

TRIM59 基因沉默对结直肠癌细胞增殖和细胞周期的影响

高晓斌,武雪亮,王胜杰,孙光源,王文静,梁峰,赵轶峰,刘振显

摘要 目的 探讨三结构域蛋白 59 (TRIM59) 对人结直肠癌 HCT116 细胞生物学功能的影响及其作用机制。方法 构建重组 TRIM59 干扰质粒 RNA (si-TRIM59), 采用脂质体转染法将 TRIM59 敲减质粒转染至结直肠癌细胞 HCT116 中, RT-qPCR 和 Western blot 验证转染效率; CCK-8 法、克隆形成实验、流式细胞术检测 TRIM59 基因沉默对结直肠癌细胞增殖、克隆形成及细胞周期的影响, Western blot 检测 CDK4 和 cyclinD1 细胞周期蛋白表达水平。结果 TRIM59 mRNA 及蛋白在结直肠癌细胞中的表达水平高于正常结直肠黏膜细胞 ($P < 0.05$); 敲减 TRIM59 表达后, HCT116 细胞的增殖活性和克隆形成能力受到抑制 ($P < 0.05$), 细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期; 同时, 细胞周期相关蛋白 CDK4 和 cyclinD1 的表达量降低 ($P < 0.05$)。结论 TRIM59 在结直肠癌细胞中高表达, 下调 TRIM59 表达可抑制结直肠癌细胞的增殖、克隆形成能力, 提示 TRIM59 有望成为结直肠癌基因治疗的新靶点。

关键词 TRIM59; 结直肠癌; 细胞增殖; 细胞周期

中图分类号 R 735.3+7

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)05-0796-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.05.023

近年来,我国结直肠癌发病率及患病率呈逐年上升趋势^[1-2],尽管近年来结直肠癌的诊断和治疗技术已经取得了较大进展,但由于在早期筛查、早期诊断上的诸多困难,部分患者失去了最佳治疗时期,五年生存率并未有明显提高^[3]。因此,探究结直肠癌的发生发展机制非常迫切。三结构域蛋白 59 (tripartite motif-containing 59, TRIM59) 是一个新型的三结构域蛋白家族 (tripartite motif, trim) 家族成员,其主要通过介导蛋白与蛋白间的互相作用,调控蛋白稳定性,进而促进肿瘤细胞的无序化增殖,促进肿瘤发生^[4]。现阶段 TRIM59 已被证实在肝癌^[5]、非小细胞肺癌^[6]等肿瘤中高表达,而 TRIM59 在结直肠癌中的研究鲜有报道,该研究探讨沉默 TRIM59 对结直肠癌细胞 HCT116 增殖和细胞周期的影响,

旨在为结直肠癌的诊断、分子治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 RPMI-1640 培养基、胰蛋白酶和胎牛血清购于美国 Hyclone 公司; 细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8)、电化学发光试剂盒以及细胞周期试剂盒购自上海碧云天生物有限公司; 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS)、二甲基亚砷 (dimethylsulfoxide, DMSO) 细胞冻存液、蛋白质裂解缓冲液 (RIPA) 均购于北京索莱宝生物有限公司; RNA 提取试剂盒购于北京天根生化科技有限公司; SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司; 靶向 TRIM59 的干扰质粒 RNA (si-TRIM59) 和阴性对照质粒 (si-NC) 购自上海吉玛基因科技有限公司; 兔抗人 TRIM59 单克隆抗体、CDK4、cyclinD1 抗体以及辣根过氧化物酶标记的二抗购于美国 Abcam 生物公司; 引物由武汉擎科创新生物科技有限公司合成。

1.2 细胞培养 结直肠癌细胞 HCT116、SW620、SW480 及人正常结直肠黏膜细胞 FHC 均购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,用含有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养,置于 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养,每隔 1 d 更换新鲜培养液。次日倒置荧光显微镜下观察细胞生长状况,待细胞铺满培养瓶,细胞可进行细胞传代。细胞传代步骤:吸净旧的培养基,0.25% 胰蛋白酶消化细胞,收集细胞悬液与离心管中,置于离心机中以 1 000 r/min 离心 8 min; 重新混悬细胞,并将悬液于新的培养瓶内继续培养。

