催化亚基, 比 Ku80 这个调节亚基在 DSBs 修复方面起到更大的作用^[19], 这也更能反映出细胞中 DNA-PKcs 在 LDR 的敏感性中作用的重要性。

ATM 是 HR 修复通路的重要成分^[11], Guha 等报道, 以反义 ATM 基因 RNA 转染人胶质母细胞瘤细胞, ATM 基因表达受到明显抑制, 而 P53 和 P21 基因表达增加抗放射性的 DNA 合成增加, 表现出明显的放射增敏性^[20]。Peng 等发现 DNA-PKcs 蛋白表达缺失将引起 ATM 表达的下调^[12]。这与本实验中 ATM 在 DNA-PKcs 基因沉默后 MCF10F^{pk} 细胞内的表达也发生了明显下调的结果非常相似, 提示, ATM 作为 HR 通路的主要成分和 DNA-PKcs 之间具有交叉对话, 参与 DNA-PKcs 诱导的敏感性增加, 协同作用于 DSBs 的修复。

放射线照射后的 DNA 损伤修复依赖于检验点的调控。P53 基因的生物学意义是监护细胞基因组的完整性并调控细胞周期。如 DNA 受损(尤其在 G1 期), 则 P53 蛋白积累, DNA 复制停止于 G2 检验点, 以利于 HR 和 NHEJ 通路修复受损的 DNA。如果修复失败, 则 P53 基因引导凋亡程序使细胞“自杀”, 阻止其恶性转化^[21]。DNA-PK 还可使包括 P53 在内的多种转录因子磷酸化, 使 P53 蛋白表达增加^[22]。本实验结果显示, LDR 后正常乳腺细胞内 P53 表达

明显升高, DNA-PKcs 基因沉默后 MCF10F^{pk} 细胞内的 P53 蛋白虽有变化, 但仍然明显低于 MCF10F^{mock} 细胞。P53 下游蛋白 P21 表达的变化与其相似。提示 DNA-PKcs 基因沉默, 可能直接或间接抑制了 P53 的活性, 进而影响下游蛋白 P21 的表达, 使细胞周期阻滞, 生长减慢, 导致敏感性增强。

上述实验结果表明, DNA-PKcs 基因沉默可显著抑制乳腺上皮细胞对低剂量辐射损伤的修复, 其机制可能与 MCF10F^{pk} 细胞中 DNA-PKcs 蛋白表达缺失, 导致 NHEJ DNA 损伤修复通路受阻有关, 至于不同 DNA 修复通路在不同类型的 LDR 中的作用及机制, 有待于进一步探讨。

REFERENCES

- [1] Bloom JR, Stewart SL, Chang S, *et al.* Then and now: Quality of life of young breast cancer survivors. *Psychooncology*, 2004, **13**(3): 147–160.
- [2] Modan B, Chetrit A, Alfandary E, *et al.* Increased risk of breast cancer after low-dose irradiation. *Lancet*, 1989, **1**(8639): 629–631.
- [3] Calaf GM, Hei TK. Establishment of a radiation- and estrogen-induced breast cancer model. *Carcinogenesis*, 2000, **21**(4): 769–776.
- [4] Kim CH, Park SJ, Lee SH. A targeted inhibition of DNA-dependent protein kinase sensitizes breast cancer cells following ionizing radiation. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, **303**(2): 753–759.
- [5] Demeter J, Lee SE, Haber JE, *et al.* The DNA damage checkpoint signal in budding yeast is nuclear limited. *Mol Cell*, 2000, **6**(2): 487–492.
- [6] Salles B, Calsou P, Frit P, *et al.* The DNA repair complex DNA-PK, a pharmacological target in cancer chemotherapy and radiotherapy. *Pathol Biol*, 2006, **54**(4): 185–193.
- [7] Leuther KK, Hammarsten O, Kornberg RD, *et al.* Structure of DNA-dependent protein kinase: Implications for its regulation by DNA. *EMBO J*, 1999, **18**(5): 1114–1123.
- [8] Collis SJ, DeWeese TL, Jeggo PA, *et al.* The life and death of DNA-PK. *Oncogene*, 2005, **24**(6): 949–961.
- [9] Collis SJ, Swartz MJ, Nelson WG, *et al.* Enhanced radiation and chemotherapy mediated cell killing of human cancer cell by small inhibitory rna silencing of DNA repair factors. *Cancer Res*, 2003, **63**(7): 1550–1554.
- [10] Sak A, Stuschke M, Budach V, *et al.* Selective inactivation of DNA-dependent protein kinase with antisense oligodeoxynucleotides: Consequences for the rejoining of radiation-induced DNA double-strand breaks and radiosensitivity of human cancer cell lines. *Cancer Res*, 2002, **62**(22): 6621–6624.

