

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.14.006  
文章编号: 1005-8982 (2023) 14-0033-06

实验研究·论著

## 结直肠癌细胞 $\beta$ -catenin蛋白脱酰胺化修饰的实验研究\*

向源楚<sup>1</sup>, 廖雨洁<sup>2</sup>, 陈杰<sup>1</sup>, 沈绎伦<sup>2</sup>, 李虎<sup>1</sup>, 彭健<sup>1</sup>

(1.中南大学湘雅医院 老年医学老年外科, 湖南 长沙 410008; 2.中南大学  
生命科学学院, 湖南 长沙 410013)

**摘要: 目的** 鉴定结直肠癌细胞 $\beta$ -catenin的脱酰胺化修饰及其相关脱酰胺化酶。**方法** 采用二维电泳结合脱酰胺化抑制剂6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸(DON)方法鉴定内源性 $\beta$ -catenin蛋白脱酰胺修饰的存在。通过 $\beta$ -catenin蛋白的纯化与质谱分析筛选出 $\beta$ -catenin蛋白候选可能的脱酰胺化酶。利用免疫共沉淀实验检测候选脱酰胺化酶与 $\beta$ -catenin蛋白的相互作用。**结果** 二维电泳在结直肠癌细胞系HCT116中鉴定出 $\beta$ -catenin蛋白可以发生脱酰胺化修饰。成功构建pEE14.4- $\beta$ -catenin质粒表达载体, 并且在细胞中成功验证其表达; 利用蛋白纯化结合质谱分析鉴定出 $\beta$ -catenin蛋白的候选脱酰胺化酶——谷氨酰胺酶复合酶(CAD); Western blotting再次验证CAD能够与内源性 $\beta$ -catenin蛋白发生相互作用。**结论** 结直肠癌细胞 $\beta$ -catenin蛋白能够发生脱酰胺化修饰, CAD蛋白可能为介导 $\beta$ -catenin蛋白脱酰胺化修饰的相关酶。

**关键词:** 结直肠癌;  $\beta$ -catenin; 脱酰胺化; 谷氨酰胺酶复合酶

**中图分类号:** R735.3

**文献标识码:** A

## Identification of deamidation modification of $\beta$ -catenin in colorectal cancer cell lines\*

Xiang Yuan-chu<sup>1</sup>, Liao Yu-jie<sup>2</sup>, Chen Jie<sup>1</sup>, Shen Yi-Lun<sup>2</sup>, Li Hu<sup>1</sup>, Peng Jian<sup>1</sup>

(1. Department of Geriatric Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China; 2. School of Life Sciences, Central South University, Changsha, Hunan 410013, China)

**Abstract: Objective** To identify the deamidation modification of  $\beta$ -catenin and related deamidases in colorectal cancer cell lines. **Methods** The two-dimensional electrophoresis combined with the deamidation inhibitor 6-Diazo-5-oxo-L-norleucine (DON) was applied to determine the presence of deamidation modification of endogenous  $\beta$ -catenin. The candidate deamidases were screened out by  $\beta$ -catenin purification and mass spectrometry analysis. The interaction between the candidate deamidases and  $\beta$ -catenin was detected by co-immunoprecipitation (co-IP). **Results** Two-dimensional electrophoresis verified that  $\beta$ -catenin protein exhibited deamidation modification in colorectal cancer cell lines HCT116. The pEE14.4- $\beta$ -catenin plasmid was constructed and expressed in cells successfully. Protein purification combined with mass spectrometry analysis found that CAD was a candidate deamidase, and co-IP further confirmed the interaction between CAD and endogenous  $\beta$ -catenin. **Conclusions**  $\beta$ -catenin could be modified via deamidation in colorectal cancer cell lines, where CAD represents possibly the key deamidase responsible for this modification.

