

GINS2 基因对鼻咽癌细胞 5-8F 生物学行为的影响

钱露茜^{1,2}, 尹丽^{1,2}, 顾佳佳², 张楠², 吴婧², 卢志伟^{1,2}, 杜鸣宇², 何侠^{1,2}

(1. 南京医科大学第四临床医学院, 江苏 南京 210000; 2. 江苏省肿瘤医院, 江苏省肿瘤防治研究所, 南京医科大学附属肿瘤医院, 江苏 南京 210009)

摘要: [目的] 探讨 *GINS2* 基因对鼻咽癌 5-8F 细胞生物学行为的影响。[方法] 将靶向 *GINS2* 基因的 shRNA 慢病毒载体感染 5-8F 细胞, 利用荧光显微镜观察感染效率。实时荧光定量 PCR 检测 *GINS2* mRNA 表达的改变; Western blot 检测 *GINS2* 蛋白表达的改变; Celigo 细胞成像分析、噻唑盐(MTT)法、平板克隆形成实验检测细胞的生长增殖能力; 流式细胞术分析细胞凋亡率。[结果] *GINS2*-shRNA 慢病毒载体成功感染 5-8F 细胞, sh*GINS2* 组细胞中 *GINS2* mRNA 和蛋白表达水平明显降低; Celigo 细胞计数结果显示, sh*GINS2* 组细胞生长受抑制; MTT 结果显示, sh*GINS2* 组细胞增殖受抑制; 平板克隆形成实验显示, sh*GINS2* 组细胞克隆形成数减少; 流式细胞术结果显示, sh*GINS2* 组细胞凋亡率增高。[结论] 下调 5-8F 细胞 *GINS2* 的水平可抑制细胞生长增殖, 诱导细胞凋亡。

关键词: 鼻咽肿瘤; *GINS2* 基因; 生长; 增殖; 凋亡

中图分类号: R739.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)06-0536-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.06.B002

Effects of *GINS2* on Biological Behavior of Nasopharyngeal Carcinoma 5-8F Cell Line

QIAN Lu-xi^{1,2}, YIN Li^{1,2}, GU Jia-jia², et al.

(1. The Fourth Clinical School of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, China; 2. Jiangsu Cancer Hospital, Jiangsu Institute of Cancer Research, Nanjing Medical University Affiliated Cancer Hospital, Nanjing 210009, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effects of *GINS2* on the biological behavior of nasopharyngeal carcinoma (NPC) 5-8F cell line. [Methods] The shRNA lentiviral vector targeting *GINS2* was transfected into NPC 5-8F cells. The efficiency of transfection was observed under fluorescence microscope. Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blot were used to detect the expression of *GINS2* mRNA and protein respectively. Celigo image cytometry, MTT assay and colony formation assay were used to assess the viability and proliferation of 5-8F cells after transfection. Flow cytometry was used to detect the cell apoptosis. [Results] *GINS2*-shRNA was successfully transfected into 5-8F cells. qRT-PCR and Western Blot showed that the expressions of *GINS2* mRNA and protein were significantly inhibited in sh*GINS2* group. Celigo image cytometry revealed that the growth ability of 5-8F cells in sh*GINS2* group was also inhibited. The MTT assay showed that the proliferation ability in sh*GINS2* group was suppressed. Colony formation assay showed that the colony number in sh*GINS2* group was reduced. Flow cytometry showed that the apoptosis rate increased in sh*GINS2* group. [Conclusion] The lentivirus-mediated *GINS2* shRNA can inhibit the growth and proliferation, and promote the apoptosis of NPC 5-8F cells.

Subject words: nasopharyngeal carcinoma; *GINS2* gene; growth; proliferation; apoptosis

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是头颈

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81672989); 江苏省科技厅临床医学科技专项基金(BL2014091); 江苏省卫生与计划生育委员会青年基金(Q201501); 江苏省卫生厅青年医学人才基金(QNRC2016648)

通讯作者: 何侠, 主任, 主任医师, 教授, 博士生导师, 博士; 南京医科大学附属肿瘤医院放疗科, 江苏省南京市玄武区百子亭42号(210009); E-mail: hexiabm@163.com

收稿日期: 2017-10-19; **修回日期:** 2018-01-24

部较常见的恶性肿瘤之一, 具有显著的地理分布差异, 约 80% 鼻咽癌发生于我国南方及东南亚地区^[1,2]。其发病与环境、遗传及 EB 病毒感染等因素相关^[2,3], 局部复发和远处转移是其治疗失败的主要原因^[4]。目前, NPC 的主要治疗模式为放化疗^[1,5], 而生物学治疗手段急需提高。

