

V10 Protein-Protein-Interaktionsnetzwerke

Rückblick (V7): Arten von PP-Interaktionen:

Homo-Oligomere vs. Hetero-Oligomere

Homo-Oligomere bestehen aus mehreren identischen Einheiten und werden z.B. von Ionen-Kanälen oder Rezeptoren gebildet

Stabile vs. Transiente Komplexe

Stabil: Ribosom, RNA-Polymerase, ...

Transient: Redox-Partner, Signaltransduktion

Obligate vs. Nicht-obligate Komplexe:

obligat (-> obligatorisch): Komponenten liegen in der Zelle nur als Komplex vor

nicht-obligat: Komponenten existieren in der Zelle ebenfalls im freien Zustand (z.B. Antikörper)

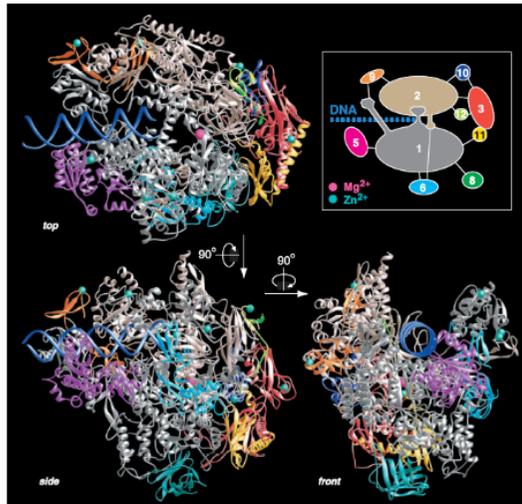
Kovalente vs. Nicht-kovalente Komplexe

Kovalente: z.B. Ubiquitin-modifizierte Proteine

Nicht-kovalent: ist der übliche Fall

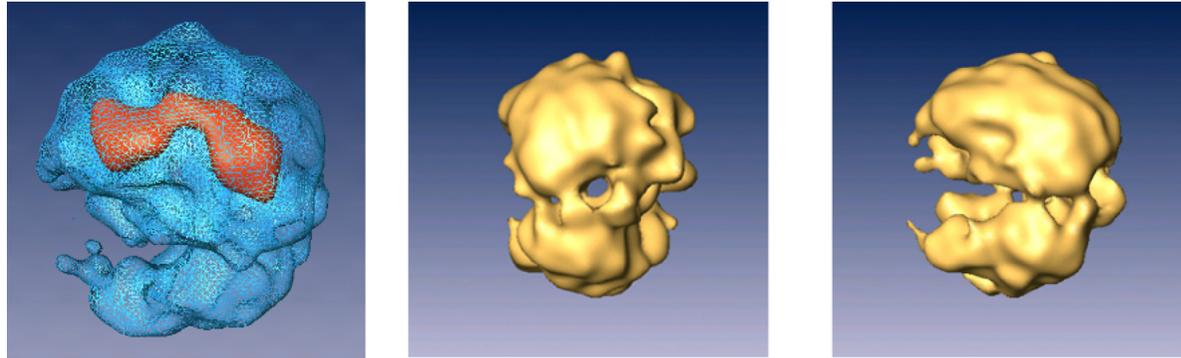
Beispiele für wichtige Proteinkomplexe

RNA Polymerase II



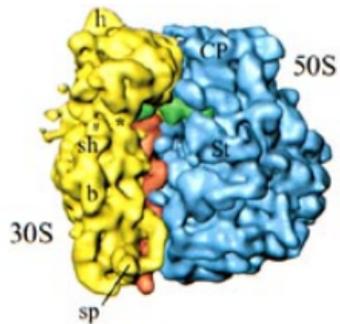
Cramer et al., Science 288, 640 (2000)

Spliceosome



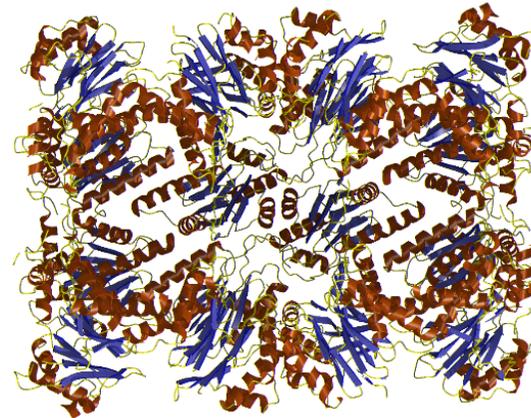
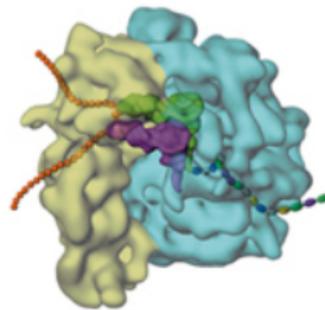
<http://www.weizmann.ac.il/>

