



结合亲和质谱与生物信息学分析构建TP53BP1的蛋白相互作用网络

王浩, 王春晴, 陈瑞冰*

天津医科大学基础医学院遗传学系, 天津 300070

* 联系人, E-mail: chenruibing@tjmu.edu.cn

收稿日期: 2017-08-17; 接受日期: 2017-09-26; 网络版发表日期: 2018-01-29

国家自然科学基金(批准号: 21575103)资助

摘要 蛋白质与蛋白质相互作用(PPIs)是两个或更多蛋白质分子之间通过静电作用、范德华力等建立的高度特异性的物理接触. 细胞内的各种蛋白分子通过PPIs进行彼此之间的功能调节、信号通路的交互作用等, 从而实现各种生物进程, 而异常的PPIs也将导致疾病的发生、发展, 其中就包括肿瘤. 因此围绕某些和疾病密切相关的关键蛋白构建其相互作用生物网络(interactome)将有助于更好地分析该关键蛋白在疾病中的作用和可能的分子机制. 本研究针对抑癌基因p53结合蛋白1 (TP53BP1), 利用亲和质谱分析鉴定了15个潜在的TP53BP1相互作用蛋白. 同时, 结合PPI数据库检索构建了与TP53BP1相互作用的蛋白质网络, 并对该网络中的蛋白进行了功能富集分析、通路分析, 结果显示, TP53BP1相互作用蛋白主要富集在细胞周期、同源重组、错配修复等重要通路, 该研究为深入解析TP53BP1的生物学功能及其在肿瘤中的作用奠定了基础.

关键词 TP53BP1, 蛋白质相互作用, 功能富集分析, 亲和质谱分析

蛋白质是所有细胞的关键组分, 蛋白质之间的相互作用对于绝大多数细胞功能至关重要. 一些基本的生物过程如基因转录及翻译、细胞周期控制、信号传导和调节、细胞运动等都取决于蛋白质复合物的正确组装. “后基因组时代”的一个重要事件是大量的功能注释基因组数据的累积^[1], 不同的基因根据它们的相似性如表达模式^[2]、语义相似性^[3]、蛋白质与蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络结构^[4]通过聚类分析从而捕获富集的生物功能信息. 因此PPIs构建技术已经成为蛋白质分析的关键因素之一, 为了解蛋白质的功能提供了重要信息^[5,6]. 癌症基因组学、

靶向治疗、网络肿瘤学(network oncology, NO)的出现与整合已经显著扩大了癌症中通过PPIs发现治疗的机会. 在癌症中, PPIs形成信号传导的节点与中枢, 其沿着分子网络传递病理生理学线索以实现整合的生物输出, 从而促进肿瘤发生、肿瘤进展、侵袭和(或)转移^[7].

目前有多种方法来鉴定PPIs, 这些方法包括以实验方法鉴定直接物理相互作用以及基于计算分析预测的功能性联系^[8]. 免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, Co-IP)被认为是蛋白质相互作用的金标准测定方法, 使用特异性抗体分离感兴趣的蛋白及其相互结合蛋

引用格式: 王浩, 王春晴, 陈瑞冰. 结合亲和质谱与生物信息学分析构建TP53BP1的蛋白相互作用网络. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 232–239
Wang H, Wang C Q, Chen R B. Construction of protein-protein interaction network of TP53BP1 by affinity purification mass spectrometry and bioinformatic analysis (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2018, 48: 232–239, doi: [10.1360/N052017-00147](https://doi.org/10.1360/N052017-00147)

白, 随后通过质谱分析法可以高通量地鉴定与目标蛋白的相互作用蛋白组^[9]. PPIs的大规模鉴定产生了大量的蛋白质相互作用关系, 这些数据不断地更新并且被专门的数据库收集整理, 包括BIND^[10], ProLinks^[11], STRING^[12,13]等. 这些数据库的使用为特定相互作用网络的构建提供了便利.

