

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00947

• 论 著 •

核糖体蛋白 S3a RNA 干扰重组慢病毒载体的构建及其对细胞凋亡的影响

李英华, 王 婧, 邱 磊, 厉建中, 胡振林, 张俊平*

第二军医大学药学院生化药学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的** 构建小鼠核糖体蛋白 S3a(RPS3a)特异性 RNA 干扰重组慢病毒载体(Lenti-shmRPS3a), 分析其对细胞凋亡的影响。**方法** 设计针对小鼠 RPS3a mRNA 的 4 条干扰序列, 合成相应的发夹序列, 连接入慢病毒载体系统 pLLU2G-eGFP 中构建重组质粒, 将重组质粒与辅助包装质粒共转染 293T 细胞组装病毒, 检测病毒滴度。病毒感染 RAW264.7 细胞后, RT-PCR 和蛋白质印迹法检测干扰效果, 流式细胞术分析其对凋亡的影响。**结果** PCR 和测序证明成功构建出 Lenti-shmRPS3a 慢病毒载体, 病毒滴度为 $(6\sim 9)\times 10^7$ TU/mL; RT-PCR 表明 Lenti-shmRPS3a 的沉默效率高达 72.64%, 蛋白质印迹法证明 RPS3a 蛋白表达水平降低; 流式细胞术证明感染了 Lenti-shmRPS3a 的细胞凋亡率较对照组升高 ($P<0.05$)。**结论** 表达小鼠 RPS3a shRNA 的慢病毒载体能有效沉默 RPS3a 基因表达, 促进细胞凋亡。

[关键词] 核糖体蛋白 S3a; RNA 干扰; 慢病毒属; 细胞凋亡

[中图分类号] R 349.83 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)09-0947-05

Construction of recombinant lentiviral vector harboring shRNA of ribosomal protein S3a and its effect on cell apoptosis

LI Ying-hua, WANG Jing, QIU Lei, LI Jian-zhong, HU Zhen-lin, ZHANG Jun-ping*

Department of Biochemical Pharmacy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To construct a recombinant lentiviral vector harboring shRNA for mouse ribosomal protein S3a (RPS3a) and to analyze its effect on cell apoptosis. **Methods** Four pairs of shRNA sequences targeting mouse RPS3a mRNA were designed, and were ligated into pLLU2G-eGFP lentiviral vector. The recombinant plasmids were co-transfected with pLV/helper plasmids into 293T cells to package the recombinant lentivirus and the titers of the virus were determined. The lentivirus was introduced into RAW264.7 cells and levels of RPS3a mRNA and protein were detected by real-time PCR and Western blotting analysis, respectively. The apoptosis of RAW264.7 cells was detected by flow cytometry assays. **Results** PCR and DNA sequencing analysis confirmed that the recombinant lentivirus was successfully constructed and the virus titer was $6\times 10^7\sim 9\times 10^7$ TU/mL. Results of real-time PCR showed that the silencing efficiency of Lenti-shmRPS3a was 72.64%, and Western blotting analysis showed that RPS3a protein expression was decreased. Flow cytometry demonstrated that lentiviral-shRPS3a significantly increased cell apoptosis compared with the control group ($P<0.05$). **Conclusion** The constructed lentiviral vector harboring shRNA of RPS3a can efficiently silence RPS3a gene expression and promote cell apoptosis.

[Key words] ribosomal protein S3a; RNA interference; lentivirus; apoptosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(9): 947-951]

核糖体蛋白除了在蛋白质合成中起重要作用外, 近年来报道有些核糖体蛋白还有独特的核糖体外功能^[1]。一般认为, 核糖体蛋白表达上调直接反映细胞内蛋白的合成增加, 但在成神经细胞瘤的研究中发现, 虽然有大量的核糖体蛋白转录水平上调, 但蛋白合成并未全面增加^[2], 提示核糖体蛋白基因的表达改变增高可能参与调节许多细胞生理活动即核糖体外功能。核糖体蛋白 S3a(ribosomal protein