Ribosom



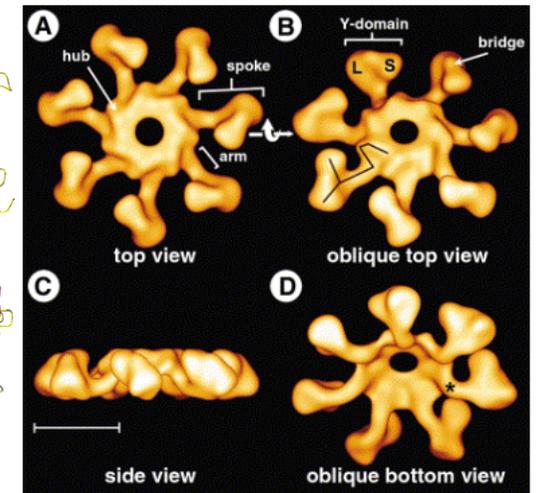
<http://www.millerandlevine.com/chapter/12/cryo-em.html>

Proteasome



<http://www.biochem.mpg.de>

Apoptosom



Acehan et al. Mol. Cell 9, 423 (2002)

Proteininteraktionsnetzwerke

The screenshot displays the Cytoscape Desktop interface (Session: humanANDmouseIntact.cys) with several panels:

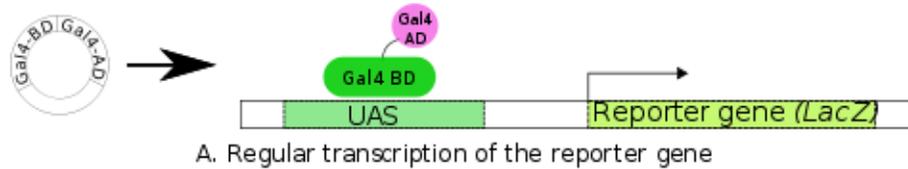
- Control Panel:** Contains a table of network data and an 'Import Network From Database' section.
- Network Table:**

Network	Nodes	Edges
Mouse Interactome from IntAct	3007(1)	5825(136)
Human Interactome from IntAct	8578(52)	30491(817)
MCODE Result 1: Cluster 1	4(0)	69(0)
MCODE Result 1: Cluster 3	131(0)	161(0)
MCODE Result 1: Cluster 13	52(0)	406(0)
- Import Network From Database:** Shows search steps for 'TP53' in 'All Organisms', listing examples like 'TP53, MICAL1, or SRY' and a list of pathways such as 'p53-independent G...', 'G2/M Checkpoints', and 'DNA Repair'.
- Main View:** Displays a large network graph with nodes and edges, and a zoomed-in view of a specific cluster with nodes labeled Q00987, Q93009, and P04637.
- Results Panel:** Shows 'Cluster Browser' results for MCODE Result 1, listing clusters with their Rank, Score, Nodes, and Edges.
- Data Panel:** Shows a table with columns ID, MI, and ensembl, containing the entry P62158 [0499] [ENSG00000143933, ENSG00000160014, EN...].

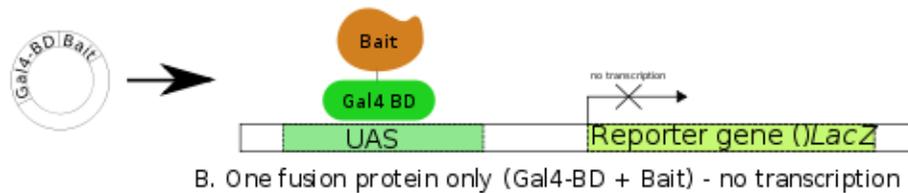
At the bottom, there are navigation instructions: 'Welcome to Cytoscape 2.6.0', 'Right-click + drag to ZOOM', and 'Middle-click + drag to PAN'. The word 'Screenshots' is overlaid in the bottom right corner.