p53结合蛋白1 (TP53BP1)含有1972个氨基酸, 该蛋白没有明显的酶活性, 却包含与众多DNA双链断裂(double-strand break, DSB)损伤响应蛋白的结合位点^[14]. TP53BP1不仅是DSB修复蛋白^[14,15], 还参与调控端粒动力、抗体产生、癌症的发生发展^[16], 同时参与调解细胞周期和细胞凋亡等重要信号通路^[17]. TP53BP1对DSB的修复功能很好地体现在乳腺癌相关基因1 (breast cancer associated gene 1, *BRCA1*)缺陷型细胞^[18-20]. 最近的研究表明, TP53BP1和BRCA1通过相互影响对方招募到DSB位点在DSB修复途径的平衡中发挥重要作用^[21]. 同时, 有研究表明, 肿瘤对放射性和化学疗法的反应取决于DNA损伤反应(DNA damage response, DDR)网络, DDR对于维持基因组完整性、稳定性、正常功能是重要的^[22]. TP53BP1作为DDR的关键组成部分, 与肿瘤的发生、发展及预后密切相关. 本文针对TP53BP1, 结合亲和质谱分析与PPI数据库检索的方法构建了与TP53BP1相互作用的蛋白质网络, 并对该网络中的蛋白进行了功能富集分析(Gene Ontology analysis)和信号通路分析(pathway analysis), 从而更深入地解析TP53BP1的生物学功能及其在肿瘤中的作用.

1 材料与方法

1.1 抗体和试剂

兔源抗TP53BP1多克隆抗体、正常兔IgG购自Santa Cruz (美国), 增强化学发光试剂、BCA试剂、Dynabeads Protein A磁珠均购自Life Technologies (Carlsbad, 美国). 蛋白酶抑制剂Cocktail片剂购自Roche Diagnostics (Indianapolis, 美国). 二硫苏糖醇、碘乙酰胺购自Sigma Aldrich (St.Louis, 美国). 胰蛋白酶购自Promega (Madison, 美国). 乙腈、甲酸购自Fisher Scientific (Pittsburgh, 美国). MEM培养基、胎牛血清购自HyClone (Logan, 美国).

1.2 细胞培养与细胞蛋白裂解

本研究使用的ACHN肾细胞癌细胞系购自于美国模式培养物集存库ATCC. 培养基使用加入10%胎牛血清、1%双抗(青霉素与链霉素)的MEM, 并在37℃, 5% CO₂的环境中培养. 细胞汇合度在90%左右时进行蛋白裂解, 裂解液为补充有蛋白酶抑制剂Cocktail的Triton X-100裂解缓冲液(40 mmol/L Tris, 120 mmol/L NaCl, 1% Triton X-100, 1 mmol/L NaF, 1 mmol/L Na₃VO₄).

1.3 免疫共沉淀、蛋白凝胶电泳、凝胶内酶解

取40 μL Dynabeads Protein A磁珠与稀释在300 μL PBS中的TP53BP1抗体或正常兔IgG(对照组)4℃悬摇孵育过夜, 然后用Triton X-100裂解缓冲液洗磁珠除去未结合的抗体. ACHN细胞裂解液进行BCA测定浓度后均分为两份分别与孵育抗体或对照IgG的磁珠4℃悬摇孵育6 h, 之后用Triton X-100裂解缓冲液充分清洗磁珠, 通过在磁珠中加入SDS-PAGE上样缓冲液后沸水浴10 min洗脱蛋白质. 利用SDS-PAGE分离蛋白, 并对分离胶进行银染染色、切胶和脱色, 在质谱分析前用胰蛋白酶进行胶内酶解消化^[23].

1.4 质谱分析

使用nanoUPLC (Waters, 美国)分离胰蛋白酶消化肽段并采用nanoESI-LTQ Orbitrap质谱仪(Thermo Fisher Scientific, 美国)分析胰蛋白酶消化肽段^[23]. 首先, 将样品加载在捕获柱上, 以流动相A (0.1%甲酸)以5 μL/min的流速冲洗3 min进行脱盐. 然后, 使用nanoUPLC分离柱(C18, 150 mm×0.075 mm, 1.7 μm)进行肽段的分离. 采用淋洗梯度: 7%~45% B (含有0.1%甲酸的乙腈), 分离时间为90 min. 质谱仪以Data Dependent模式运行, 其中初始FT扫描记录m/z 350~2000质量范围, 其中丰度最高的8个离子被自动选择用于碰撞激活解离(collisional activated dissociation, CAD). 喷射电压设置为2.0 kV, 串联质谱归一化碰撞能量设定为35%. 使用嵌入在Protein Discoverer 1.3软件(Thermo Fisher Scientific)中的SEQUEST算法在含有98778个序列条目的Uniprot人蛋白质数据库中进行原始数据搜索. 在数据库搜索期间运用以下参数: 10 ppm前体质量误差, 1 Da片段质量误差, 半胱氨酸残基的巯基甲酰化设置为静

态翻译后修饰, 蛋氨酸氧化设定为可变翻译后修饰, 容许的胰酶漏切位点设为1. 共进行3次生物重复, 且质谱结果筛选条件设置为: 特异性肽段大于2、假阳性率小于0.01, 以确保蛋白质鉴定的稳定性与可靠性.