1.3 细胞分组及细胞转染 选择处于对数生长期的 HCT116 细胞用于后续实验,设置 TRIM59 干扰组 (si-TRIM59 组) 和阴性对照组 (si-NC 组)。将 1×10^5 /孔细胞量接种 6 孔板,培养 12 ~ 24 h 后,待细胞融合密度达到 60% ~ 70% 时开始进行细胞转染,根据转染操作说明书,每孔转染 50 nmol/L si-TRIM59 或 si-NC。转染完成后采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (real time quantity polymerase chain reaction, RT-qPCR) 和 Western blot 验证质粒转染效果。

1.4 RT-qPCR 实验 根据 TRIzol 操作说明书提

2022-03-10 接收

基金项目:河北省财政厅老年病防治项目(编号:361009);河北省卫计委医学科学重点课题计划(编号:20200515)

作者单位:河北北方学院附属第一医院普通外科,张家口 075000

作者简介:高晓斌,男,硕士,主治医师;

武雪亮,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail:wxlwk@163.com

取 HCT116 细胞总 RNA。使用 RNA 提取试剂盒提取 HCT116 细胞中的总 RNA;利用随机引物反转录成 cDNA。根据荧光定量试剂盒操作说明书进行 PCR 定量反应。引物序列分别为: *TRIM59* 正义链为 5'-GGACATGCTGTGTCACATCCT-3', 反义链为 5'-CTCCTGTTGGTCTCATTTGGT-3'; *GAPDH* 正义链为 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', 反义链为 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。PCR 反应条件如下: PCR 预变性 5 min, 95 °C 变性 30 s, 然后 60 °C 退火 30 s, 65 °C 延长 60 s, 共 35 个循环。以 *GAPDH* 作为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算目的基因 *TRIM59* mRNA 的相对表达量, 重复 3 次实验。

1.5 Western blot 实验 收集转染后的 HCT116 细胞并用细胞裂解液裂解细胞, 提取总蛋白并采用 BCA 法测定蛋白浓度。上样后在 SDS-PAGE 凝胶电泳 1.5 h, 将分离的蛋白转移到 PVDF 膜上, 10% 脱脂牛奶封闭 1 h, 分别加入 *TRIM59* 抗体 (1:6 000)、cyclinD1 抗体 (1:8 000)、CDK1 抗体 (1:4 000)、STAT3 抗体 (1:4 000)、p-STAT3 抗体 (1:2 000)、JAK2 抗体 (1:4 000)、p-JAK2 抗体 (1:2 000), 在 4 °C 下过夜。TBST 漂洗, 加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗在孵育 1 h, 取出 PVDF 膜后再 TBST 漂洗, 用电化学发光试剂盒显影, 计算目标条带的相对表达量。

1.6 CCK-8 法检测细胞增殖能力 吸取 100 μ l 密度为 2×10^4 个/ml 细胞悬液接种于 96 孔板上, 待细胞贴壁生长后加入 CCK-8 试剂, 使用酶联免疫检测仪分别在 0、24、48、72 h 时 450 nm 波长处吸光度 (A) 值, 实验重复 3 次, 并绘制细胞生长曲线。

1.7 克隆形成试验 收集转染 si-*TRIM59* 和 si-NC 转染后的 HCT116 细胞, 胰酶消化制备单细胞悬液,

以 500 个细胞数目/孔接种于 6 孔板中, 并在完全培养基中培养 2~3 周。每 4 d 更换 1 次新鲜培养基。待细胞克隆形成后, 采用 4% 多聚甲醛固定细胞, 1% 结晶紫染色 10 min, PBS 洗涤细胞 3~5 次, 获取图像, 计算细胞克隆形成数量。

1.8 流式细胞术检测细胞周期 细胞量按照 5×10^5 /孔接种在培养板中; 待细胞融合密度达到 60%~70% 时转染细胞, 胰酶消化收集细胞; 以 1 000 r/min 离心 5 min, 取沉淀细胞, PBS 洗涤细胞 2 次; 经预冷的 70% 乙醇固定并低温下孵育 3 h, 离心弃固定液, 调整细胞浓度为 1×10^6 /ml, 加入 50 μ g/ml 碘化丙啶 (PI) 染液室温下避光反应 30 min 进行 DNA 染色, 最后流式细胞仪检测细胞周期分布情况, 实验重复 3 次。