GINS2 基因又称 *Psf2* 基因, 是 GINS 家族中的一个亚基^[6]。GINS 家族最早由 Kubota 等^[7]从出芽酵母中提取而来。在真核细胞中, GINS 家族与细胞 DNA 损伤的发生^[8,9]和复制起始^[10,11]密切相关, 参与细胞周期的调控^[12], 并对细胞的增殖和凋亡起到十分关键的作用^[13,14]。既往研究表明, GINS2 在众多恶性肿瘤中高表达, 促进肿瘤细胞的发生和发展^[6,15-19]。

以上表明 GINS2 参与了肿瘤的发生、发展, 但目前 GINS2 在 NPC 细胞恶性转化中的生物学作用尚不明确。本研究应用已构建好并验证具有干扰效率的 GINS2 基因慢病毒干扰载体转染人鼻咽癌 5-8F 细胞, 观察其对 5-8F 细胞体外生长、增殖和凋亡的影响, 为进一步研究 GINS2 在鼻咽癌中的作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料、主要试剂和仪器

人鼻咽癌细胞株 5-8F (江苏省肿瘤医院保存); 胎牛血清及 RPMI1640 (Gibco), 0.25% 胰酶 (Gibco); Trizol (上海浦飞); GINS2 及 GAPDH 引物 (上海生工); RIPA 蛋白裂解液 (上海碧云天); Anti-GINS2 (Sigma), Anti-GAPDH、Anti-Rabbit IgG、Anti-Mouse IgG (Santa-Cruz); MTT (Genview); GEMS 染色液 (上海鼎国生物技术有限公司); 凋亡试剂盒 (eBioscience); 荧光显微镜 (奥林巴斯); 倒置显微镜 (上海蔡康光学仪器有限公司); PCR 仪 (TAKARA 公司); PVDF 膜 (millipore); Celigo (Nexcelom); 酶标仪 (Tecan infinite); 流式细胞仪 (Millipore)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

5-8F 细胞用 RPMI 1640 (含 5% FBS) 培养基培养, 细胞株均培养于 5% CO₂、37°C、饱和湿度的培养箱常规培养。平均 1~2d 传代, 以保持细胞对数生长。每次实验使用对数生长期的细胞。

1.2.2 慢病毒干扰载体的构建及包装

携带靶向 GINS2 基因的 shRNA 慢病毒载体 (GINS2-shRNA) 和靶向无关序列的阴性对照慢病毒载体 (GINS2-NC) 均由上海吉凯基因科技有限公司合成并包装, 并进行测序鉴定和病毒滴度的测定。干扰载体和阴性对照载体均表达绿色荧光蛋白

(green fluorescence protein, GFP)。

1.2.3 慢病毒感染 5-8F 细胞

将 5-8F 细胞分成 2 组: shCtrl 组 (阴性对照组) 和 shGINS2 组 (GINS2-shRNA 慢病毒感染组)。取对数生长期的 5-8F 细胞, 以每孔 1×10^5 细胞数接种于 6 孔板, 次日向各组细胞中分别添加相应的适量慢病毒溶液进行病毒感染, 每孔感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 为 10。24h 后换液, 72h 后荧光显微镜下观察 5-8F 细胞 GFP 的表达情况, 确定病毒的感染效率。

1.2.4 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测

按照 TotalRNA Isolation 和 qRT-PCR Procedure 使用说明书操作。收集细胞, 用 Trizol 提取总 RNA, 取 1 μ g RNA 为模板, 逆转录合成 cDNA, 用特异引物进行 qRT-PCR, 每组设 3 个平行孔。GINS2 上游引物为 5'-CAGAAATGTCGCCTGCTCC-3', 下游引物为 5'-GGATTTTCGTCTGCCTTCG-3', 扩增产物长度为 175bp; 内参照 GAPDH 上游引物为 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 下游引物为 5'-CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3', 扩增产物长度为 121bp。循环参数为: 95°C 维持 30s 后行 40 周期循环, 每周期为 95°C 维持 5s、60°C 维持 30s、95°C 维持 15s、60°C 维持 60s、95°C 维持 15s。解离曲线分析 GINS2 mRNA 表达, 以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行数据分析。以上实验重复 3 次。