1.5 蛋白质相互作用数据库检索及相互作用网络构建

从STRING蛋白质相互作用数据库获得与TP53BP1相互作用的蛋白质, 筛选条件设置为: 最低相互作用得分为高可信度0.7分, 数据来源为实验验证, 相互作用蛋白数量为不超过50个. 通过合并质谱检测得到的15个和STRING数据库检索获得的50个TP53BP1相互作用蛋白, 得到P53BP1相互作用蛋白列表(共包含65个相互作用蛋白), 将该列表上传到STRING数据库进行检索, 获得网络内部的蛋白相互作用关系, 综合以上信息并使用Cytoscape 3.5.0软件^[24]构建TP53BP1相互作用蛋白网络.

1.6 蛋白质组功能富集分析、TCGA基因组数据分析

使用嵌入在R语言包ClusterProfiler^[25]中的enrichGO与enrichKEGG函数分别对蛋白质组进行GO功能富集分析和通路分析, *P*值设置为小于0.01. 使用在线分析工具cBioPortal对TCGA中临床样本的基因组

数据进行搜索, 分析TP53BP1基因在33种类型肿瘤中相对于正常对照组的突变及拷贝数变化.

2 结果与讨论

2.1 TP53BP1相互作用蛋白质的质谱分析组

本研究首先采用免疫共沉淀结合质谱分析检测TP53BP1的相互作用蛋白, 通过对比TP53BP1的免疫沉淀样品和正常IgG对照组, 共发现15个潜在的TP53BP1相互作用蛋白, 其中包括RNA聚合酶POLR2A、染色体相关驱动蛋白KIF4A, RNA结合蛋白RBM26等(表1). 在这组新鉴定的TP53BP1相互蛋白组中, USP28已被报道通过TP53BP1的BRCT结构域与TP53BP1相互作用^[26]; 另外DNA解旋酶RECQL5被报道与TP53BP1介导的DNA损伤修复相关^[27], 这些被报道过的相互作用关系证实了本研究中免疫共沉淀结合质谱分析鉴定的与TP53BP1相互作用蛋白的可靠性. 其他13个蛋白都是未见报道的潜在的新型TP53BP1相互作用蛋白, 其中本研究组发现, 无义转录物调节蛋白1(regulator of nonsense transcripts 1, UPF1)、182 KD端锚聚合酶-1结合蛋白(182 kD tankyrase-1-binding protein, TNKS1BP1)等都与DNA修复相关^[28,29], 可能通过与TP53BP1相互作用调节DNA修复过程.

表1 质谱分析鉴定的TP53BP1相互作用蛋白列表

蛋白编号	描述	基因符号	覆盖率	特有肽段	分子量 (kD)
P24928	DNA指导的RNA聚合酶II RPB1亚基	POLR2A	38.78%	43	217.0
O95239	染色体相关驱动蛋白KIF4A	KIF4A	33.85%	37	139.8
Q68CZ2	张力蛋白3	TENS3	22.08	21	155.2
Q5T8P6	RNA结合蛋白26	RBM26	19.96	13	113.5
A5YM55	RECQL5蛋白	RECQL5	18.06	13	108.8
Q96RU2	泛素羧基末端水解酶28	USP28	10.49	8	122.4
Q92900	无义转录物调控器1	UPF1	9.39	8	124.3
D3DWL9	切割和多腺苷酸化因子特异性亚基1	CPSF1	7.84	9	151.9
B3KMV5	延伸的突触结合蛋白1	FAM62A	3.53	3	122.8
B4DJK4	转录延长因子SPT5	SUPT5H	3.19	2	96.9
B4DQY7	TATA元件调控因子	TMF1	2.52	2	111.7
A8K8N3	精子相关抗原5	SPAG5	1.68	2	134.3
Q6P2E9	信使RNA脱帽增强蛋白4	EDC4	1.64	2	151.6
Q9C0C2	182 kD端锚聚合酶1结合蛋白	TNKS1BP1	1.45	2	181.7
Q9UQ35	丝氨酸/精氨酸重复基质蛋白2	SRRM2	1.13	2	299.4