S3a, RPS3a)是核糖体 40S 亚基的组成成分之一, 相对分子质量为 29 800。其主要作用是参与细胞生命活动的重要蛋白质的合成, 从而影响细胞的正常代谢^[3-5]。与正常组织相比, RPS3a 在很多恶性肿瘤组织中如结肠腺癌、髓质甲状腺癌、肝癌、颅内动脉瘤、鳞状细胞肺癌、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、猴免疫缺陷病毒(SIV)相关的淋巴瘤中表达升高^[6], 但在人前列腺癌细胞向神经内分泌细胞分化的过程中,

[收稿日期] 2015-02-10 **[接受日期]** 2015-03-24

[基金项目] 国家自然科学基金(91013014)。Supported by National Natural Science Foundation of China(91013014)。

[作者简介] 李英华, 助理实验师。E-mail: liyhua1234@126.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81871328, E-mail: jpzhang08@hotmail.com

RPS3a mRNA 的水平降低^[7]。Kho 等^[8]研究发现,人正常龟头细胞系在血清刺激后,RPS3a mRNA 表达上升,且在细胞周期 S 期表达最高。此外,RPS3a 还能与转录因子 CHOP、Bcl-2、EB 病毒编码的 EBNA-5 等相互作用调控红细胞生成^[9]、调节 p53 通路^[10]和抑制多聚(ADP-核糖)聚合酶活性^[11-12]。RPS3a 作为乙肝病毒 X 蛋白(HBX)的陪伴蛋白,可以通过调控 HBX 活化的 NF- κ B 信号通路,诱发肿瘤^[13]。在对全身血管炎基因表达网络的生物学信息分析中有研究发现,RPSL31、RPS3a、RPL9 等核糖体蛋白在全身血管炎的病理组织中高表达^[14],且 RPS3a 与神经退行性疾病相关蛋白 α -syn 的功能息息相关^[15]。我们近期文献综述了 RPS3a 调控细胞增殖、生长周期、分化调控、凋亡和耐药性等生物学过程^[16]。RNA 干扰技术可在转录水平上沉默基因表达,被广泛应用于基因功能的研究。本实验构建小鼠 RPS3a 特异性 RNA 干扰重组慢病毒载体(Lenti-shmRPS3a),并分析其基因沉默效率及对细胞凋亡的影响,为进一步研究 RPS3a 的核糖体外新功能提供工具。

1 材料和方法

1.1 材料及主要试剂 克隆载体 pLLU2G 和辅助质粒 pLV/helper-SL3、pLV/helper-SL4、pLV/helper-SL5 购自赛业生物科技有限公司。293T 细胞和 RAW264.7 细胞为本实验室保存。限制性内切酶 *Hpa* I 和 *Xho* I、T4 连接酶、Stb13 感受态菌购自 TaKaRa 公司。质粒抽提试剂盒购自天根生化科技有限公司。Fugen 6 转染试剂购自 Promega 公司。兔抗小鼠 RPS3a 抗体购自 Abnova 公司。GAPDH 抗体和荧光二抗购自 Santa Cruz 公司。Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。

1.2 靶向 RPS3a 基因的寡核苷酸设计 根据小鼠 RPS3a 的 mRNA 序列,利用在线设计软件 Invitrogen “Block-iT RNAi Designer”挑选 4 条包含 21 个碱基的与 RPS3a 同源的特异性核苷酸序列,序列如下:(1) CGT GTG TTT GAA GTG AGC CTT;(2) CAG ATA AGA AAG ACA TCC TAT;(3) GCT AAG AAG AAA GTG GTC GAT;(4) GCA TTG GGA AAG ACA TAG AAA。经 BLAST 表明所挑选的 4 条目的序列均不与其他任何基因同源。同时设计一段阴性对照随机序列 NC: GCG CGC TTT GTA GGA TTC。再根据以上 5 段序列分别设计合成 4 对 RPS3a 特异性发夹 RNA (shRNA)序列,每对包含一条正义链和一条反义