1.2.5 蛋白提取及 Western blot 检测

收集细胞蛋白, BCA 法蛋白定量后行聚丙烯酰胺凝胶电泳。PVDF 膜 4°C、300mAV 恒流条件下电转 150min, 封闭液 (含 5% 脱脂牛奶的 TBST 溶液) 室温封闭 PVDF 膜 1h, 4°C 一抗孵育过夜, TBST 洗膜 8min $\times$ 4 次, 封闭液稀释二抗, 室温下二抗孵育 1.5h, TBST 洗膜 4 次, 每次 8min, 暗房显色曝光。重复 3 次。一抗 Anti-GINS2 (1:500, Sigma); 一抗 Anti-GAPDH (1:2000, Santa-Cruz); 二抗 Anti-Rabbit IgG (1:2000, Santa-Cruz); 二抗 Anti-Mouse IgG (1:2000, Santa-Cruz)。

1.2.6 Celigo 细胞计数实验

接种 1500 个细胞于 96 孔板中, 每孔加入 100 μ l 培养基, 每组设 3 个平行孔, 5% CO₂、37°C 培养箱培养。铺板第 2d 起, 每天 Celigo 检测读板 1 次, 连续检测读板 5d。对数据进行统计分析, 绘制细胞

生长曲线。重复 3 次。

1.2.7 细胞增殖实验(MTT)

接种 2000 个细胞于 96 孔板中, 每孔加入 100 μ l 培养基, 每组设 5 个平行孔, 5%CO₂、37℃ 培养箱培养 48h。检测时各孔加入 5mg/ml MTT 液 20 μ l 培养 4h, 吸走培养液后加入 100 μ l DMSO 孵育 5min, 待结晶溶解后酶联免疫检测仪检测 490nm 波长下每孔的 OD 值, 绘制细胞增殖曲线。重复 3 次。

1.2.8 平板克隆形成实验

接种 400 个细胞于 6 孔板中, 每孔加入 2ml 培养基, 每组设 3 个平行孔, 5%CO₂、37℃ 培养箱中培养 2 周。待克隆形成后, 吸走培养液, PBS 洗涤细胞 1 次。每孔加入 1ml 4%多聚甲醛, 室温固定细胞 30~60min, PBS 洗涤细胞 1 次。每孔加入 GIEMSA 染液 500 μ l, 染色 10~20min, PBS 洗涤数次, 晾干, 拍照计数。重复 3 次。

1.2.9 流式细胞术检测细胞凋亡

以 1 $\times$ 10⁵/ml 接种 6 孔板, 每孔加入 2ml 培养基, 每组设 3 个平行孔, 培养至细胞融合度达 85%, 终止培养收集细胞。1300rpm 离心 5min, 弃上清, 4℃ 预冷的 D-Hanks (pH=7.2~7.4) 洗涤细胞沉淀。1 $\times$ binding buffer 洗涤细胞沉淀 1 次, 1300rpm、3min 离心, 收集细胞。200 μ l 1 $\times$ binding buffer 重悬细胞沉淀。加入 10 μ l Annexin V-APC 染色, 室温避光 10~15min。根据细胞量, 补加 400~800 μ l 1 $\times$ binding buffer。流式细胞术检测细胞凋亡。重复 3 次。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析处理, 计量资料采用 *t* 检验, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢病毒感染 5-8F 细胞效率观察

将阴性对照病毒载体和 GINS2-shRNA 病毒载体分别感染 5-8F 细胞, 在荧光显微镜下观察 5-8F 细胞的

感染效率。结果显示, 慢病毒感染 72h 后, shCtrl 组和 shGINS2 组 5-8F 细胞中均有 GFP 表达, 细胞感染效率达 80%以上, 细胞状态正常(Figure 1)。

2.2 慢病毒感染后各组细胞 GINS2 mRNA 和蛋白的水平

为观察 GINS2-shRNA 慢病毒载体对 5-8F 细胞中 GINS2 的干扰效果, qRT-PCR 和 Western blot 分别检测 5-8F 细胞中 GINS2 mRNA 和蛋白水平。qRT-PCR 结果显示, shGINS2 组细胞中 GINS2 mRNA 表达水平明显低于 shCtrl 组 (*P*<0.001)(Figure 2A); Western blot 结果显示, shGINS2 组细胞较 shCtrl 组 GINS2 蛋白表达水平明显下调(Figure 2B); 提示成功建立了下调 GINS2 水平的稳定的鼻咽癌 5-8F 细胞株, 可用于后续实验。