2.2 绘制TP53BP1相互作用蛋白网络

为了更为全面和深入地了解TP53BP1功能, 通过结合质谱分析和PPI数据库检索, 建立了TP53BP1在细胞内的相互作用网络. 如图1所示, 该网络共包含65个蛋白节点(不计TP53BP1), 462个相互作用连接. 其中转录因子p53 (TP53)是报道最多的TP53BP1的相互作用蛋白^[30]. TP53对包括DNA损伤在内的各种应激信号做出反应, 通过调节多种靶基因的转录, 引发细胞周期停滞、凋亡、DNA修复和代谢反应^[31,32]. TP53是重要的肿瘤抑制因子, TP53突变是约50%肿瘤病例发生的驱动因素. 最近的研究表明, USP28与TP53BP1协同作用合作调控p53依赖的转录作用^[33]; BRCA1亦是DDR通路中的重要信号分子, 它通过募集DNA损伤修复蛋白促进同源重组修复, 而DNA损伤响应分子ATM激酶蛋白通过磷酸化下游底物可以将DSB的信号传递给众多下游靶点^[34], 有研究表明, TP53BP1与BRCA1协同作用促进ATM激酶活性, 增强了ATM下游多种底物的磷酸化^[35]. 本研究组构建的TP53BP1相互作用蛋白网络很好地展示了这些分子之间的交互作用.

2.3 GO功能富集分析与通路分析

为了进一步解析TP53BP1相互作用蛋白组的功能信息,对这65个蛋白进行了GO富集分析和KEGG信号通路分析(图2)。生物过程(biological process, BP)富集分析结果显示,这65个蛋白主要作用在DNA复制、DSB修复、DNA代谢调节、DNA重组、细胞周期检查点、DNA完整性检查点、DNA损伤检查点、p53家族介导的信号转导等生物过程。细胞周期检查点的活化主要有两个控制激酶: ATM和ATR。ATM响应于DSB和染色质结构中断^[36], ATR主要响应于复制叉的停滞。这些激酶在信号转到级联中磷酸化下游靶标,最终导致细胞周期停滞。肿瘤的发生通常需要多步骤进程多年时间,通过DNA修复途径预防突变发生在避免致癌中起到关键的早期作用,DDR在随后也发挥重要作用^[37]。肿瘤发生往往伴随DNA损伤监视机制的下调、增加的遗传和表观遗传的不稳定性以实现不受控制的增殖和侵袭。GO分析结果印证了TP53BP1作为响应于DSB继而触发DDR的关键蛋白,可能是癌症发生发展中的重要抑制因子。进一步对与TP53BP1相互