**Keywords:** colorectal cancer;  $\beta$ -catenin; deamidation; CAD

收稿日期: 2023-05-26

\* 基金项目: 湖南省自然科学基金(No:2023JJ30869); 长沙市科技计划项目(No:kq2014227)

[通信作者] 彭健, E-mail: 970266784@qq.com; Tel: 13607441906

结直肠癌是临床最常见的恶性肿瘤之一,根据 2020 年 GLOBOCAN<sup>[1]</sup>公布的全球癌症现状分析,结直肠癌发病率在所有的恶性肿瘤疾病中位列第 3 位(10.0%),病死率居第 2 位(9.4%)。由于结直肠癌的发生、发展机制尚不十分清楚,临床上尤其缺乏特异性强、疗效显著的靶向治疗药物<sup>[2]</sup>。因此,进一步探究结直肠癌发生、发展相关分子机制,为结直肠癌提供新的治疗靶点或生物标志物尤为重要。

超过 80% 结直肠癌与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路异常激活有关<sup>[3-4]</sup>。而作为 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路关键蛋白分子的  $\beta$ -catenin 往往受到磷酸化、泛素化、糖基化、乙酰化、甲基化等多种蛋白质翻译后修饰的调控<sup>[5-6]</sup>。由此可见,蛋白翻译后修饰对人体生理功能有着不可忽视的作用。

谷氨酰胺酶复合酶(carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamylase and dihydroorotase, CAD)是一个具有多种功能的催化三联体,由氨甲酰磷酸合成酶 2 亚基、天冬氨酸氨基转移酶亚基及二氢乳糖酶亚基共同组成。CAD 具有谷氨酰胺转移酶结构域,能催化蛋白质发生脱酰胺化,因此 CAD 可作为一种脱酰胺化酶。基于此,笔者试图探讨结直肠癌细胞中 CAD 与 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的关系,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

结直肠癌细胞系 HCT116 由中南大学生命科学学院夏赞贤教授实验室馈赠。DMEM 培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、胰蛋白酶消化液(美国 Gibco 公司),青链霉素混合液(美国 Hyclone 公司),CAD 抗体(型号:16617-1-AP,武汉三鹰生物技术有限公司), $\beta$ -catenin 抗体(型号:ab223075,英国 Abcam 公司),Tubulin 抗体(型号:3873,美国 Cell Signaling Technology 公司),增强型化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂盒(型号:42029053,美国 Millipore 公司),HRP 兔抗 IgG 抗体(型号:A0216,上海碧云天生物技术有限公司),HRP 鼠抗 IgG 抗体(型号:A0208,上海碧云天生物技术有限公司),免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, co-IP)试剂盒(型号:26149,美国 Pierce 公司),PEI 转染试剂盒(型号:P3143,美国 Sigma 公司),TRIZol

试剂盒(型号:R401-01,南京诺唯赞生物科技股份有限公司),逆转录试剂盒及荧光定量 RT-PCR 试剂盒(苏州莫纳生物科技有限公司)。

### 1.2 细胞培养与转染

结直肠癌细胞系 HCT116 置于含 10% FBS 的 DMEM 培养基中,在 37 °C、5% 二氧化碳 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱。参照 PEI 转染试剂盒说明书将结直肠癌细胞系转染 pEE14.4-Flag-CAD,24 h 后收集转染细胞检测 CAD 的表达确认转染效果并进行下一步实验。

### 1.3 方法

**1.3.1 真核纯化** 将转染 Flag- $\beta$ -catenin 质粒的结直肠癌细胞系 HCT116 命名为 Flag- $\beta$ -catenin 组,未转染的命名为 Vector 组。将 Flag- $\beta$ -catenin 组(10 cm dish 共 60 盘,转染后 36~48 h 收样)用 1 × PBS 吹打,收集进离心管中,4 °C、3 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,取细胞加入 1% NP-40+1% cocktail 的 1 × lysis buffer 裂解,旋转摇床上旋转 45 min。裂解结束后,4 °C、12 000 r/min 离心 20 min,取上清液 10  $\mu$ L 作为全细胞裂解液,将其余上清液收集到新的 EP 管中,各加入 2~3  $\mu$ L Flag beads,4 °C 条件下旋转摇床过夜。将装有细胞裂解液的 EP 管取出,4 °C、12 000 r/min 离心 20 min,取 10  $\mu$ L 上清液作为 Flow through,丢弃剩余上清液。将所有离心的 Flag beads 收集到同一个 EP 管中,1 mL 1 × Lysis buffer 清洗 Flag beads 3 次,15 min/次,4 °C、3 000 r/min 离心 5 min 收集 Beads,吸取 Lysis buffer,加入 Flag beads 三倍体积的 Tris-HCl(pH 3.0)洗脱目的蛋白,洗脱 3 次,10 min/次,蛋白洗脱液用 Tris-HCl(pH 9.0)中和。回收蛋白洗脱液即为蛋白样本,-80 °C 条件下将收集的蛋白化样本送往上海中科新生命公司进行质谱分析。