链,中间以一个 loop 序列 5'-CTCGAG-3'相连,后面接有 RNA 聚合酶 III 转录终止位点,同时模板链两端分别添加 *Hpa* I 和 *Xho* I 酶切位点,合成相应的寡核苷酸链,4 组寡核苷酸序列的正反义链(下划直线标记的是靶基因序列及反义序列)分别是 RPS3a-1F: 5'-TCG 子 TGT GTT TGA AGT GAG CCT TCT CGA GAA GGC TCA CTT CAA ACA CAC GTT TTT C-3', RPS3a-1R: 5'-TCG AGA AAA ACG TGT GTT TGA AGT GAG CCT TCT CGA GAA GGC TCA CTT CAA ACA CAC GA-3'; RPS3a-2F: 5'-TCA GAT AAG AAA GAC ATC CTA TCT CGA GAT AGG ATG TCT TTC TTA TCT GTT TTT C-3', RPS3a-2R: 5'-TCG AGA AAA ACA GAT AAG AAA GAC ATC CTA TCT CGA GAT AGG ATG TCT TTC TTA TCT GA-3'; RPS3a-3F: 5'-TGC TAA GAA GAA AGT GGT CGA TCT CGA GAT CGA CCA CTT TCT TCT TAG CTT TTT C-3', RPS3a-3R: 5'-TCG AGA AAA AGC TAA GAA GAA AGT GGT CGA TCT CGA GAT CGA CCA CTT TCT TCT TAG CA-3'; RPS3a-4F: 5'-TGC ATT GGG AAA GAC ATA GAA ACT CGA GTT TCT ATG TCT TTC CCA ATG CTT TTT C-3', RPS3a-4R: 5'-TCG AGA AAA AGC ATT GGG AAA GAC ATA GAA ACT CGA GTT TCT ATG TCT TTC CCA ATG CA-3'。对照组寡核苷酸序列 NC-1F: 5'-TGC GCG CTT TGT AGG ATT CCT CGA GCG CGC GAA ACA TCC TAA GTT TTT C-3', NC-1R: 5'-TCG AGA AAA AGC GCG CTT TGT AGG ATT CCT CGA GCG CGC GAA ACA TCC TAA GA-3'。

1.3 pLLU2G-shmRPS3a 重组慢病毒载体的构建与鉴定 将合成的寡核苷酸正义链与反义链在退火缓冲液中进行连接,反应体系如下:50 μ mol/L 的正义链 oligo 20 μ L,50 μ mol/L 反义链 oligo 20 μ L, ddH₂O 40 μ L,5 \times 通用缓冲液 20 μ L,共 100 μ L 反应体系,混匀后按如下程序设置 PCR 仪进行退火反应:95 $^{\circ}$ C 2 min;每 8 s 下降 0.1 $^{\circ}$ C,降至 25 $^{\circ}$ C 约 90 min;4 $^{\circ}$ C 保存。在 37 $^{\circ}$ C 条件下用内切酶 *Hpa* I 和 *Xho* I 酶切 pLLU2G 载体以使其线性化,将酶切回收的线性载体 pLLU2G 与退火后的双链 DNA 连接,连接反应条件如下:pLLU2G 酶切回收产物(200~300 ng) 8 μ L;退火的 oligo DNA (1/10 dilute) 1 μ L;10 \times T4 DNA 连接酶缓冲液 2.5 μ L;T4 DNA 连接酶 1 μ L;补 H₂O 至总体积为 25 μ L,4 $^{\circ}$ C 连接过夜。连接产物转化至 Stb13 感受态菌中,

经氨苄青霉素平板筛选,挑选阳性克隆抽提质粒,使用载体酶切位点两端的引物进行 PCR 扩增出目的片段验证阳性菌落,同时测序。PCR 引物序列: pLLU2G-F 为 AGG CTT AAT GTG CGA TAA AAG AC, pLLU2G-R 为 GAG CTT ATC GAT ACC GTC GAC。

1.4 pLLU2G-shmRPS3a 慢病毒的包装和病毒滴度的测定 分别将重组质粒 pLLU2G-shmRPS3a-1~4 及辅助包装质粒 pLV/helper-SL3、pLV/helper-SL4、pLV/helper-SL5 共转染 293T 细胞,培养 48 h 后荧光显微镜下观察转染效果,并收集含有病毒的培养上清。将收集的上清离心后,用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤器过滤,高速离心 90 min 沉淀病毒颗粒,用适量培养液重悬病毒沉淀,置 -80°C 保存。