Detektiere PP-Interaktionen: Yeast Two-Hybrid Methode

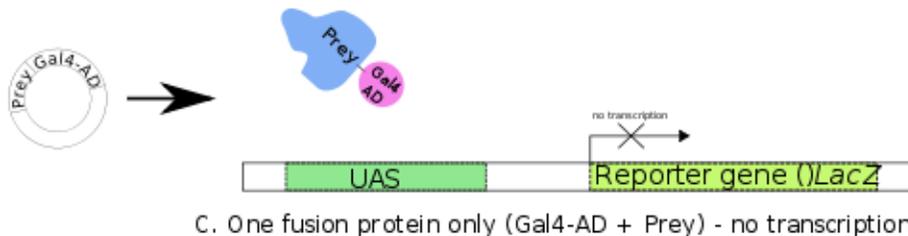
Ziel: entdecke binäre PPIs zwischen einem "bait" Protein (*dt. Köder*) und einem "prey" Protein (*dt. Beutetier*), die "physikalisch", d.h. direkt miteinander wechselwirken.



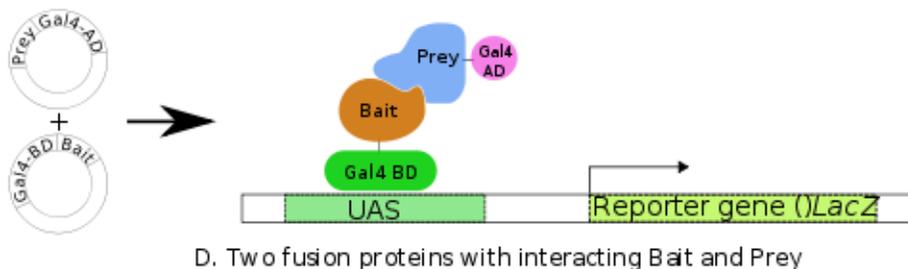
Gegeben: Transkriptionsfaktor, der ein Reporter-Gen reguliert, besteht aus einer DNA-bindenden Domäne (BD) und einer Aktivator-domäne (AD)



Unterbreche kovalente Verbindung BD-AD; verbinde bait (orange) mit BD und prey (grün) mit AD → Expression findet nur statt, wenn bait:prey-Komplex gebildet wird



Man kann das normale Reporter-Gen (hier lacZ) auch durch ein GFP-Gen ersetzen. Dann kann man erfolgte Transkription, d.h. Bindung von bait:prey-Komplex als Fluoreszenz detektieren.



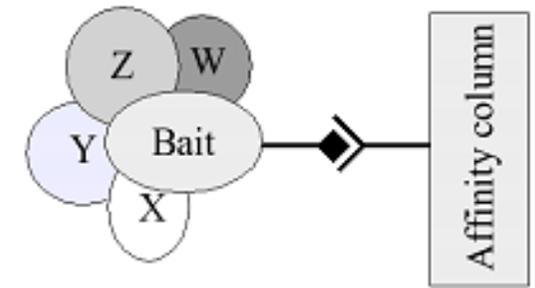
Tandem affinity purification (also „pull-down“)

Yeast 2-Hybrid-Methode kann nur binäre Komplexe identifizieren.

In der **Affinitäts-Aufreinigung** wird ein bestimmtes Protein (bait) mit einem molekularen Label verbunden (dunkle Route in Abb.) um dessen Aufreinigung zu erleichtern.

Das so “ge-taggte” Protein wird dann in einer Affinitätssäule aus der Lösung herausgefischt, zusammen mit allen interagierenden Partnern (W, X, Y, Z).