**1.3.2 Western blotting 检测  $\beta$ -catenin 蛋白** 转染 48 h 后收集细胞样本,提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,SDS-PAGE 电泳,转膜封闭后,4 °C 条件下孵育一抗过夜,加入二抗后用 ECL 发光液发光显影拍照。 $\beta$ -actin 为内参,结果通过 IMAGE J 软件进行灰度分析,将目的条带值与内参值的比值作为目的蛋白相对表达量。

**1.3.3 co-IP 实验** 按照 co-IP 试剂盒说明书收集样本蛋白。将带有 Flag 标签的琼脂糖 Beads 加入细胞裂解物,4 °C 孵育过夜,2 000 r/min 离心 3 min,弃

上清液, PBS 冲洗 3 次, 加洗脱液冲洗 2 次, 获得抗体复合物, 加上样缓冲液, SDS-PAGE 电泳, 转膜封闭后进行 Western blotting。

**1.3.4 二维电泳实验** 在 6 孔板中培养结直肠癌细胞系 HCT116, 使用脱酰胺化抑制剂 6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸 (6-diazo-5-oxo-L-norleucine, Don) 处理部分细胞, 同时不加抑制剂的细胞用 PBS 冲洗后孵育  $\geq 8$  h, 收集细胞样品。利用 Rehydration Buffer 裂解细胞样品制备成二维电泳样品。将加入 Don 的细胞作为处理组, 而不加 Don 的细胞作为对照组。

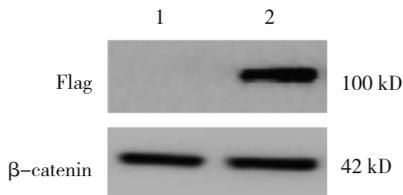
**1.4 统计学方法**

数据分析采用 SPSS 11.5 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用  $t$  检验或方差分析, 进一步两两比较用 LSD- $t$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 外源性  $\beta$ -catenin 蛋白的亲凝胶纯化**

Flag- $\beta$ -catenin 组、Vector 组 Flag 蛋白相对表达量分别为  $(0.621 \pm 0.007)$ 、 $(2.401 \pm 0.006)$ , 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $t=81.660, P=0.000$ ); Flag- $\beta$ -catenin 组 Flag 蛋白相对表达量高于 Vector 组。见图 1。