接种 293T 细胞到 6 孔板中,使细胞汇合度达到 30%~50%,培养过夜。分别用完全培养基按 10 倍梯度稀释病毒液,稀释倍数从 10^{-3} 到 10^{-7} 。去除 293T 细胞的上清液,加入稀释后的病毒样品,加入 $6 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的聚凝胺,轻轻吹打均匀,同时设置不加病毒的细胞做空白对照。感染 24 h 后弃去含病毒的培养液,加入 2 mL 新鲜的完全培养液,继续培养至 72 h 后,荧光细胞计数,按公式计算病毒滴度。病毒滴度=接种细胞数×稀释度×荧光细胞百分比。

1.5 Real-time PCR 与蛋白质印迹法检测 RPS3a 的表达 Lenti-shmRPS3a 慢病毒感染 RAW264.7 细胞,48 h 后收获细胞,抽提总 RNA,以 shRNA-control 组为对照,RT-PCR 检测 RPS3a 的 mRNA 表达水平,按照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析处理数据。引物序列如下。RPS3a-Forward: ACC GAT GGG TAT

TTG CTC CGA CTT, RPS3a-Reverse: TGG CGG ACT TGC TGG TGC TG; GAPDH-Forward: TCG TCC GGT AGA CAA AAT GG, GAPDH-Reverse: GAG GTC AAT GAA GGG GTC GT。

Lenti-shmRPS3a 慢病毒感染 RAW264.7 细胞,48 h 后提取总蛋白,BCA 法定量后调整上样量,每组均取 $8 \mu\text{g}$ 蛋白加入 $5 \times \text{SDS-PAGE}$ Loading Buffer 上样,蛋白经 SDS-PAGE 分离后转移至硝酸纤维素膜上,检测 RPS3a 和 Actin 的特异性抗体免疫印迹。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡 将 RAW264.7 细胞以每孔 3 万个细胞接种至 12 孔板,待细胞贴壁后加入稀释后的病毒,培养 48 h 后用不含 EDTA 的胰酶消化收集细胞,离心后弃上清,含 1% 牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液洗涤细胞,再次离心后的细胞沉淀用 Binding buffer 重悬,避光加入 $2.5 \mu\text{L}$ Annexin V-FITC,室温避光反应 15 min; 上机前加入 $2.5 \mu\text{L}$ 碘化丙啶,吹打均匀后流式细胞仪检测。

1.7 统计学处理 3 次独立实验的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用 t 检验,检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 重组慢病毒质粒鉴定 以氨苄青霉素平板上阳性克隆抽提的质粒做模板,用载体酶切位点两端的引物进行 PCR 扩增。图 1 可见,因插入目的片段的影响,PCR 扩增重组载体得到的片段大于空载体,初步证实 RPS3a-shRNA 正确插入载体 pLLU2G 中。测序的结果经 BLAST 序列比对证明目的基因插入到载体中,4 种重组质粒均构建成功。

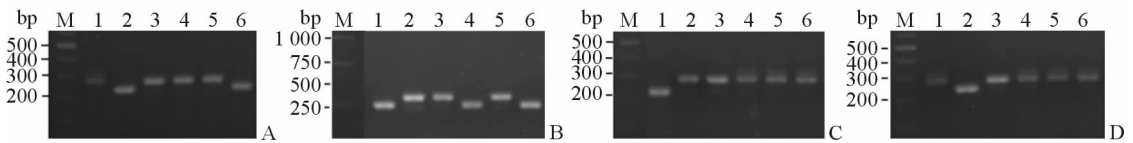


图 1 pLLU2G-shmRPS3a 阳性重组克隆的酶切鉴定

Fig 1 Restriction endonuclease digestion analysis of the recombinant plasmid pLLU2G-shmRPS3a

A: pLLU2G-shmRPS3a-1; B: pLLU2G-shmRPS3a-2; C: pLLU2G-shmRPS3a-3; D: pLLU2G-shmRPS3a-4. M: Marker; 1: Positive control; 2: Negative control; 3-6: pLLU2G-shmRPS3a

2.2 滴度测定 pLLU2G-shmRPS3a 重组质粒和辅助包装质粒共转染 293T 细胞 48 h 后,可见胞质细胞核有不同程度的绿色荧光蛋白(GFP)表达,见图 2。