2.3 GINS2 对细胞生长的影响

为评估 GINS2 对细胞生长的影响, 采用 Celigo

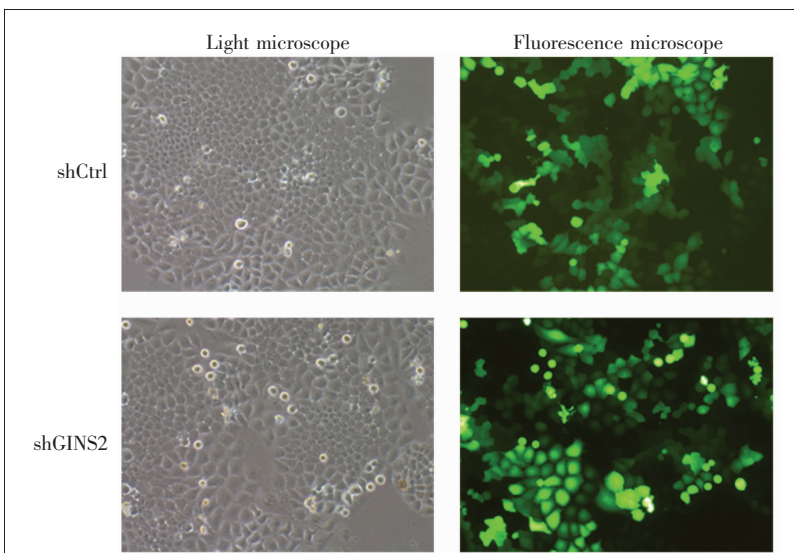


Figure 1 GINS2-shRNA lentiviral vector transfected into 5-8F cells (x100)

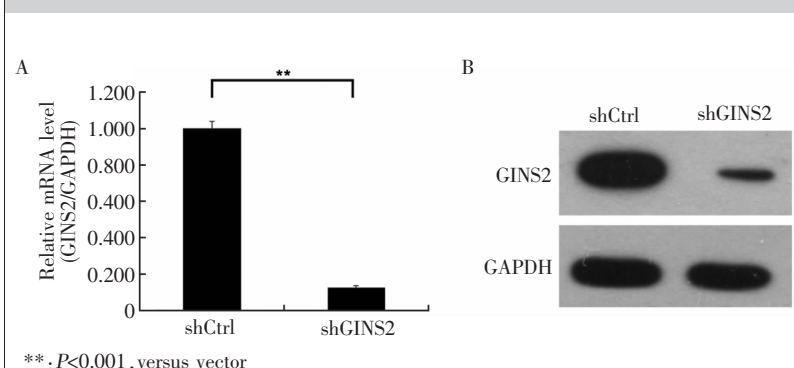


Figure 2 The effect of GINS2-shRNA transfection on the expression of GINS2 mRNA and protein in 5-8F cells

细胞计数对 shCtrl 和 shCINS2 组细胞连续计数 5d。结果显示,shGINS2 组细胞与 shCtrl 组相比生长抑制明显,差异有统计学意义(Figure 3B, $P<0.001$; Figure 3C, $P<0.05$)(Table 1)。提示下调 GINS2 表达能够抑制 5-8F 细胞生长。

2.4 CINS2 对细胞增殖的影响

为探讨 CINS2 对细胞增殖的影响,采用 MTT 法检测细胞的吸光度值,绘制增殖曲线。结果显示,与 shCtrl 组相比,shGINS2 组细胞增殖受到抑制,差异有统计学意义(Figure 4A, $P<0.001$; Figure 4B, $P<0.001$)。

Table 1 Cell number and growth rate

Time (days)	Cell count		Cell count/found	
	shCtrl	shGINS2	shCtrl	shGINS2
1	1249±119	960±24	1.00±0.00	1.00±0.00
2	2191±265	1447±40	1.75±0.04	1.51±0.05
3	3023±297	1513±38	2.42±0.02	1.58±0.04
4	3783±337	1977±70	3.03±0.06	2.06±0.02
5	4972±38	2244±21	4.00±0.36	2.34±0.08