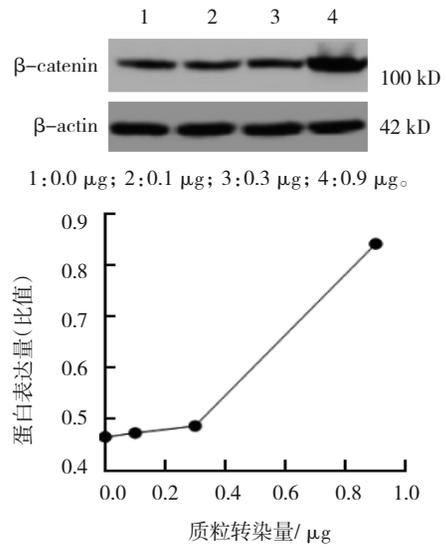


1: Vector 组; 2: Flag- $\beta$ -catenin 组。

**图 1 Flag- $\beta$ -catenin 在结直肠癌细胞系 HCT116 中的表达**

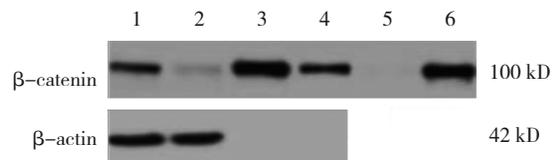
为验证质粒的表达, 将 pEE14.4-Flag- $\beta$ -catenin 分别按 0.0、0.1、0.3 和 0.9  $\mu$ g 梯度转染结直肠癌细胞系 HCT116, 并收取细胞进行 Western blotting。0.0、0.1、0.3 和 0.9  $\mu$ g 质粒转染量的  $\beta$ -catenin 蛋白相对表达量分别为  $(0.465 \pm 0.043)$ 、 $(0.473 \pm 0.012)$ 、 $(0.482 \pm 0.015)$ 、 $(0.842 \pm 0.003)$ , 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F=119.000, P=0.000$ ); 0.9  $\mu$ g 质粒转染量的  $\beta$ -catenin 蛋白相对表达量高于 0.0、0.1 和 0.3  $\mu$ g 质粒转染量 ( $P < 0.05$ ), 表明质粒构建成功。见图 2。

将转染 30 个 10 cm Dish 的结直肠癌细胞系 HCT116 进行收样、纯化, 采用 Western blotting 验证



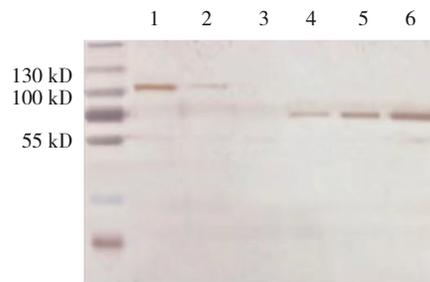
**图 2 Flag- $\beta$ -catenin 在结直肠癌细胞系 HCT116 中的表达**

纯化效果。将全细胞裂解液、IP 后上清液、Beads 洗脱液、Beads 部分或全部用 Loading 收集蛋白以验证 IP 效率 (见图 3), 最后用 0.25% pEE14.4-Flag- $\beta$ -catenin 蛋白样品洗脱液进行银染并定量纯化蛋白 (见图 4), 计算得到约 14  $\mu$ g pEE14.4-Flag- $\beta$ -catenin 蛋白样品。



1: WCL; 2: FT; 3: Elution1; 4: Elution2; 5: Elution3; 6: Beads。

**图 3 IP 效率验证**



1: Elution1; 2: Elution2; 3: Elution3; 4: BSA 10 ng; 5: BSA 30 ng; 6: BSA 100 ng。

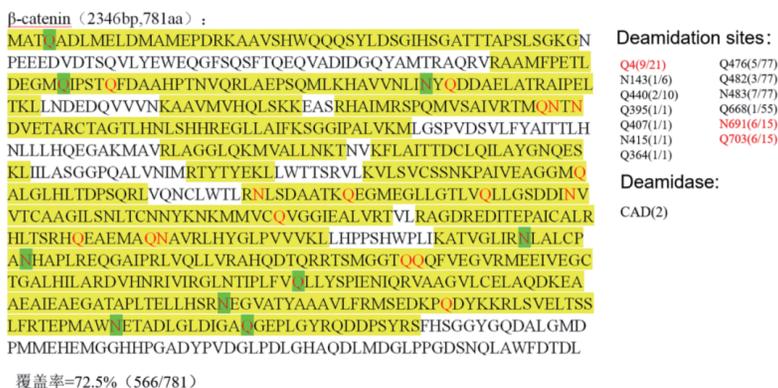
**图 4 HCT116 银染结果**

**2.2 外源性  $\beta$ -catenin 蛋白质谱分析结果**

外源性  $\beta$ -catenin 蛋白质谱分析结果见图 5。通过蛋白亲和纯化方法, 利用能够特异性结合 Flag 标

签的磁珠进行 pEE14.4-Flag-β-catenin 蛋白的纯化实验,并最终得到蛋白洗脱液(包括 β-catenin 蛋白及与其产生相互作用的蛋白),鉴定出了一种可能