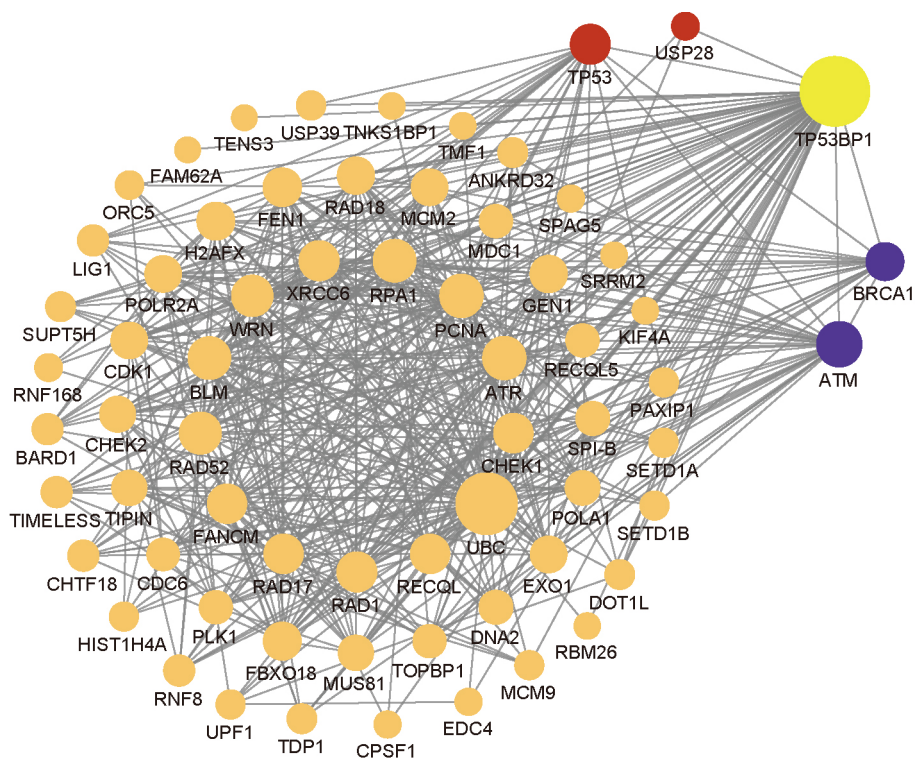


图 1 TP53BP1相互作用蛋白网络

圆点代表一种蛋白质,圆点之前的连线代表两个蛋白之间存在相互作用;圆点的大小取决于其相互作用数量

作用的65个蛋白进行KEGG通路分析(图3)可以得出相似的结论, TP53BP1相关的作用网络集中在细胞周

期、同源重组、错配修复、核苷酸切除修复等通路, 说明TP53BP1在维持DNA损伤后修复功能稳定、细

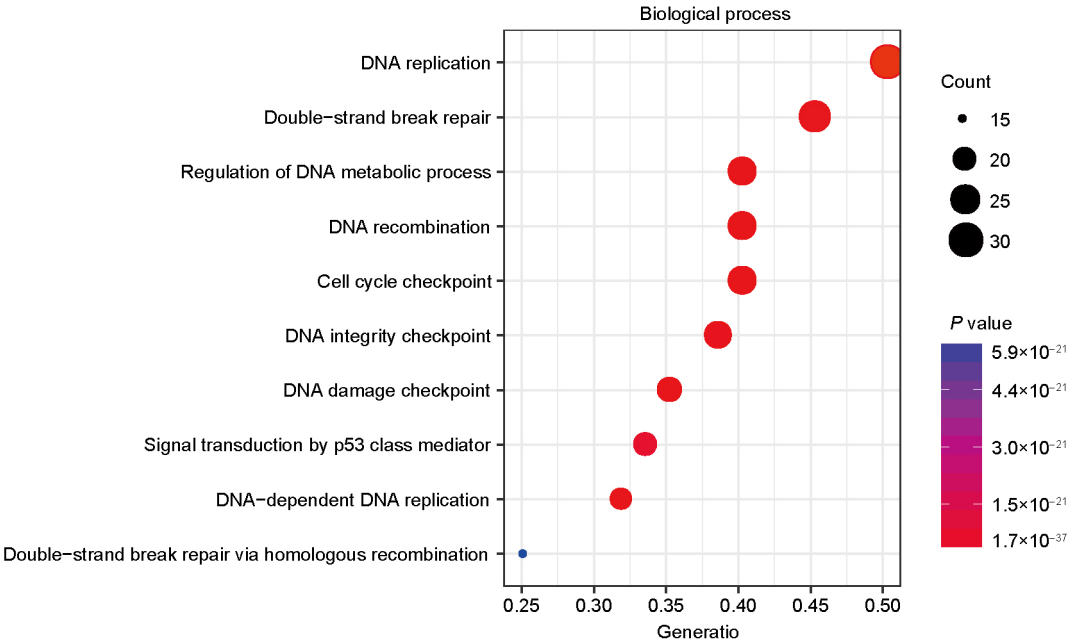


图2 GO功能富集分析

Count数值代表对应的生物过程中富集到的与TP53BP1相互作用的蛋白质组中蛋白质的个数. GeneRatio代表Count数值占总蛋白质数量的比率. 圆点的颜色代表P值的大小