慢病毒感染细胞 72 h 后,荧光细胞数随病毒稀释倍数的增加而减少。计算出 Lenti-shmRPS3a-1、Lenti-shmRPS3a-2、Lenti-shmRPS3a-3、Lenti-shmRPS3a-4 的滴度分别为 6.6×10^7 、 7.8×10^7 、

6.0×10^7 、 8.4×10^7 TU/mL。对照病毒 Lenti-shNC 的滴度为 7.0×10^7 TU/mL。

2.3 干扰效果测定 Lenti-shmRPS3a 慢病毒感染 RAW264.7 细胞 48 h 后荧光显微镜下观察,发现 5 组病毒均能有效感染细胞,且转导率均大于 70%。Real-time PCR 检测细胞内 RPS3a 的 mRNA 表达水平,结果显示,Lenti-shmRPS3a-1、Lenti-shmRPS3a-2、Lenti-shmRPS3a-4 的沉默效率分别

为(72.64 ± 8.09)%、(63.4 ± 6.56)%、(60.22 ± 4.22)%，与对照病毒 Lenti-shNC 相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这说明，与对照组相比，本研究中构建的 RPS3a 的干扰慢病毒沉默效率增加。

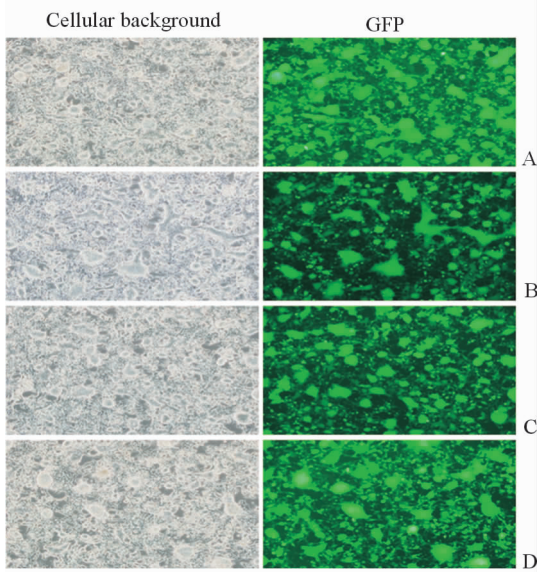


图2 pLLU2G-shmRPS3a 转染 293T 细胞 48 h 后绿色荧光蛋白的表达

Fig 2 Expression of GFP in 293 cells transfected with pLLU2G-shmRPS3a for 48 h

A-D: pLLU2G-shmRPS3a-1-4. Original magnification: ×100

蛋白质印迹检测结果(图3)显示,RAW264.7 细胞感染对照病毒 shNC 后,RPS3a 蛋白水平没有明显变化,而细胞感染针对目的基因 RPS3a 的干扰慢病毒后,RPS3a 蛋白水平减少,灰度扫描的结果显示,与对照组相比,Lenti-shmRPS3a-1、Lenti-shmRPS3a-2、Lenti-shmRPS3a-4 作用 RAW264.7 细胞后,RPS3a 的表达水平分别为(64.59 ± 7.55)%、(54.99 ± 6.24)%、(44.16 ± 3.52)%。

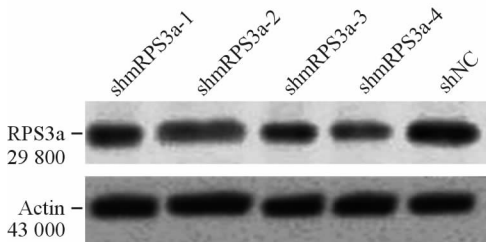


图3 RNA 干扰慢病毒对 RPS3a 蛋白水平的影响

Fig 3 Down-regulated expression of RPS3a protein in

RAW264.7 cells transfected with the recombinant lentiviral vectors RAW264.7 cells were transfected with lentiviral-shNC or Lenti-shmRPS3a for 48 h, and RPS3a protein expression was detected by Western blotting analysis