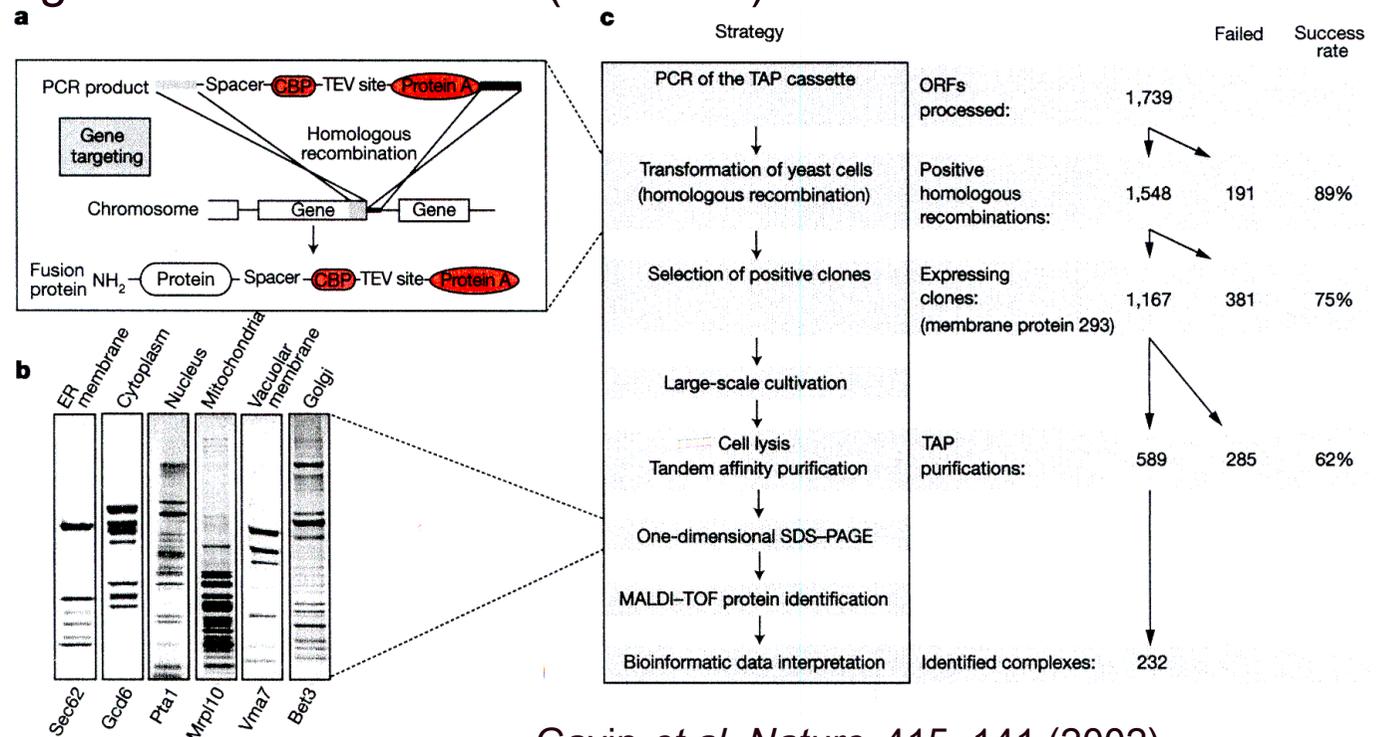
Diese Strategie kann man genomweit anwenden (wie Y2H).



Hier gezeigt:
Anwendung für
S. cerevisiae.

Identifiziere Proteine in
Gelbanden mittels
Massenspektrometrie.

Label unten: bait-Protein
Jede Bahn entspricht einem
Komplex



Gavin *et al.* Nature 415, 141 (2002)

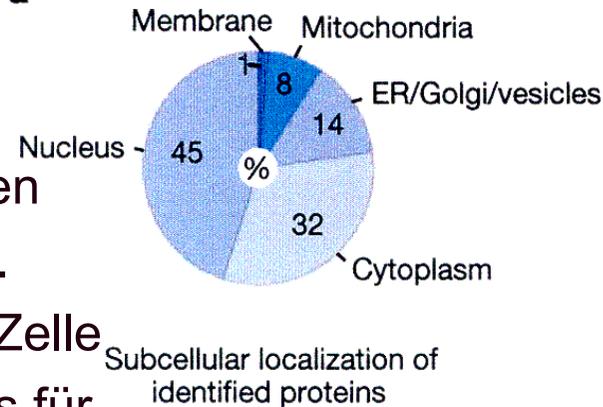
TAP-Analyse für PP-Komplexe in *S. cerevisiae*

Identifiziere Proteine durch die Massen ihrer Peptid-fragmente.