- [11] Shiloh Y. ATM and related protein kinases: Safeguarding genome integrity. *Nat Rev Cancer*, 2003, **3**(3): 155–160.
- [12] Peng Y, Rich G, Joel S. Bedford, *et al.* Deficiency in the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase causes down-regulation of ATM. *Cancer Res*, 2005, **65**(5): 1670–1677.
- [13] Arlander SJ, Greene BT, Innes CL, *et al.* DNA protein kinase-dependent G2 checkpoint revealed following knockdown of ataxia-telangiectasia mutated in human mammary epithelial cells. *Cancer Res*, 2008, **68**(1): 89–97.
- [14] UNSCEAR Report. Sources and Effects of Ionizing Radiation. New York: United Nations Sales Publication, 2000.
- [15] Lieber MR, Ma Y, Pannicke U, *et al.* Mechanism and regulation of human non-homologous DNA end-joining. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, **4**(9): 712–720.
- [16] Hamer G, Roepers-Gajadien HL, van Duyn-Goedhart A, *et al.* Function of DNA-protein kinase catalytic subunit during the early meiotic prophase without Ku70 and Ku86. *Biol Reprod*, 2003, **68**(3): 717–721.
- [17] Sirzen F, Nilsson A, Zhivotovsky B, *et al.* DNA-dependent protein kinase content and activity in lung carcinoma cell line: Correlation with intrinsic radiosensitivity. *Eur J Cancer*, 1999, **35**(1): 111–116.
- [18] Harper JW, Elledge SJ. The DNA damage response: Ten years after. *Mol Cell*, 2007, **28**(5): 739–745.
- [19] Hammarsten O, Chu G. DNA-dependent protein kinase: DNA binding and activation in absence of Ku. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(2): 525–530.
- [20] Guha C, Guha U, Tribius S, *et al.* Antisense ATM gene therapy: a strategy to increase the radiosensitivity of human tumors. *Gene Ther*, 2000, **7**(10): 852–858.
- [21] Riley T, Sontag E, Chen P, *et al.* Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, **9**(5): 402–412.
- [22] Jack MT, Woo RA, Motoyama N, *et al.* DNA-dependent protein kinase and checkpoint kinase 2 synergistically activate a latent population of p53 upon DNA damage. *J Biol Chem*, 2004, **279**(15): 15269–15273.

科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

蛋白质定向、转运和转位

〔美〕达尔贝 (Dalbey, R E) 〔瑞典〕范海涅 (von Heijne, G) 主编
万平 张彦琼 译

978-7-03-023184-0 ¥65.00 2009年4月出版

内容简介

从生物技术到分子生物学,到细胞凋亡、免疫学、信号转导以及其他学科,都已证明蛋白质定位研究具有重要的意义。本书汇集了蛋白质定位研究中的许多重要问题,把最新的知识组织在一起,对这些问题进行了深入、系统的讲述。本书旨在使读者对蛋白质定位的重要性产生印象,并对蛋白质定位的基本原理也予以重视。全书共17章,包括精美的图表和大量的参考文献。

本书不仅是生物化学、生物技术、分子生物学和细胞生物学等研究领域的科研人员的重要参考资料,也适于研究生和(或)本科生作为高级教程。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址:北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编:100717

联系人:周文宇 联系电话:010-64031535

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目