

利用 STITCH 分析 MDM2 网络交互作用

祖胡月

(山东协和学院 山东 济南 250109)

【摘要】MDM2 是在多种肿瘤中扩增和高表达的原癌蛋白，不仅在肿瘤发生中，在胚胎发育过程中也能对 p53 发挥特异性的抑制作用，不可逆地降低 p53 活性，使 p53 失去对肿瘤的抑制作用。STITCH (Search Tool For Interactions Of Chemicals)，通过集成代谢网络，蛋白分子晶体结构，信号转导等信息，建立实验和药物靶标之间的联系。由表型效应、文本采集和化学结构相似性推断得到的信息不仅能够用来研究已知的蛋白功能，同时还能够预测未知蛋白之间的相互作用。

【关键词】STITCH; MDM2; 分子网络; p53; AKT1; RPL11

Analyzing MDM2 Network Interaction with STITCH

Huyue Zu

(Shandong Xiehe University, Jinan, Shandong, 250109)

[Abstract]MDM2 is an important inhibitory factor for p53, and cooperate with each other through different pathway to inhibit p53 activity in the process of tumorigenesis or the development process of the embryo. Search Tool For Interactions Of Chemicals(STITCH) goes through integrate metabolic network, protein molecular crystal structure, signal transduction to contribute the relationship between experiments and drug targets. In this study, we constructed MDM proteins interaction networks using STITCH, and then analyzed their topological parameters and important nodes. This approach provides a systematic view of the action of MDM proteins in a simple visual format.

[Key words]STITCH;MDM2;Network;p53;AKT1;RPL11

1 引言

MDM2 是 1987 年由 Cahily-Snyder 等人首次从含有双微体的自发转化成瘤的小鼠成纤维细胞 Balb/c3T3 细胞系中克隆出来的一个高度扩增的基因^[1]。mdm2 包含两个启动子: P1 和 P2, 二者有不同的 5' UTR, 却含有相同的翻译起始位点。P1 启动子位于 mdm2 第一个外显子上游, 其 5' UTR 含有翻译抑制原件, 主要用来控制基础表达; P2 启动子位于 mdm2 第一个内含子中, 依赖于 P53, 其 5' UTR 含有增强翻译的原件, 因此常与癌症的发生相关^[2-4]。N 端结构域可以通过疏水基团与 p53 结合进而启动 p53 的泛素化降解^[5]。人的 MDM2 和 p53 结合的区域在第 17 位到 125 位氨基酸残基之间, 此区内含有 14 个保守疏水性芳香族氨基酸残基, 通过 α -螺旋和 β -折叠形成一条疏水狭缝, p53 上能够与 MDM2 结合的疏水面插入到 MDM2 的狭缝中, 此结构在进化中呈现高度保守性。另外, 研究发现 MDM2 可以优先结合 p53 的四聚体, 因此, 细胞中可能存在游离的 p53 单体或二聚体, 这些 p53 可以对信号做出迅速反应^[6,7]。

生物网络对基因调控网络、新陈代谢网络、蛋白质相互作用网络、信号转导网络的预测和重构是后基

因组学研究中的一个崭新的、极其重要的研究领域, 也是最为关注的焦点之一^[8]。其研究方法主要是利用大量的生物实验数据, 运用资料勘探技术反向分析和探究特定生物元件之间的关联信息, 并试图以复杂系统的观点为出发点, 从生物元件之间关系的角度来揭示和再现它们之间相互作用的网络拓扑结构, 揭示其复杂的作用机理及其功能信息^[9]。我们利用 STITCH 构建了 MDM 蛋白交互网络, 并利用专门软件对结果进行了分析, 旨在深入的了解 MDM 蛋白的分子作用机制。

2 材料和方法

2.1 通过 STITCH 重建交互网络

STITCH 软件工具覆盖了来自 1133 种生物体的 390,000 种化学物质和 360 万蛋白质的综合数据。该数据库通过对大量实验和手动证据的信息分析, 实现了对蛋白相互作用预测^[10-13]。STITCH 3.1 可以在线实时分析, 该数据库已经用于生物网络的分析, 例如, 在系统生物中即便发生十分微小的变化, 基因网络都会对其做出反应, 且能够做出反应的基因数量远远超过科学家原本的预想, 其效果也并非简单的线性叠加, 有时甚至难以预测。美国科学家分别在小鼠和人类身上确定了与肥胖有关的基因网络, 这比追踪单个致病

基因的传统方法要全面得多。在一项药物制品研究中发现, 实验组从 STITCH 数据库中利用基因 / 蛋白交互数据库搜索工具找出了化合物 - 化合物和蛋白 - 蛋白之间的相互作用 [16]。