1.9 统计学处理 使用 SPSS 22.0 软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组组间比较使用独立样本 *t* 检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCGA 数据库分析 *TRIM59* 在结直肠癌组织中的表达及其与患者预后的相关性 采用 TCGA 数据库的在线网站 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>) 数据表明, 与癌旁组织相比, *TRIM59* 在结直肠癌组织中明显高表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$) (图 1A); 进一步通过 Kaplan-Meier 分析 *TRIM59* 表达与结直肠癌患者总生存期和无病生存期之间的关系, 结果表明, *TRIM59* 低表达组患者的总生存期和无病生存期较 *TRIM59* 高表达患者无明显缩短, 差异无统计学意义 (log rank $P = 0.57$, log rank $P = 0.54$) (图 1B、C)。上述结果表明 *TRIM59* 在结直肠癌中高表达, 但与结直肠癌患者不良预后

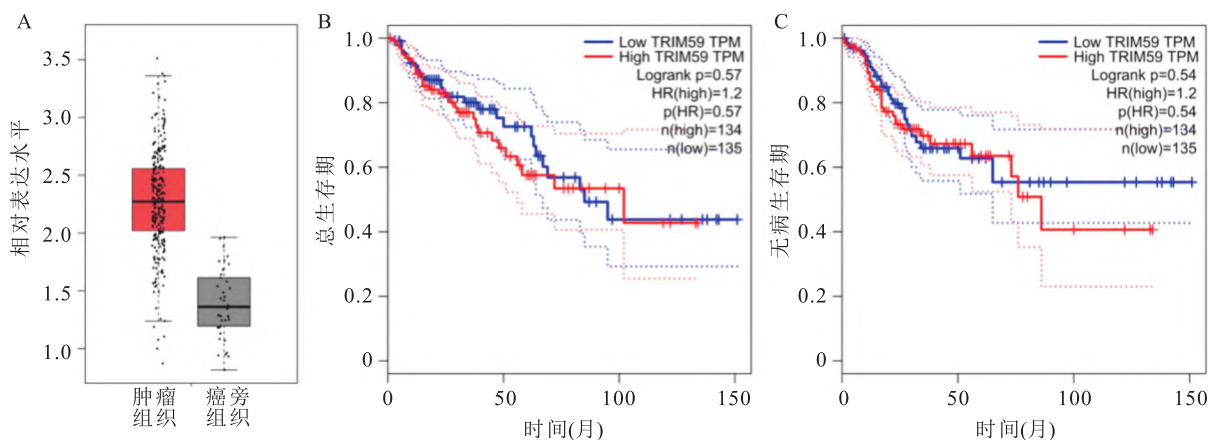


图1 TCGA 数据库分析 *TRIM59* 在结直肠癌及正常结直肠黏膜组织中的表达水平及其与患者预后的相关性

A: 结直肠癌组织及癌旁组织中 *TRIM59* 的相对表达水平; B: Kaplan-Meier 生存曲线分析 *TRIM59* 表达与结直肠癌患者总生存期的关系; C: Kaplan-Meier 生存曲线分析 *TRIM59* 表达与结直肠癌患者无病生存期的关系

无关。

2.2 TRIM59 mRNA 在结直肠癌细胞中的表达水平 采用 RT-qPCR 检测结直肠癌细胞及正常结直肠黏膜细胞中 TRIM59 mRNA 表达水平。结果显示, TRIM59 mRNA 在结直肠癌细胞 HCT116、SW620、SW480 中表达高于正常结直肠黏膜细胞 FHC, 尤其是在 HCT116 细胞表达最高。