与 β-catenin 蛋白产生相互作用的候选蛋白 CAD(质谱结果中 CAD 被检测到 2 次多肽信号),作为 β-catenin 发生脱酰胺化的候选酶发生作用。



全长肽链的黄色部分为质谱分析所检测到的片段,红色字母为能够发生脱酰胺化修饰的氨基酸残基(β-catenin 蛋白的脱酰胺化位点)。右侧为脱酰胺化位点在肽段中的位置信息、相关候选脱酰胺化酶以及 E3 泛素连接酶等。每个脱酰胺化位点后的分数中,分母代表检测到该位点所在相应肽段的次数,分子代表鉴别出脱酰胺化的次数。

图 5 β-catenin 蛋白脱酰胺化修饰位点及相互作用蛋白的质谱分析图

### 2.3 β-catenin 与 CAD 蛋白的相互作用

在结直肠癌细胞系 HCT116 中转染 pEE14.4-Flag-CAD 质粒,36 h 后收集质粒转染后的细胞样本,通过 co-IP 验证外源性 CAD 蛋白与内源性 β-catenin 蛋白的相互作用(见图 6)。同时利用构建的 pEE14.4-Flag-β-catenin 质粒转染进入结直肠癌细胞系 HCT116 中,表达带有 Flag 标签的 β-catenin 蛋白,通过 co-IP 实验鉴定了外源 β-catenin 蛋白与内源 CAD 的相互作用(见图 7)。两个实验结果共同证明在结直肠癌细胞系 HCT116 中,CAD 能够与 β-catenin 蛋白相互作用。

β-catenin 的总蛋白,说明在结直肠癌细胞系中,可能存在 β-catenin 的脱酰胺化修饰。见图 8。

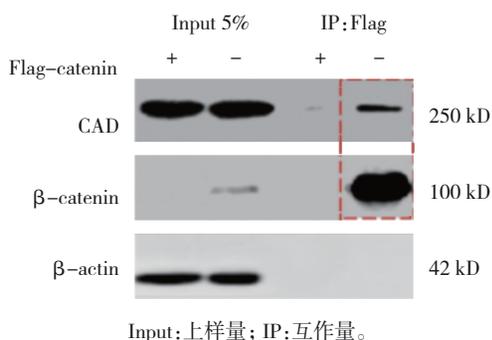


图 7 β-catenin 蛋白与内源性 CAD 蛋白相互作用

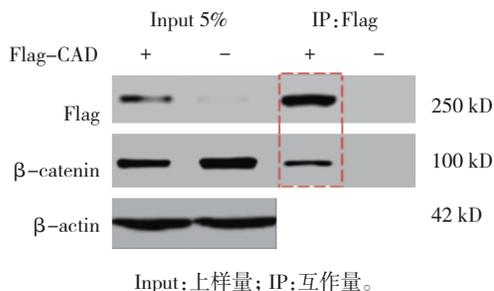


图 6 CAD 蛋白与内源性 β-catenin 蛋白相互作用

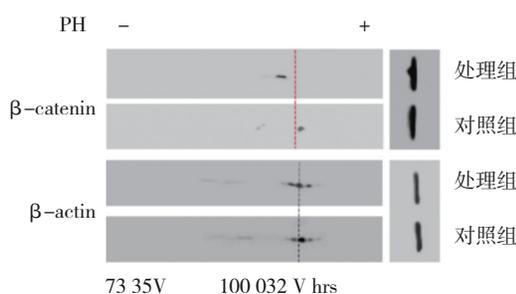


图 8 结直肠癌细胞系 HCT116 中 β-catenin 蛋白的二维电泳

### 2.4 结直肠癌细胞系中 β-catenin 存在脱酰胺化修饰

二维电泳分析发现,处理组细胞中 β-catenin 蛋白信号发生向负极迁移的趋势,而对照组没有发生迁移,表明 β-catenin 等电点降低,但 Don 不影响

## 3 讨论

结直肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一。现代人饮食习惯改变(高糖、高脂)导致肥胖率增加及平均寿命提高,使结直肠癌发病率与病死率都呈