综合 real-time PCR 和蛋白质印迹法的检测结果,shmRPS3a-2 干扰效果最好,故在后续研究中主要采用该序列进行 RPS3a 的 RNA 干扰。

2.4 RPS3a 下调对 RAW264.7 细胞凋亡的影响

流式细胞仪分析的结果显示,RAW264.7 细胞感染对照病毒 shNC 后,细胞几乎不凋亡,而感染了针对目的基因 RPS3a 的干扰慢病毒后的细胞凋亡率增加 2 倍($P < 0.05$,图 4A~4C)。蛋白质印迹检测结果(图 4D)显示,感染了 shNC 慢病毒的细胞与未处理的细胞(对照组)RPS3a 蛋白表达无明显差异,而感染 shmRPS3a-2 慢病毒的细胞内 RPS3a 的表达较对照组减少;灰度扫描结果显示,与对照组相比,Lenti-shmRPS3a-2 作用后的细胞中 RPS3a 的表达水平为(40.38 ± 4.12)%。

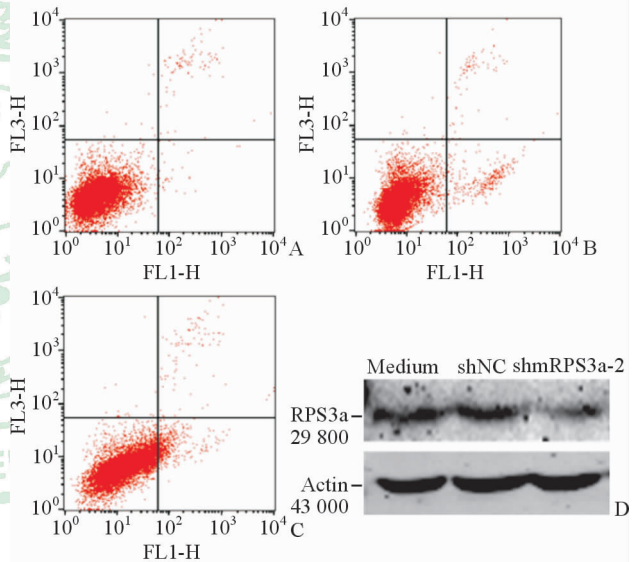


图4 流式细胞术(A~C)和蛋白质印迹法(D) 检测 shmRPS3a 对 RAW264.7 细胞凋亡的影响

Fig 4 Effect of shmRPS3a on RAW264.7 cell apoptosis as shown by flow cytometry (A-C) and Western blotting analysis (D)

A: Non-treatment control; B: Lenti-shNC treatment; C: Lenti-shmRPS3a-2 treatment; D: RPS3a expression levels after RAW264.7 cells were transfected with Lenti-shNC or Lenti-shmRPS3a for 48 h

3 讨论

核糖体蛋白 RPS3a 已被证明是一个多功能蛋白,参与了蛋白质合成、细胞增殖、生长周期、分化、凋亡和耐药性等许多生物过程。RNAi 是近年来功能基因组学和疾病基因组学研究的热点,在本实验中我们拟利用基因干扰的方法进一步研究 RPS3a 的生物学功能。慢病毒载体是由人类免疫缺陷病毒

HIV 改造而来,具有可感染非分裂细胞、免疫反应小、目的基因整合至靶细胞基因组长期表达等优点。本实验采用慢病毒载体 pLLU2G-EGFP 介导 RPS3a 的 RNAi,靶基因 RPS3a 的干扰效果明显、持久,且病毒本身对细胞生长没有明显的作用,说明本研究构建的 Lenti-shmRPS3a 慢病毒载体是有效的、副作用少的载体,可用于后续 RPS3a 的功能研究。

RPS3a 与细胞凋亡的关系目前尚不完全清楚。Naora 等^[3]报道小鼠给予地塞米松,小鼠胸腺细胞大量凋亡伴随 RPS3a 表达水平增加;该作者还报道,肿瘤细胞中 RPS3a 的表达量高于正常细胞,利用反义核酸技术抑制肿瘤细胞 RPS3a 表达则诱导肿瘤细胞凋亡^[17]。此外,也有报道在全反式维甲酸处理的慢性髓性白血病细胞中,RPS3a 与 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (bcl-2)相互作用,肿瘤细胞高表达 RPS3a 促进细胞生长,而且增加肿瘤细胞对化疗药物阿糖胞苷和多柔比星的敏感性;而细胞转染 RPS3a 反义核酸则具有相反的作用^[11]。本研究应用 shmRPS3a-2 慢病毒感染 RAW264.7 细胞,流式细胞术分析显示这些细胞凋亡率较对照组增加,表明 RPS3a 表达减少可促进细胞凋亡。

[参考文献]

[1] Lindström M S. Emerging functions of ribosomal proteins in gene-specific transcription and translation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379: 167-170.