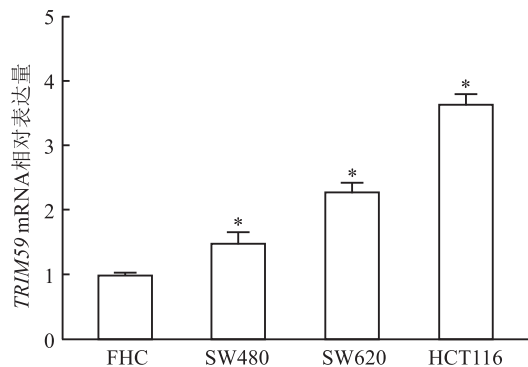


图2 qRT-PCR 法检测人结直肠癌细胞中 TRIM59 mRNA 的表达水平

2.3 TRIM59 siRNA 对结直肠癌细胞中 TRIM59 mRNA 及蛋白表达量的影响 将 si-TRIM59 和 si-NC 转染 HCT116 细胞中, 结果显示, si-TRIM59 组的 TRIM59 mRNA 表达水平和蛋白表达水平低于 si-NC 组 ($t = 18.56, P < 0.01$)。si-TRIM59 干扰组 TRIM59 蛋白相对表达水平低于 si-NC 组 ($t = 16.93, P < 0.01$)。见图 3。

2.4 敲减 TRIM59 对结直肠癌细胞增殖及细胞克隆形成能力的影响 CCK-8 检测结果显示, 在细胞转染 48 h 和 72 h 后, 与 si-NC 组相比, 敲减 TRIM59 表达后, HCT116 细胞的增殖能力下降 (48 h: $t =$

3.939, $P < 0.05$; 72 h: $t = 8.828, P < 0.01$) ; 细胞克隆形成实验结果表明, 与 si-NC 组相比, 敲减 TRIM59 后 HCT116 细胞集落形成数目减少 ($t = 5.18, P < 0.01$), 表明干扰 TRIM59 表达可显著抑制结直肠癌细胞的增殖能力。见图 4。

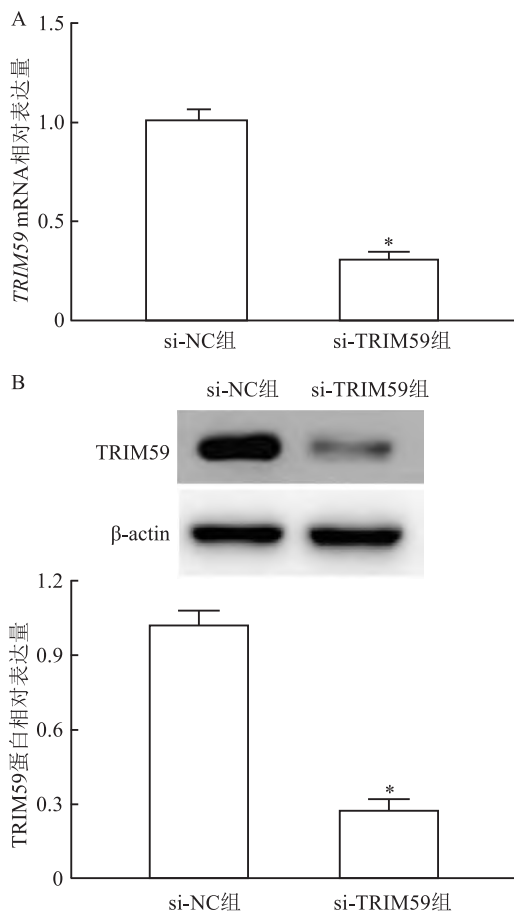


图3 qRT-PCR 和 Western blot 检测转染 TRIM59 siRNA 后结直肠癌细胞 HCT116 中 TRIM59 的 mRNA 和蛋白表达水平 A: qRT-PCR; B: Western blot; 与 si-NC 组比较; * $P < 0.05$