逐年升高的趋势<sup>[7]</sup>。目前,早期结直肠癌患者可以通过手术切除取得良好的治疗效果。但大多数患者确诊时已处于中晚期,单纯手术治疗容易复发,疗效欠佳。因此,进一步探究结直肠癌发生、发展相关分子机制,为结直肠癌的治疗提供新的治疗靶点或生物标志物尤为重要。

Wnt/ $\beta$ -catenin 通路在多种肿瘤中的发生、发展中起重要作用<sup>[8]</sup>。该通路的异常激活在结直肠癌中普遍存在,其调节结直肠癌细胞生物学行为的研究也较为广泛,如下调结直肠癌中的该通路,可抑制结直肠癌细胞的迁移侵袭能力<sup>[9-10]</sup>。该通路下调可降低肿瘤的侵袭和转移能力。 $\beta$ -catenin 蛋白是通路中主要的信号分子,对该通路意义重大。

核苷酸代谢酶与肿瘤关系密切,是目前研究的热点和难点。CAD 是核苷酸代谢酶家族中重要一员,也是一个多功能蛋白酶复合体,参与催化嘧啶从头合成的前三步反应,能够将谷氨酰胺转化成三磷酸尿苷,后者是合成细胞增殖所必需 RNA、DNA 和磷酸脂质的原材料,参与细胞的增殖和分化<sup>[11]</sup>。当细胞周期进入 S 期,此时细胞内会进行 DNA 复制,需要大量合成嘧啶,CAD 蛋白活性达到最高点。RICHMOND 等<sup>[12]</sup>发现在炎症性肠病中 CAD 能够抑制抗炎症因子 NOD2,参与疾病的发生。MORIN 等<sup>[13]</sup>发现在前列腺癌细胞中,CAD 能够调控雄激素受体的入核,调节雄激素受体的转录活性,参与调控前列腺癌的发生、发展,尤其与前列腺癌早期复发密切相关。以上研究说明 CAD 蛋白在肿瘤发生、发展过程中起到调控作用,CAD 在该调控过程中,作为一种脱酰胺化酶发挥了重要功能。本研究初步证实,结直肠癌细胞中 $\beta$ -catenin 蛋白存在脱酰胺化修饰,CAD 可能为介导其发生脱酰胺化修饰的酶。

蛋白质脱酰胺化修饰是指蛋白质通过自发或者酶促反应脱去其氨基酸侧链上的酰胺基团,继而转变为羧基的过程<sup>[14]</sup>。早期研究认为自发的蛋白质脱酰胺化修饰是蛋白质衰亡过程中的一个表征<sup>[15]</sup>。在微生物领域,一些细菌分泌脱酰胺酶通过攻击重要的宿主免疫蛋白以达到免疫逃逸的目的<sup>[16-17]</sup>。近期研究表明蛋白质脱酰胺化修饰可以调节宿主的抗微生物免疫反应,例如源于细菌的效应因子通过对宿主天然免疫系统的关键信号分子脱酰胺化修

饰,从而操纵天然免疫防御系统<sup>[18-19]</sup>。这些结果表明脱酰胺化修饰能够在一定程度上影响蛋白质的功能,进而在机体一系列生理、病理过程中发挥作用。然而,脱酰胺化修饰在肿瘤相关蛋白及癌症的发生、发展中发挥着怎样的作用至今尚未明确。本研究通过 co-IP 实验证明外源 $\beta$ -catenin 蛋白与内源 CAD 存在相互作用。进一步研究通过二维凝胶电泳结合脱酰胺化抑制剂 DON 方法分析 CAD 与 $\beta$ -catenin 蛋白的关系,发现在存在脱酰胺化抑制剂 DON 的情况下, $\beta$ -catenin 蛋白等电点降低,与未加入 DON 的对照组相比,发生了向负极迁移的趋势。这提示 $\beta$ -catenin 蛋白在结直肠癌细胞系中可能存在被 CAD 脱酰胺化修饰的现象。在后续研究中,笔者希望继续运用一系列生化、分子和生物学技术,结合肿瘤细胞、动物模型及临床组织样本来探究 CAD 介导的脱酰胺化修饰对 $\beta$ -catenin 蛋白的功能调控,以及对结直肠癌发生、发展的影响,为结直肠癌的基础研究与临床诊疗提供理论依据和新的策略。