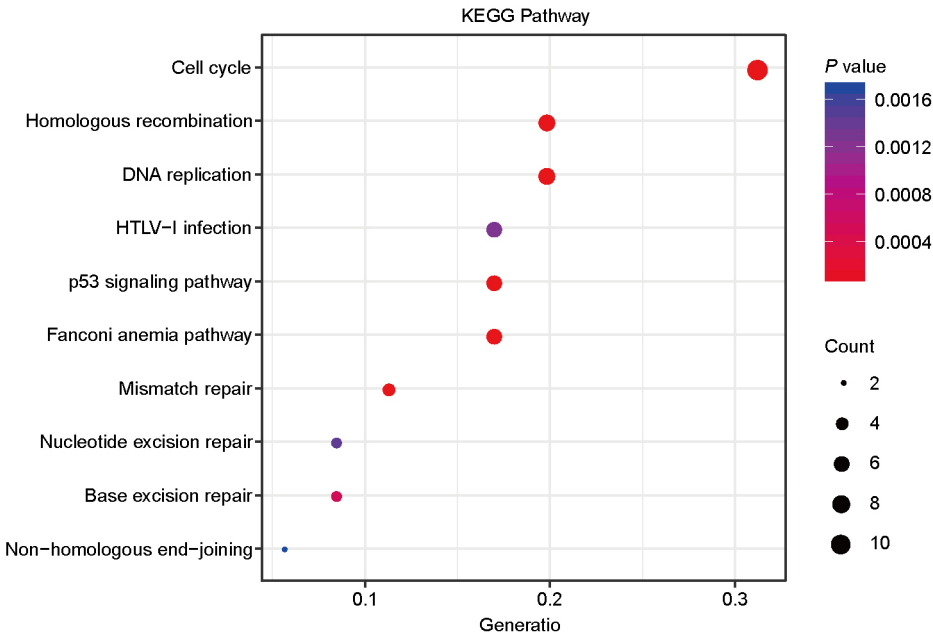


图3 KEGG通路分析

Count数值代表对应的通路中富集到的与TP53BP1相互作用的蛋白质组中蛋白质的个数. GeneRatio代表Count数值占总蛋白质数量的比率. 圆点的颜色代表P值的大小

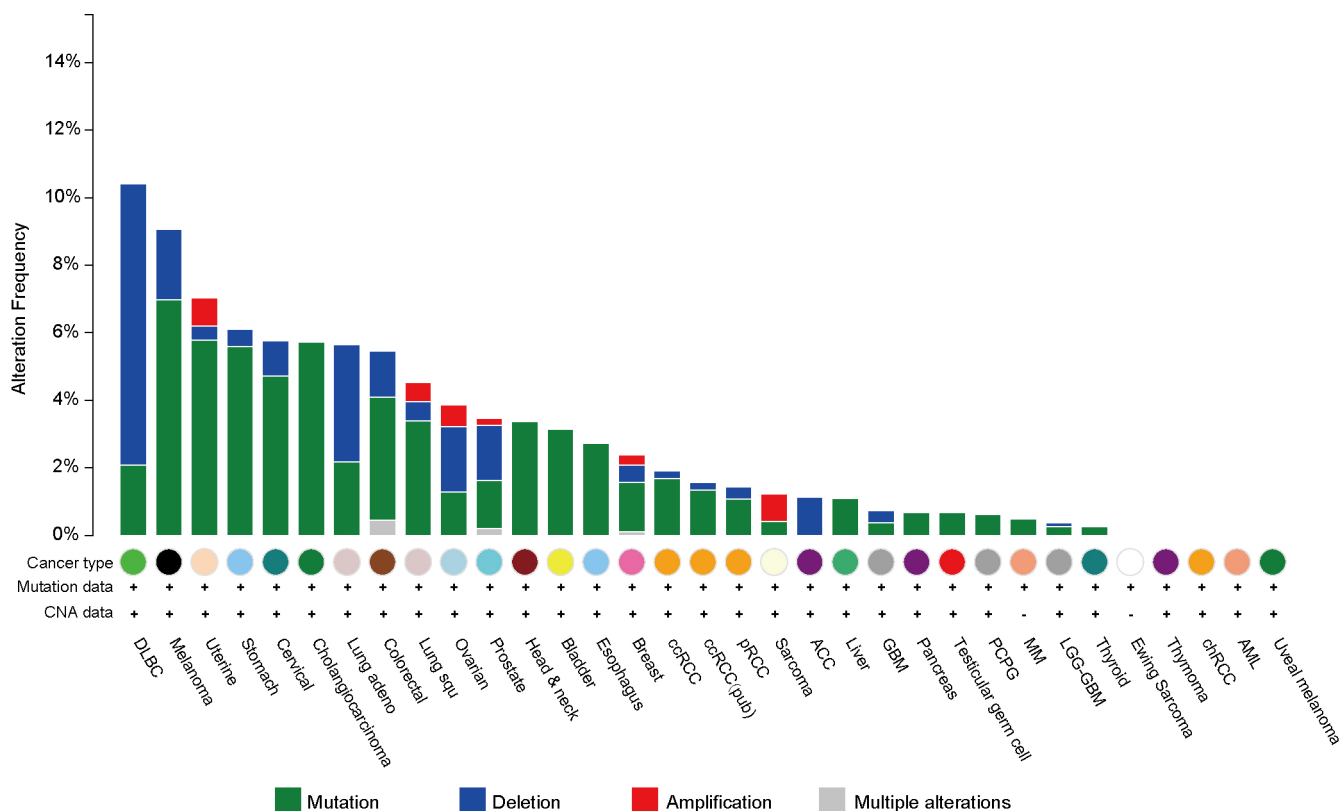


图 4 TCGA基因组数据分析

*TP53BP1*在各种肿瘤中相对于对应正常组织出现突变、缺失、扩增及复合型改变的频率

胞周期正常起着举足轻重的作用。

2.4 *TP53BP1*基因在不同肿瘤中的情况

如图4所示, TCGA数据分析显示, *TP53BP1*在弥漫性大B细胞淋巴瘤、黑色素瘤、子宫癌、胃癌、子宫颈癌、肺腺癌、胆管癌、结直肠癌、肺鳞状细胞癌、卵巢癌、前列腺癌、头颈部癌等类型肿瘤中相对于正常的对照同型组织出现不同程度的突变、缺失及扩增, 说明*TP53BP1*的功能缺失或(和)紊乱可能与癌症的发生发展有着紧密联系。