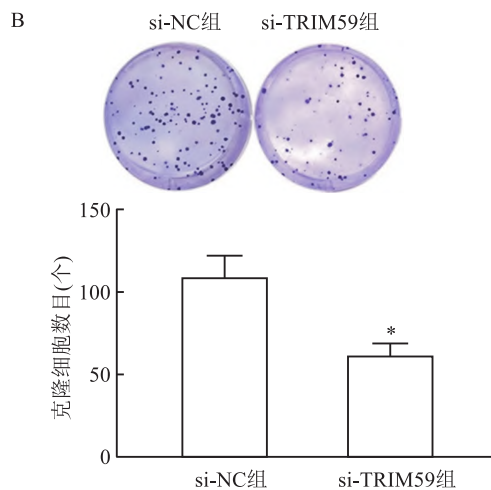
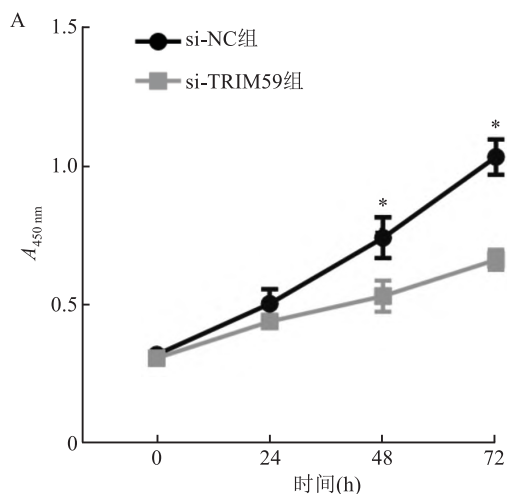
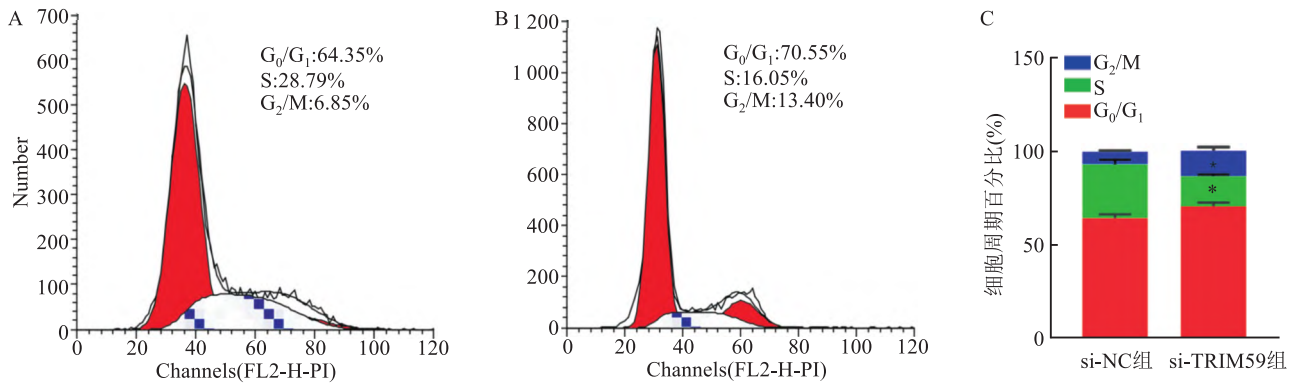


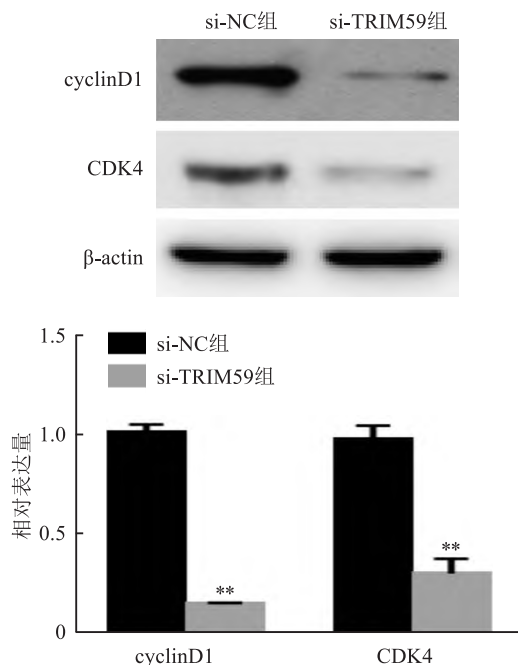
图4 CCK-8 和细胞克隆形成实验检测敲减 TRIM59 对 HCT116 细胞增殖和克隆形成能力的影响