(a) listet die an Komplexen beteiligten Proteine bzgl. ihrer Lokalisation in der Zelle -> es scheint keinen Bias für bestimmte

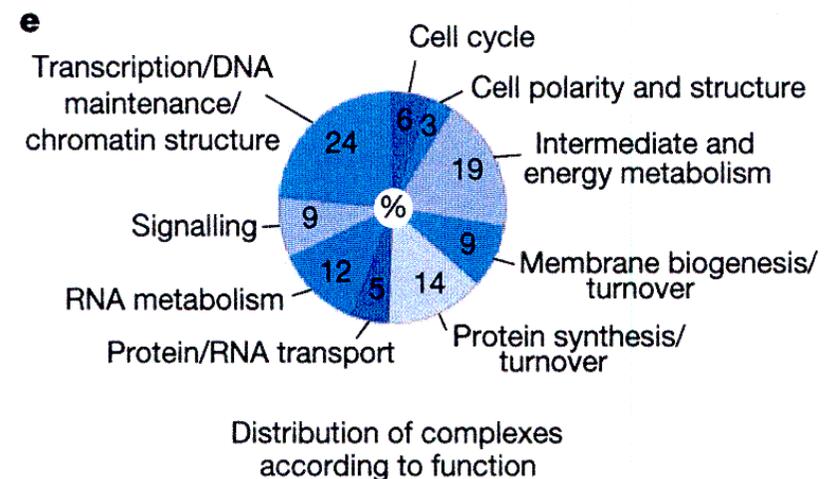
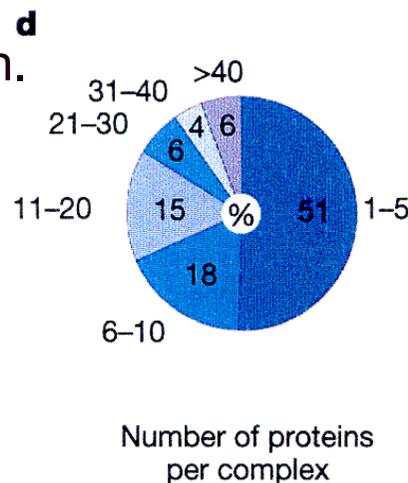
Kompartments zu geben.

Allerdings findet man nur wenig Membranproteine (Anteil sollte ca. 25% sein)



(d) die Hälfte aller PP-Komplexe hat 1-5 Mitglieder, die andere Hälfte ist grösser.

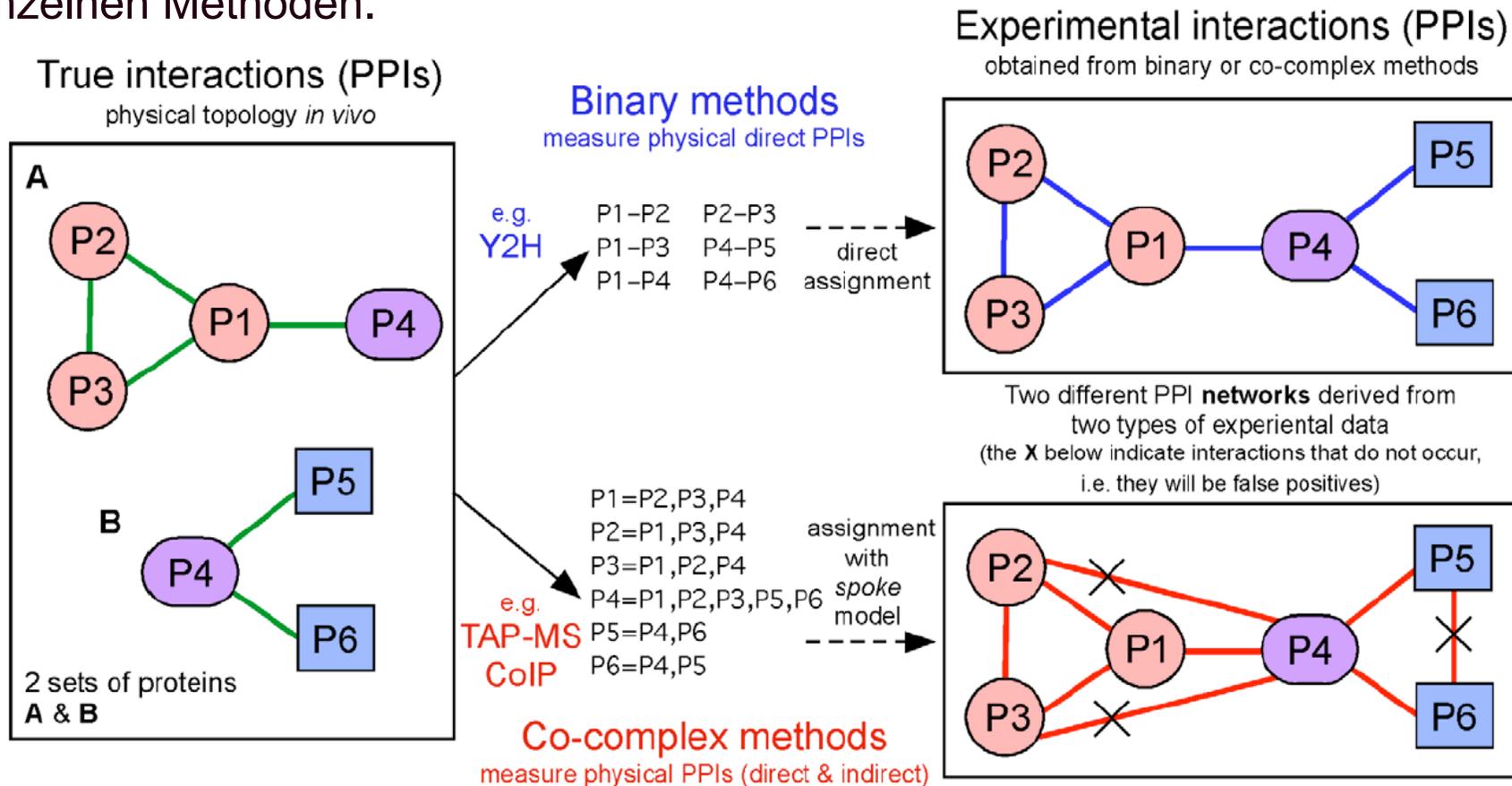
(e) PP-Komplexe sind an praktisch allen zellulären Prozessen beteiligt.