Note: Data are shown as mean ± standard deviation

提示下调 GINS2 表达能够抑制 5-8F 细胞增殖。

2.5 CINS2 对细胞体外成瘤能力的影响

采用平板克隆形成实验检测 GINS2 对体外成

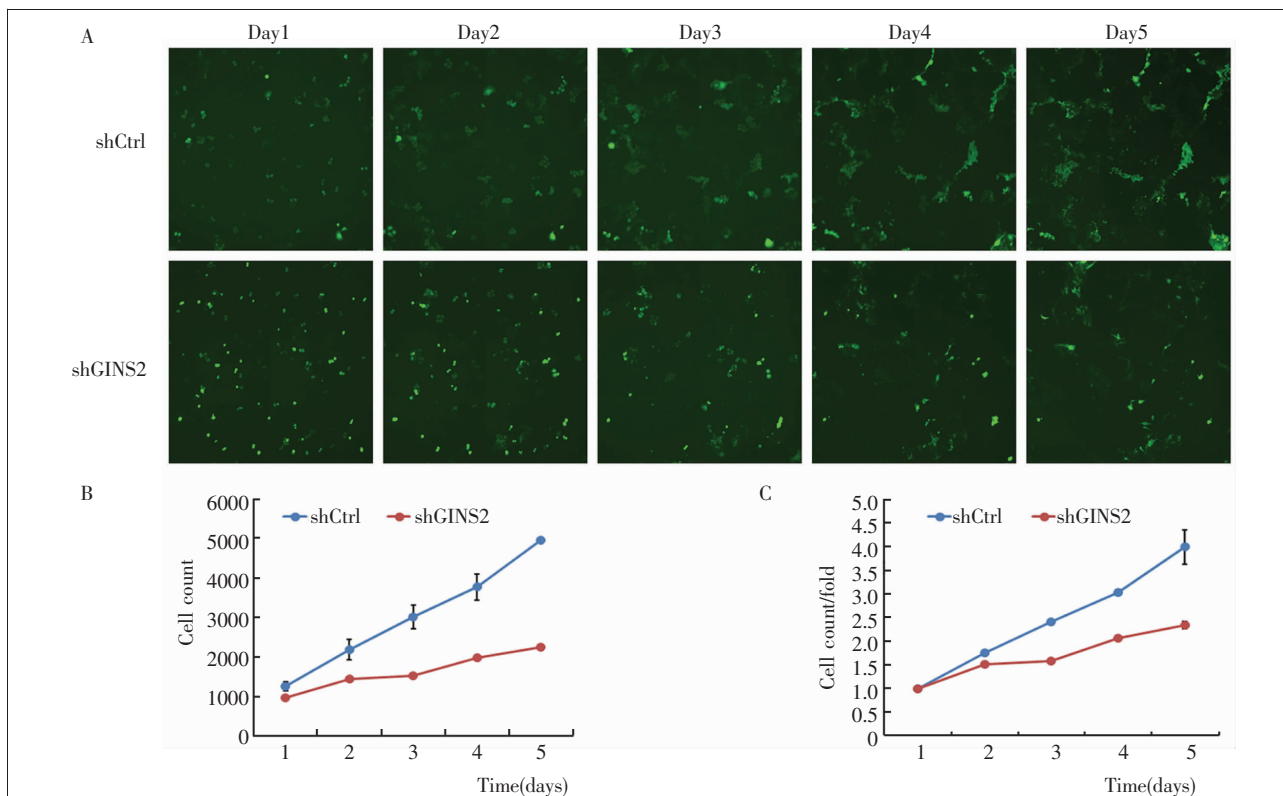


Figure 3 Knockdown of GINS2 on cell growth

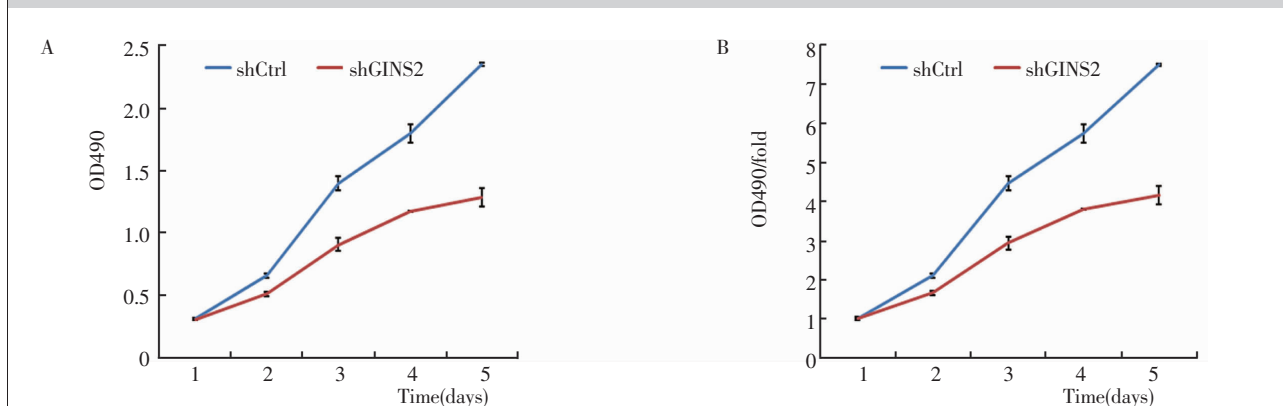


Figure 4 Knockdown of GINS2 on cell proliferation

瘤能力的影响。结果显示,shGINS2 组细胞的克隆数明显低于 shCtrl 组 (Figure 5A), 差异有统计学意义 ($P<0.001$)(Figure 5B)。提示下调 GINS2 表达能够减弱 5-8F 细胞体外成瘤能力。