A: CCK-8 实验检测细胞增殖; B: 细胞克隆形成实验; 与 si-NC 组比较; * $P < 0.05$

图5 流式细胞术检测敲减 *TRIM59* 对人结直肠癌 HCT116 细胞周期的影响A: si-NC 组; B: si-TRIM59 组; C: 直方图; 与 si-NC 组比较; * $P < 0.05$

2.5 敲减 *TRIM59* 对人结直肠癌 HCT116 细胞周期的影响 流式细胞术检测结果显示,与 si-NC 组相比,si-TRIM59 组 G_0/G_1 期细胞百分比显著增加, S 期比例下降,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 5。

2.6 敲减 *TRIM59* 对细胞周期相关蛋白的影响 采用 Western blot 检测敲减 *TRIM59* 对细胞周期蛋白 cyclin D1 和 CDK4 表达水平,结果显示,敲减 *TRIM59* 后 HCT116 中细胞周期相关蛋白 CDK4 和 cyclin D1 表达降低 ($t = 38.41, P < 0.01$; $t = 11.65, P < 0.01$)。见图 6。

图6 Western blot 检测干扰 *TRIM59* 对 HCT116 细胞周期蛋白的影响
与 si-NC 组比较; ** $P < 0.01$

3 讨论

TRIM59, 又称为 Mrf1 (mouse ring finger protein 1), 属于 TRIM 蛋白超家族的成员之一, 其主要位于人类第 3 号染色体上^[7]。*TRIM59* 结构包含高度保守的 RBCC 结构域和涉及蛋白跨膜定位的 TM 结构域, 其主要功能是参与调控 *TRIM59* 细胞内定位^[8]。*TRIM59* 可作为原癌基因, 在多种实体恶性肿瘤的侵袭、迁移、增殖和凋亡等过程中发挥重要作用^[9]。Hao et al^[10] 研究表明, *TRIM59* 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中的表达明显上调, 其表达与 NSCLC 患者的年龄、性别、吸烟状态、肿瘤分期、淋巴结转移和病理分期密切相关; 此外, Cox 回归分析结果表明 *TRIM59* 是 NSCLC 的独立预后因子。提示 *TRIM59* 可作为非小细胞肺癌预后的独立预测指标和潜在的治疗靶点。Zhou et al^[11] 采用 qPCR 和 Western blot 法检测 50 例胃癌组织和配对正常组织中 *TRIM59* 的 mRNA 和蛋白水平, 结果表明, 胃癌组织中 *TRIM59* mRNA 和蛋白水平较癌旁组织明显升高, 且其高表达与胃癌患者生存时间缩短相关。在胰腺癌的研究中, Li et al^[12] 研究表明, *TRIM59* 在胰腺癌组织中的表达显著增加, 并且其高表达与胰腺癌患者不良预后呈正相关。Lin et al^[13] 研究表明 *TRIM59* 在人前列腺癌组织中高表达, 干扰 *TRIM59* 表达可明显抑制前列腺癌细胞增殖和克隆形成能力, 干扰 *TRIM59* 可增加 S 期细胞的比例, 降低 G_2/M 期细胞比例, 且 CDC25A、CDC2 和 cyclinB1 三个细胞周期调节蛋白表达水平下降。

与上述结果相类似, 本研究结果表明, *TRIM59* 在结直肠癌组织及细胞中均高表达, 提示 *TRIM59* 可能在结直肠癌的发生发展过程中发挥重要作用。

以结直肠癌细胞 HCT116 为研究对象, 构建

TRIM59 基因 siRNA 载体,将此载体以瞬时转染方式抑制细胞中 *TRIM59* mRNA 表达;结果显示,敲减 *TRIM59* 的表达抑制了 HCT116 细胞的增殖能力和细胞集落形成能力,导致 G_1 期比例增加,S 期比例减低,提示 G_0/G_1 期细胞周期阻滞。以上研究表明,*TRIM59* 在结直肠癌发展中发挥促进作用。