[2] Angelastro J M, Töröcsik B, Greene L A. Nerve growth factor selectively regulates expression of transcripts encoding ribosomal proteins [J]. *BMC Neurosci*, 2002, 3: 3.

[3] Naora H, Nishida T, Shindo Y, Adachi M, Naora H. Association of *nbl* gene expression and glucocorticoid-induced apoptosis in mouse thymus *in vivo* [J]. *Immunology*, 1995, 85: 63-68.

[4] Malygin A A, Shatsky I N, Karpova G G. Proteins of the human 40S ribosomal subunit involved in hepatitis C IRES binding as revealed from fluorescent labeling [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2013, 78: 53-59.

[5] Yan Q, Cui X, Su L, Xu N, Guo N, Xing H, et al. GmSGT1 is differently required for soybean Rps genes-mediated and basal resistance to *Phytophthora sojae* [J]. *Plant Cell Rep*, 2014, 33: 1275-1288.

[6] Tarantul V Z, Nikolaev A I, Martynenko A, Hannig H, Hunsmann G, Bodemer W. Differential gene expression in B-cell non-Hodgkin's lymphoma of SIV-

infected monkey [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2000, 16: 173-179.

[7] Goodin J L, Rutherford C L. Characterization of human ribosomal S3a gene expression during adenosine 3',5' cyclic monophosphate induced neuroendocrine differentiation of LNCaP cells. Regulation of S3a gene expression in LNCaP [J]. *Mol Biol Rep*, 2002, 29: 301-316.

[8] Kho C J, Wang Y, Zarbl H. Effect of decreased fte-1 gene expression on protein synthesis, cell growth, and transformation [J]. *Cell Growth Differ*, 1996, 7: 1157-1166.

[9] Cui K, Coutts M, Stahl J, Sytkowski A J. Novel interaction between the transcription factor CHOP (GADD153) and the ribosomal protein FTE/S3a modulates erythropoiesis [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 7591-7596.

[10] Kashuba E, Yurchenko M, Szirak K, Stahl J, Klein G, Szekely L. Epstein-Barr virus-encoded EBNA-5 binds to Epstein-Barr virus-induced Fte1/S3a protein [J]. *Exp Cell Res*, 2005, 303: 47-55.

[11] Hu Z B, Minden M D, McCulloch E A, Stahl J. Regulation of drug sensitivity by ribosomal protein S3a [J]. *Blood*, 2000, 95: 1047-1055.

[12] Song D, Sakamoto S, Taniguchi T. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase activity by Bcl-2 in association with the ribosomal protein S3a [J]. *Biochemistry*, 2002, 41: 929-934.

[13] Lim K H, Kim K H, Choi S I, Park E S, Park S H, Ryu K, et al. RPS3a over-expressed in HBV-associated hepatocellular carcinoma enhances the HBx-induced NF-kappaB signaling via its novel chaperoning function [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e22258.

[14] Gan S J, Ye B, Qian S X, Zhang C, Mao J Q, Li K, et al. Immune- and ribosome-related genes were associated with systemic vasculitis [J]. *Scand J Immunol*, 2015, 81: 96-101.

[15] De Graeve S, Marinelli S, Stolz F, Hendrix J, Vandamme J, Engelborghs Y, et al. Mammalian ribosomal and chaperone protein RPS3A counteracts alpha-synuclein aggregation and toxicity in a yeast model system [J]. *Biochem J*, 2013, 455: 295-306.

[16] 李英华,胡振林,张俊平. 核糖体蛋白 S3a 在肿瘤细胞增殖分化和凋亡调控作用的研究概况 [J]. *药学实践杂志*, 2012, 30: 165-167, 225.

[17] Naora H, Nishida T, Shindo Y, Adachi M, Naora H. Antisense sequences of the *nbl* gene induce apoptosis in the human promyelocytic leukemia cell line HL-60 [J]. *Leukemia*, 1998, 12: 532-541.