3 结论

本研究通过实验与数据库检索结合分析构建与*TP53BP1*相互作用的蛋白质网络, 功能富集分析了与*TP53BP1*相互作用蛋白群体, 发现与*TP53BP1*相互作

用的蛋白集中作用于DNA修复、细胞周期检查点等与DNA损伤修复、建立DNA损伤后DDR触发细胞周期停滞机制相关通路, 说明*TP53BP1*在以DNA损伤修复为基础预防突变发生以至于抑制癌变可能的事件中发挥了重要作用。进一步地通过分析TCGA数据库中*TP53BP1*在各种类型肿瘤中发生突变的频率, 发现*TP53BP1*在多数肿瘤类型中存在较高频率的突变及拷贝数变化, 证实了*TP53BP1*作为肿瘤抑制因子可能在肿瘤发生的前期发生突变或其他类型的功能失常的猜想。本文通过对与*TP53BP1*相互作用的蛋白质群体进行鉴定及功能分析, 更加全面地理解了*TP53BP1*自身的功能角色, 并且通过建立蛋白质相互作用网络直观的分析错综复杂的相互作用关系, 为研究其他蛋白质在肿瘤中的作用机制提供了一种简便而富有成效的方法。

参考文献

- 1 Petschnigg J, Snider J, Stagljar I. Interactive proteomics research technologies: recent applications and advances. *Curr Opin Biotech*, 2011, 22: 50–58
- 2 Lavin M F. Ataxia-telangiectasia: from a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 759–769
- 3 Yu G, Li F, Qin Y, et al. GOSemSim: an R package for measuring semantic similarity among GO terms and gene products. *Bioinformatics*, 2010, 26: 976–978
- 4 Asur S, Ucar D, Parthasarathy S. An ensemble framework for clustering protein protein interaction networks. *Bioinformatics*, 2007, 23: i29–i40
- 5 Charbonnier S, Gallego O, Gavin A C. The social network of a cell: recent advances in interactome mapping. *Biotechnol Annu Rev*, 2008, 14: 1–28
- 6 Suter B, Kittanakom S, Stagljar I. Interactive proteomics: what lies ahead? *Biotechniques*, 2008, 44: 681–691
- 7 Ivanov A A, Khuri F R, Fu H. Targeting protein-protein interactions as an anticancer strategy. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, 34: 393–400
- 8 Raman K. Construction and analysis of protein-protein interaction networks. *Autom Exp*, 2010, 2: 2
- 9 Golemis E. Protein-protein interactions—a molecular cloning manual. *Proteomics*, 2002, 2: 1634–1635
- 10 Bader G D, Betel D, Hogue C W. BIND: the biomolecular interaction network database. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 248–250
- 11 Bowers P M, Pellegrini M, Thompson M J, et al. Prolinks: a database of protein functional linkages derived from coevolution.. *Genome Biol*, 2004, 5: R35
- 12 von Mering C, Jensen L J, Snel B, et al. STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33: D433–D437
- 13 Jensen L J, Kuhn M, Stark M, et al. STRING 8—a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms. *Nucleic Acids Res*, 2008, 37: D412–D416
- 14 Panier S, Boulton S J. Double-strand break repair: 53BP1 comes into focus. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 7–18
- 15 Zimmermann M, de Lange T. 53BP1: prochoice in DNA repair. *Trends Cell Biol*, 2014, 24: 108–117
- 16 Drané P, Brault M E, Cui G, et al. TIRR regulates 53BP1 by masking its histone methyl-lysine binding function. *Nature*, 2017, 543: 211–216
- 17 Yao J, Huang A, Zheng X, et al. 53BP1 loss induces chemoresistance of colorectal cancer cells to 5-fluorouracil by inhibiting the ATM-CHK2-P53 pathway. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143: 419–431
- 18 Bouwman P, Aly A, Escandell J M, et al. 53BP1 loss rescues BRCA1 deficiency and is associated with triple-negative and BRCA-mutated breast cancers. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 688–695
- 19 Farmer H, McCabe N, Lord C J, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*, 2005, 434: 917–921
- 20 Bunting S F, Callén E, Wong N, et al. 53BP1 inhibits homologous recombination in Brca1-deficient cells by blocking resection of DNA breaks. *Cell*, 2010, 141: 243–254
- 21 Daley J M, Sung P. 53BP1, BRCA1, and the choice between recombination and end joining at DNA double-strand breaks. *Mol Cell Biol*, 2014, 34: 1380–1388
- 22 Bohgaki M, Bohgaki T, El Ghamrasni S, et al. RNF168 ubiquitylates 53BP1 and controls its response to DNA double-strand breaks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 20982–20987
- 23 Wang Y, Yue D, Xiao M, et al. C1QBP negatively regulates the activation of oncoprotein YBX1 in the renal cell carcinoma as revealed by interactomics analysis. *J Proteome Res*, 2015, 14: 804–813
- 24 Kohl M, Wiese S, Warscheid B. Cytoscape: software for visualization and analysis of biological networks. *Methods Mol Biol*, 2011, 696: 291–303
- 25 Yu G, Wang L G, Han Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS*, 2012, 16: 284–287
- 26 Knobel P A, Belotserkovskaya R, Galanty Y, et al. USP28 is recruited to sites of DNA damage by the tandem BRCT domains of 53BP1 but plays a minor role in double-strand break metabolism. *Mol Cell Biol*, 2014, 34: 2062–2074
- 27 Popuri V, Ramamoorthy M, Tadokoro T, et al. Recruitment and retention dynamics of RECQL5 at DNA double strand break sites. *DNA Repair*, 2012, 11: 624–635
- 28 Azzalin C M, Lingner J. The human RNA surveillance factor UPF1 is required for S phase progression and genome stability. *Curr Biol*, 2006, 16: 433–439
- 29 Zou L H, Shang Z F, Tan W, et al. TNKS1BP1 functions in DNA double-strand break repair though facilitating DNA-PKcs autophosphorylation dependent on PARP-1. *Oncotarget*, 2015, 6: 7011–7022
- 30 Iwabuchi K, Bartel P L, Li B, et al. Two cellular proteins that bind to wild-type but not mutant p53. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 6098–6102
- 31 Toledo F, Wahl G M. Regulating the p53 pathway: *in vitro* hypotheses, *in vivo* veritas. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 909–923