随后,本研究对 *TRIM59* 促进结直肠癌细胞增殖的相关分子机制进行初步探索。有研究^[14-15]表明,CDK4 作为细胞 G_1/S 期转换的关键调控因子,它与细胞 cyclin D1 形成复合物后可使肿瘤细胞蛋白发生磷酸化失活,驱动细胞周期进展,从而影响肿瘤的恶性进程。本研究表明敲减 *TRIM59* 表达后可通过下调 CDK4 和 cyclin D1 表达来抑制细胞周期 G_1/S 期转变,从而抑制细胞生长。癌基因和抑癌基因的异常表达参与细胞周期的调节,从而导致肿瘤细胞异常增殖。

参考文献

- [1] Thanikachalam K, Khan G. Colorectal cancer and nutrition[J]. *Nutrients*, 2019, 11(1):164.
- [2] Dekker E, Tanis P J, Vleugels J L A, et al. Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019, 394(10207):1467-80.
- [3] 王凤杰,郭爱军,龚治忠,等. RBM25 在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(11):1713-8.
- [4] Tan P, He L, Zhou Y. *TRIM59* deficiency curtails breast cancer metastasis through SQSTM1-selective autophagic degradation of PDCD10[J]. *Autophagy*, 2019, 15(4):747-9.
- [5] Sun G, Sui X, Han D, et al. *TRIM59* promotes cell proliferation, migration and invasion in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Pharmazie*, 2017, 72(11):674-9.
- [6] Liang M, Chen X, Wang L, et al. Cancer-derived exosomal

- TRIM59* regulates macrophage NLRP3 inflammasome activation to promote lung cancer progression [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):176.
- [7] Teng Y, Ni G, Zhang W, et al. *TRIM59* attenuates IL-1 β -driven cartilage matrix degradation in osteoarthritis via direct suppression of NF- κ B and JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 529(1):28-34.
 - [8] Wang Y, Zhou Z, Wang X, et al. *TRIM59* is a novel marker of poor prognosis and promotes malignant progression of ovarian cancer by inducing annexin A2 expression [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(14):2073-82.
 - [9] Chen W, Zhao K, Miao C, et al. Silencing trim59 inhibits invasion/migration and epithelial-to-mesenchymal transition via TGF- β /Smad2/3 signaling pathway in bladder cancer cells [J]. *Oncotargets Ther*, 2017, 10:1503-12.
 - [10] Hao L, Du B, Xi X. *TRIM59* is a novel potential prognostic biomarker in patients with non-small cell lung cancer: a research based on bioinformatics analysis [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(2):2153-64.
 - [11] Zhou Z, Ji Z, Wang Y, et al. *TRIM59* is up-regulated in gastric tumors, promoting ubiquitination and degradation of p53 [J]. *Gastroenterology*, 2014, 147(5):1043-54.
 - [12] Li R, Weng L, Liu B, et al. *TRIM59* predicts poor prognosis and promotes pancreatic cancer progression via the PI3K/AKT/mTOR-glycolysis signaling axis [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(2):1986-97.
 - [13] Lin W Y, Wang H, Song X, et al. Knockdown of tripartite motif 59 (*TRIM59*) inhibits tumor growth in prostate cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(23):4864-73.
 - [14] Goel S, DeCristo M J, McAllister S S, et al. CDK4/6 inhibition in cancer: beyond cell cycle arrest [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(11):911-25.
 - [15] Duan P J, Zhao J H, Xie L L. Cul4B promotes the progression of ovarian cancer by upregulating the expression of CDK2 and CyclinD1 [J]. *J Ovarian Res*, 2020, 13(1):76.

Effects of *TRIM59* gene silencing on proliferation and cell cycle of colorectal cancer cells

Gao Xiaobin, Wu Xueliang, Wang Shengjie, Sun Guangyuan,
Wang Wenjing, Liang Feng, Zhao Yifeng, Liu Zhenxian

(Dept of General Surgery, First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000)

Abstract Objective To investigate the effect of tripartite motif containing 59 (*TRIM59*) on the biological function of human colorectal cancer HCT116 cells and its possible mechanism. **Methods** The recombinant *TRIM59* interference plasmid (si-*TRIM59*) was constructed and transfected into colorectal cancer cell line HCT116 by liposome transfection. The transfection efficiency was verified by RT-qPCR and Western blot. The effects of *TRIM59* gene silencing on the proliferation, colony-formation ability and cell cycle of colorectal cancer cells were detected