2.2 利用 NetworkAnalyzer 分析拓扑参数

NetworkAnalyzer 是 Cytoscape 的一个用户友好型插件, 用来计算和演绎一系列综合性的拓扑网络参数 [14-17]。NetworkAnalyzer 早先被用来研究药物 - 基因之间的网络交互, 也曾被用于研究人类心脏疾病的基因表达 [16]。

2.3 STITCH 识别网络中的重要结点

STITCH 系统为每一个化学物质 - 蛋白质或蛋白质 - 蛋白质相互作用评分 [18-20]。进行下一项分析前, 我们需要将 MDM2 输入到 STITCH 的搜索界面, 参数设置同上。

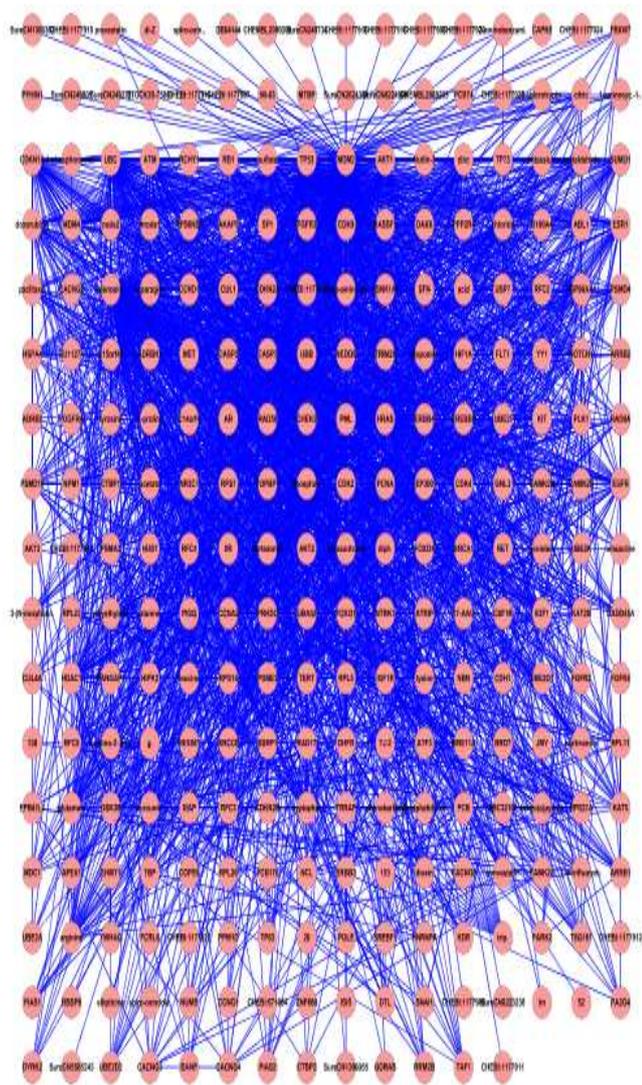


图 1. MDM2 蛋白分子的交互网络

Parameter	MDM2
Number of nodes	269
Number of edges	2380
Characteristic path length	1.989
Network diameter	4
Avg. number of neighbors	16.699
Network density	0.062
Clustering coefficient	0.488
Network heterogeneity	1.358

表 1. MDM2 蛋白网络的拓扑参数

3 结果分析

3.1 STITCH 重建交互网络

我们从 STITCH3.1 得到的能够与 MDM2 和 MDM4 相互作用的化学物质 - 蛋白质或蛋白质 - 蛋白质数据, 结果以文件的形式输入到 Cytoscape2.8.2, 显示的是 MDM2 的作用网络。MDM2 的交互网络包括 269 个节点和 2380 条边, 即 MDM2 可以和 269 个蛋白质发生 2380 个相互作用。

4 讨论

绝大多数的蛋白质都需要其他细胞成分的帮助共同发挥生物学功能 [12]。细胞中的生物大分子的相互作用是一个动态的, 有一些相互作用是短暂的, 还有一些是发生在生长发育的某一个特殊阶段里 [20]。因此, 构建蛋白质和基因相互作用网络是非常有必要的, 它可以从宏观上揭示整个生物系统中物理的和生物上的联系, 包括不同生命活动之间的联系也包括生物体内某一蛋白功能的联系。例如, 在 MDM2 和 MDM4 的蛋白网络中, 并没有典型的节点与之相互作用。因此, 这两个生物交互网络像许多其他的生物网络一样具有无标度性。