- 32 Vousden K H, Prives C. Blinded by the light: the growing complexity of p53. *Cell*, 2009, 137: 413–431
- 33 Cuella-Martin R, Oliveira C, Lockstone H E, et al. 53BP1 integrates DNA repair and p53-dependent cell fate decisions via distinct mechanisms. *Mol Cell*, 2016, 64: 51–64
- 34 Lavin M F. Ataxia-telangiectasia: from a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 759–769
- 35 Lee J H, Goodarzi A A, Jeggo P A, et al. 53BP1 promotes ATM activity through direct interactions with the MRN complex. *EMBO J*, 2010, 29: 574–585
- 36 Bakkenist C J, Kastan M B. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*, 2003, 421: 499–506
- 37 Jeggo P A, Pearl L H, Carr A M. DNA repair, genome stability and cancer: a historical perspective. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16: 35–42

Construction of protein-protein interaction network of TP53BP1 by affinity purification mass spectrometry and bioinformatic analysis

WANG Hao, WANG ChunQing & CHEN RuiBing

Department of Genetics, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Protein-protein interactions (PPIs) are the specific physical interactions between two or more proteins through electrostatic attraction and/or van der Waals forces. Cellular proteins exert their different biological roles through dynamic PPIs. Abnormal PPIs may lead to the development of various diseases, such as cancer. Therefore, to study the interactome of the key regulatory proteins closely associated with different diseases is crucial to better understand their functions and also the underlying molecular mechanisms. In this study, we investigated the interactome of TP53-binding protein 1 (TP53BP1) by combining affinity purification mass spectrometry (AP-MS) identification and bioinformatic analysis. As a result, 15 potential TP53BP1 binding proteins were identified by AP-MS, and an interactome network containing 65 nodes were constructed. Gene Ontology analysis and pathway analysis of the proteins in the network was performed to further analyze the biological functions of TP53BP1 and its roles in the regulation of cancer.

TP53BP1, PPIs, GO analysis, affinity purification mass spectrometry

doi: [10.1360/N052017-00147](https://doi.org/10.1360/N052017-00147)