基于 MALDI-TOF MS 平台结合机器学习算法 鉴别三唑耐药热带念珠菌

王金宇,张可,夏翠萍,王中新

摘要 目的 利用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)平台数据分析和机器学习算法快速鉴别三唑(氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑)耐药和敏感的热带念珠菌。方法 从临床各类标本中收集 191 株热带念珠菌,其中 71 株为三唑耐药热带念珠菌,120 株为三唑敏感热带念珠菌。使用 MALDI-TOF MS 平台进行数据采集,并根据 Mann-Whitney *U*-test 及随机森林(RF)算法获得的重要性评分对耐药株及敏感株的质荷比特征进行分类和选择。利用 RF 算法及径向基函数核非线性支持向量机(RBF-SVM)构建分类模型,计算相同实验数据下 RBF-SVM 模型和 RF 模型的准确度、敏感度、特异度、F1 值及受试工作者曲线下面积(AUC)以评估模型鉴别性能。结果 所有菌株经过 MALDI-TOF MS 平台分析后共得到 76 个独特的质谱峰。其中,通过特征降维处理后选择 6 个峰 3 481、7 549、6 500、3 048、6 892、2 596 *m/z* 作为模型建立的特征峰。RBF-SVM 模型和 RF 模型的准确度均为 0.84, AUC 分数分别为 0.930 5、0.927 3。结论 机器学习算法结合 MALDI-TOF MS 平台进行数据分析可作为一种快速区分三唑耐药热带念珠菌和三唑敏感菌株的方法。

关键词 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术;机器学习算法;热带念珠菌;支持向量机;随机森林算法

中图分类号 Q 939.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)05-0801-04

2022-02-25 接收

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(编号: KJ2015A337)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院检验科,合肥 230022

作者简介:王金宇,男,硕士研究生;

王中新,男,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: ay-wzhx87@163.com

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.05.024

近年来,随着免疫抑制剂和广谱抗生素不合理地应用,以及各种侵入性诊疗的进行,临床真菌感染率、耐药率及病死率大幅升高^[1]。为了指导临床抗生索的使用,需要及早检测出真菌对抗生索的耐药性。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)以其快速、可靠的菌种鉴定能力,已广泛用于实验室菌种的快速鉴定^[2-4]。同时, MALDI-TOF MS 主要通过分析指纹图谱特征峰的差异来区分耐药株及敏感株^[5],但是仅通过有限的特征很难准确区分。机器学习算法能够计算出数据的统计相关性和非线性特征之间的影响。为了充分利用 MALDI-TOF MS 数据中包含的信息来简化耐药性的测定^[6-9],该研究引入机器学习算法来探讨一种快速区分三唑(氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑)耐药和敏感热带念珠菌的方法。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集 2018 年 1 月—2021 年 3 月自安徽医科大学第一附属医院临床各类标本中 191 株热带念珠菌,其中 120 株为三唑敏感的热带念珠菌,71 株为三唑耐药的热带念珠菌。所有分离株均通过 MALDI-TOF MS 平台进行鉴定。耐药性依据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)指南,使用微量

by CCK-8 method, colony formation assays and flow cytometry respectively. Western blot was used to detect the expression level of CDK4 and cyclinD1. **Results** The expression levels of *TRIM59* mRNA and protein in colorectal cancer cells were significantly higher than those in normal colorectal mucosa cells ($P < 0.05$). After knockdown of *TRIM59* expression, the proliferation activity and colony forming ability of HCT116 cells were significantly inhibited ($P < 0.05$), and the cell cycle was arrested in G0/G1 phase. At the same time, the expression levels of CDK4 and CyclinD1 significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** *TRIM59* was highly expressed in colorectal cancer cells. Down regulation of *TRIM59* expression can inhibit the proliferation and clone formation of colorectal cancer cells, suggesting that *TRIM59* may become a new target for gene therapy of colorectal cancer.

Key words *TRIM59*; colorectal cancer; cell proliferation; cell cycle