MDM2 网络的聚类系数比较低, 这意味着较多的蛋白质分子参与了该网络的相互作用。MDM2 分子网络的半径要比 MDM4 的更大, 这意味着其典型的路径长度也比 MDM4 要长, 值为 1.989。网络密度显示了该网络中边的紧密程度。令人觉得有趣的是, MDM4 的网络密度要远远大于 MDM2 的网络密度。这些数据在图 2 和表 1 中都有具体体现。这些拓扑参数有利于我们进一步的研究 MDM2 和 MDM4 的分子网络。

5 结论

网络可视化是一种强大的数据解释和分析方法，主要利用数据库来重建 MDM2 蛋白交互网络。软件可以对拓扑参数和网络中的重要节点进行进一步分析，发现网络中潜在的重要特征。STITCH 软件可以用简单形象可理解的形式迅速生成针对于 MDM2 的综合而深入的交互网络。

参考文献：

[1] Cahilly-Snyder L, Yang-Feng T, Francke U, et al. Molecular analysis and chromosomal mapping of amplified genes isolated from a transformed mouse 3T3 cell line[J]. Somatic cell and molecular genetics, 1987, 13(3): 235-244.

[2] Xiao G, White D, Bargonetti J. p53 binds to a constitutively nucleosome free region of the mdm2 gene[J]. Oncogene, 1998, 16(9): 1171-1181.

[3] Oliner J D, Kinzler K W, Meltzer P S, et al. Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas[J]. 1992.

[4] Trotta R, Vignudelli T, Candini O, et al. BCR/ABL activates mdm2 mRNA translation via the La antigen[J]. Cancer cell, 2003, 3(2): 145-160.

[5] Haupt Y, Maya R, Kazaz A, et al. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53[J]. Nature, 1997, 387(6630): 296-299.

[6] Freedman DA, Wu L, Levine AJ. Functions of the MDM2 oncoprotein [J]. Cell Mol Life Sci, 1999, 55(1): 96-107.

[7] Piette J, Nee H, Marechal V. MDM2: keeping p53 under control [J]. Oncogene, 1997, 15(9): 1001-1010.

[8] C.E. Wheelock, A. M. Wheelock, S. Kawashima, D. Diez, M. Kanehisa, M. van Erk, R. Kleemann, J. Z. Haeggstrom and S. Goto, Mol Biosyst, 2009, 5, 588-602.

[9] J. M. Harrold, M. Ramanathan and D. E. Mager,

Clin Pharmacol Ther, 2013, 94, 651-658.

[10] M. Kuhn, D. Szklarczyk, A. Franceschini, C. von Mering, L. J. Jensen and P. Bork, Nucleic Acids Res, 2012, 40, D876-880.

[11] M. Kuhn, D. Szklarczyk, S. Pletscher-Frankild, T. H. Blicher, C. von Mering, L. J. Jensen and P. Bork, Nucleic Acids Res, 2014, 42, D401-407.

[12] M. Kuhn, C. von Mering, M. Campillos, L. J. Jensen and P. Bork, Nucleic Acids Res, 2008, 36, D684-688.

[13] M. Kuhn, D. Szklarczyk, A. Franceschini, M. Campillos, C. von Mering, L. J. Jensen, A. Beyrer and P. Bork, Nucleic Acids Res, 2010, 38, D552-556.

[14] L. Chen, B. Q. Li, M. Y. Zheng, J. Zhang, K. Y. Feng and Y. D. Cai, Biomed Res Int, 2013, 2013, 723-780.

[15] N. T. Doncheva, Y. Assenov, F. S. Domingues and M. Albrecht, Nat Protoc, 2012, 7, 670-685.

[16] Y. Assenov, F. Ramirez, S. E. Schelhorn, T. Lengauer and M. Albrecht, Bioinformatics, 2008, 24, 282-284.

[17] R. Saito, M. E. Smoot, K. Ono, J. Ruscheinski, P. L. Wang, S. Lotia, A. R. Pico, G. D. Bader and T. Ideker, Nat Methods, 2012, 9, 1069-1076. [24] W. Zhu, L. Yang and Z. Du, PLoS One, 2009, 4, e6288.

[18] B. Q. Li, B. Niu, L. Chen, Z. J. Wei, T. Huang, M. Jiang, J. Lu, M. Y. Zheng, X. Y. Kong and Y. D. Cai, PLoS One, 2013, 8, e65207.

[19] L. Bonetta, Nature, 2010, 468, 851-854.

[20] T. Ideker and N. J. Krogan, Mol Syst Biol, 2012, 8, 565.

作者简介：

祖胡月，女，毕业于浙江大学医学院，研究方向低氧生理学，从事基础医学方向教育工作，讲师。