2.6 GINS2 对细胞凋亡的影响

采用流式细胞仪检测 GINS2 对细胞凋亡的影响。结果显示,shGINS2 组细胞的凋亡数明显高于 shCtrl 组细胞 (Figure 6A), 差异有统计学意义 ($P<0.001$)(Figure 6B)。提示下调 GINS2 表达可以诱导 5-8F 细胞发生凋亡。

3 讨论

GINS 复合物由 Sld5、Psf1、Psf2 和 Psf3 四个亚基组成^[7,20],可介导 CDC45 和 MCM2-7 共同激活细胞内的微染色体解螺旋酶,并与 DNA 多聚酶 ϵ 和 α 相互作用,参与细胞 DNA 复制及合成的一系列调控

机制^[10]。Mohri 等^[14]研究发现 Sld5 可以促进细胞增殖及胚胎早期发育。Yamane 等^[12]研究发现 Sld5 和 Psf1 在膀胱癌中高表达;而 Sun 等^[21]研究发现对于 I 期和 II 期的结直肠癌患者,Ps3 高表达往往提示预后较差。Tane 等^[22]研究发现 Psf3 高表达的非小细胞肺癌患者总生存率较低,Ps3 可作为非小细胞肺癌预后的生物标志物。

本文研究的 GINS2(Psf2)基因,位于人染色体 16q24 上^[13,17],其 mRNA 长度为 1196bp,编码相对分子质量为 21 000 的蛋白质^[16]。研究表明,GINS2 在众多肿瘤中异常表达,参与恶性肿瘤细胞的增殖、凋亡、周期等调控。在胶质母细胞瘤中,GINS2 主要定位在神经祖细胞的基因组区域,作为扩增基因之一,其生物学功能是参与 DNA 的复制,Fischer 等^[15]通过对 GINS2 等扩增基因介导的扩增模式的深入研究,进一步了解了胶质母细胞瘤的起源。而 Ouyang 等^[16]研究发现 GINS2 在宫颈癌中高表达,下调 GINS2 的