#### 参 考 文 献 :

- [1] HYUNA S, JACQUES F, REBECCA L S, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] DISOMA C, ZHOU Y Z, LI S N, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in colorectal cancer: Is therapeutic targeting even possible? [J]. Biochimie, 2022, 195: 39-53.
- [3] LI G Y, LI D H, WANG T, et al. Pyrimidine biosynthetic enzyme CAD: its function, regulation, and diagnostic potential[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(19): 10253.
- [4] ZHAO H, MING T Q, TANG S, et al. Wnt signaling in colorectal cancer: pathogenic role and therapeutic target[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 144.
- [5] BOUDIER-LEMOSQUET A, MAHLER A, BOBO C, et al. Introducing protein deamidation: landmark discoveries, societal outreach, and tentative priming workflow to address deamidation [J]. Methods, 2022, 200: 3-14.
- [6] HANSEN J M, de JONG M F, WU Q, et al. Pathogenic ubiquitination of GSDMB inhibits NK cell bactericidal functions[J]. Cell, 2021, 184(12): 3178-3191.e18.
- [7] XIA C F, DONG X S, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590.
- [8] NUSSE R, CLEVERS H. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. Cell, 2017, 169(6): 985-999.

- [9] LIU H, LI D X, SUN L N, et al. Interaction of lncRNA MIR100HG with hnRNPA2B1 facilitates m<sup>6</sup>A-dependent stabilization of TCF7L2 mRNA and colorectal cancer progression [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 74.
- [10] ZHAO H, MING T Q, TANG S, et al. Wnt signaling in colorectal cancer: pathogenic role and therapeutic target[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 144.
- [11] DEL CAÑO-OCHOA F, MORENO-MORCILLO M, RAMÓN-MAIQUES S. CAD, a multienzymatic protein at the head of de novo pyrimidine biosynthesis[J]. *Subcell Biochem*, 2019, 93: 505-538.
- [12] RICHMOND A L, KABI A, HOMER C R, et al. The nucleotide synthesis enzyme CAD inhibits NOD2 antibacterial function in human intestinal epithelial cells[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(7): 1483-1492.e6.
- [13] MORIN A, FRITSCH L, MATHIEU J R R, et al. Identification of CAD as an androgen receptor interactant and an early marker of prostate tumor recurrence[J]. *FASEB J*, 2012, 26(1): 460-467.
- [14] YING Y J, LI H L. Recent progress in the analysis of protein deamidation using mass spectrometry[J]. *Methods*, 2022, 200: 42-57.
- [15] HE S P, ZHAO J, SONG S S, et al. Viral pseudo-enzymes activate RIG-I via deamidation to evade cytokine production[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(1): 134-146.
- [16] KRISHNAMURTHY N, KURZROCK R. Targeting the wnt/beta-catenin pathway in cancer: update on effectors and inhibitors[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 62: 50-60.
- [17] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- [18] ZHAO J, ZENG Y, XU S M, et al. A viral deamidase targets the helicase domain of RIG-I to block RNA-induced activation[J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 20(6): 770-784.
- [19] PENG K S, KOU L L, YU L, et al. Histone demethylase JMJD2D interacts with  $\beta$ -catenin to induce transcription and activate colorectal cancer cell proliferation and tumor growth in mice[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(4): 1112-1126.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 向源楚, 廖雨洁, 陈杰, 等. 结直肠癌细胞  $\beta$ -catenin 蛋白脱酰胺化修饰的实验研究[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(14): 33-38.

Cite this article as: XIANG Y C, LIAO Y J, CHEN J, et al. Identification of deamidation modification of  $\beta$ -catenin in colorectal cancer cell lines[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(14): 33-38.