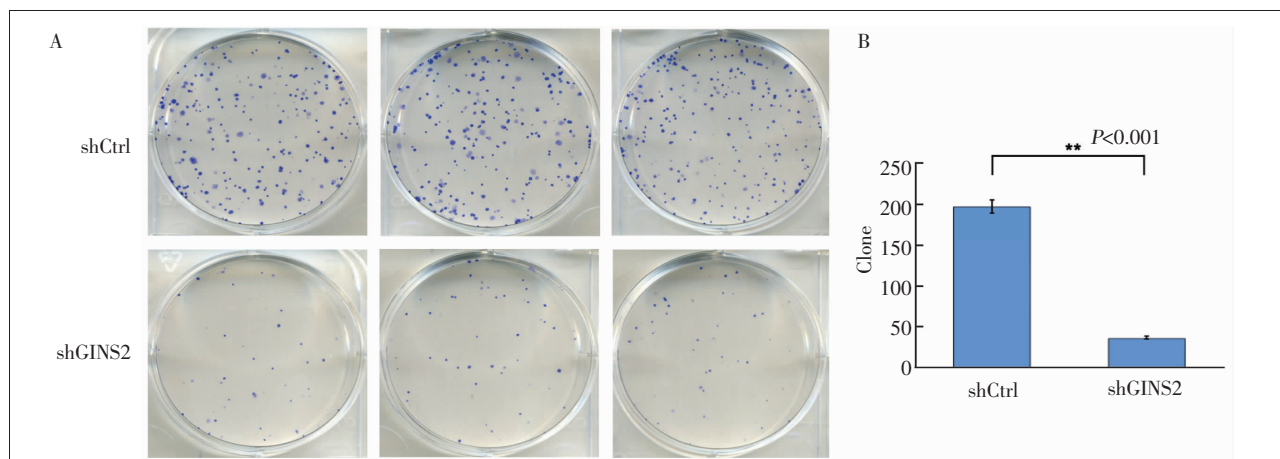


Figure 5 Knockdown of GINS2 on colony formation

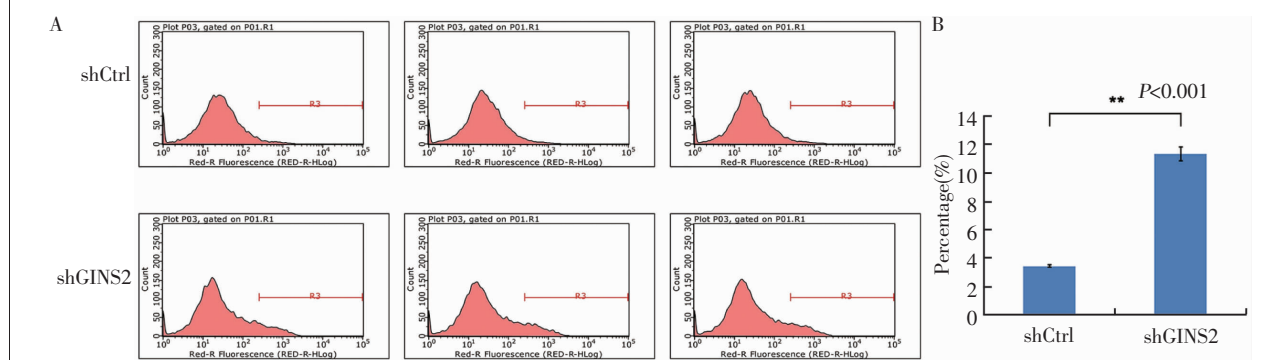


Figure 6 Knockdown of GINS2 on cell apoptosis

表达水平可抑制宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。同样, GINS2 在乳腺癌中也呈现高表达。Zheng 等^[17]研究表明, GINS2 是乳腺癌独立的预后标志物, 与乳腺癌的肺转移、组织学分期及内分泌治疗抵抗等密切相关; 而 Peng 等^[6]研究表明, GINS2 在三阴性乳腺癌细胞系中高表达, 下调 GINS2 可抑制三阴性乳腺癌细胞的生长、侵袭及干细胞样特性。Liu 等^[19]研究表明, GINS2 基因在肺腺癌 II 期、III A 期的表达量较 I 期高, 且 GINS2 高表达与肺腺癌的转移密切相关。因此, GINS2 基因在众多恶性肿瘤细胞中表达升高, 促进了肿瘤的发生和发展。

肿瘤的发生发展涉及多个基因、多个环节的调控异常, 故从分子水平阐述 NPC 的发病机制很有意义。本研究中, 为探讨 GINS2 在 NPC 中的作用机制, 首先利用 RNA 干扰技术将 GINS2-shRNA 慢病毒载体感染人鼻咽癌 5-8F 细胞, 成功构建了稳定干扰 GINS2 的 NPC 细胞株; qRT-PCR 和 Western blot 结果提示 shGINS2 组细胞中 GINS2 mRNA 和蛋白表达降低。Celigo 细胞计数实验、MTT 法及平板克隆形成实验结果提示, shGINS2 组细胞生长增殖受到显著抑制。流式细胞术发现, GINS2 基因沉默后, 细胞凋亡率明显增加。结合既往研究: Gao 等^[18]发现, GINS2 基因在白血病 K562 细胞株中沉默后, 可抑制细胞生长, 促进细胞凋亡; 而 Zhang 等^[13]发现, 在早幼粒细胞白血病 HL60 细胞株中, 沉默 GINS2 基因能够有效抑制其增殖, 促进其凋亡; 提示 GINS2 在调节肿瘤细胞的增殖凋亡过程中发挥了重要的作用。

综上所述, 本研究构建了敲低 GINS2 基因表达的鼻咽癌 5-8F 细胞株, 通过对细胞增殖及凋亡的检测, 发现下调 GINS2 可显著抑制 5-8F 细胞的生长和增殖, 并促进细胞凋亡。提示 GINS2 在鼻咽癌的发生发展中可能起促进作用, 深入地研究 GINS2 的作用机制可能为鼻咽癌的治疗提供新的策略和靶点。

参考文献:

- [1] Zhang L, Huang Y, Hong S, et al. Gemcitabine plus cisplatin versus fluorouracil plus cisplatin in recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma: a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial [J]. Lancet, 2016, 388 (10054): 1883-1892.
- [2] Zhao M, Luo R, Liu Y, et al. MiR-3188 regulates nasopharyngeal carcinoma proliferation and chemosensitivity through a FOXO1-modulated positive feedback loop with mTOR-p-PI3K/AKT-c-JUN[J]. Nat Commun, 2016, 7: 11309.
- [3] Chan KCA, Woo JKS, King A, et al. Analysis of plasma Epstein-Barr virus DNA to screen for nasopharyngeal cancer[J]. N Engl J Med, 2017, 377(6): 513-522.
- [4] Ren X, Yang X, Cheng B, et al. HOPX hypermethylation promotes metastasis via activating SNAIL transcription in nasopharyngeal carcinoma[J]. Nat Commun, 2017, 8: 14053.
- [5] Wu LR, Liu YT, Jiang N, et al. Ten-year survival outcomes for patients with nasopharyngeal carcinoma receiving intensity-modulated radiotherapy: An analysis of 614 patients from a single center[J]. Oral Oncol, 2017, 69: 26-32.
- [6] Peng L, Song Z, Chen D, et al. GINS2 regulates matrix metalloproteinase 9 expression and cancer stem cell property in human triple negative Breast cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 84: 1568-1574.
- [7] Kubota Y, Takase Y, Komori Y, et al. A novel ring-like complex of Xenopus proteins essential for the initiation of DNA replication[J]. Genes Dev, 2003, 17(9): 1141-1152.
- [8] Gong ZY, Kidoya H, Mohri T, et al. DNA damage enhanced by the attenuation of SLD5 delays cell cycle restoration in normal cells but not in cancer cells[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e110483.
- [9] Cottineau J, Kottmann MC, Lach FP, et al. Inherited GINS1 deficiency underlies growth retardation along with neutropenia and NK cell deficiency [J]. J Clin Invest, 2017, 127(5): 1991-2006.
- [10] Douglas ME, Diffley JF. Recruitment of Mcm10 to sites of replication initiation requires direct binding to the minichromosome maintenance(MCM) complex[J]. J Biol Chem, 2016, 291(11): 5879-5888.
- [11] Bailey R, Priego Moreno S, Gambus A. Termination of DNA replication forks: "Breaking up is hard to do" [J]. Nucleus, 2015, 6(3): 187-196.
- [12] Yamane K, Naito H, Wakabayashi T, et al. Regulation of SLD5 gene expression by miR-370 during acute growth of cancer cells[J]. Sci Rep, 2016, 6: 30941.
- [13] Zhang X, Zhong L, Liu BZ, et al. Effect of GINS2 on proliferation and apoptosis in leukemic cell line[J]. Int J Med Sci, 2013, 10(12): 1795-1804.
- [14] Mohri T, Ueno M, Nagahama Y, et al. Requirement of SLD5 for early embryogenesis[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e78961.
- [15] Fischer U, Kim E, Keller A, et al. Specific amplifications and copy number decreases during human neural stem cells differentiation towards astrocytes, neurons and oligodendrocytes[J]. Oncotarget, 2017, 8(16): 25872-25884.
- [16] Ouyang F, Liu J, Xia M, et al. GINS2 is a novel prognostic biomarker and promotes tumor progression in early-stage cervical cancer[J]. Oncol Rep, 2017, 37(5): 2652-2662.
- [17] Zheng M, Zhou Y, Yang X, et al. High GINS2 transcript level predicts poor prognosis and correlates with high histological grade and endocrine therapy resistance through mammary cancer stem cells in breast cancer patients[J]. Breast Cancer Res Treat, 2014, 148(2): 423-436.
- [18] Gao Y, Wang S, Liu B, et al. Roles of GINS2 in K562 human chronic myelogenous leukemia and NB4 acute promyelocytic leukemia cells[J]. Int J Mol Med, 2013, 31(6): 1402-1410.
- [19] Liu M, Pan H, Zhang F, et al. Identification of TNM stage-specific genes in lung adenocarcinoma by genome-wide expression profiling[J]. Oncol Lett, 2013, 6(3): 763-768.
- [20] Carroni M, De March M, Medagli B, et al. New insights into the GINS complex explain the controversy between existing structural models[J]. Sci Rep, 2017, 7: 40188.
- [21] Sun X, Sui W, Huang M, et al. Partner of Sld five 3: a potential prognostic biomarker for colorectal cancer[J]. Diagn Pathol, 2014, 9: 217.
- [22] Tane S, Sakai Y, Hokka D, et al. Significant role of Psf3 expression in non-small-cell lung cancer [J]. Cancer Sci, 2015, 106(11): 1625-1634.