Gavin *et al.* *Nature* 415, 141 (2002)

Protein-Interaktionsnetzwerke

Unterschiedliche experimentelle Techniken messen verschiedene Eigenschaften von Proteinkomplexen. Das sind keine Messfehler, sondern Eigenheiten der einzelnen Methoden.



In der Probe gibt es zwei Arten von Komplexen, A und B

Ergebnis der Messung für diese Probe.

„Logische“ Interpretation der Messergebnisse.

De Las Rivas, PLOS Comp Biol. 6, e1000807 (2010)

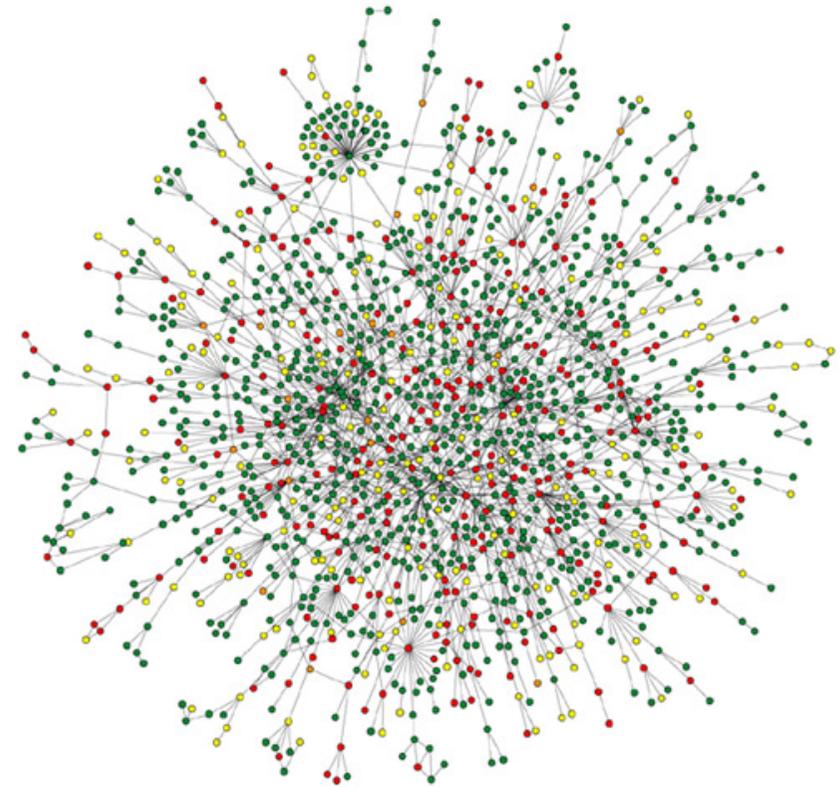
Globales Protein-Interaktionsnetzwerk in *S. cerevisiae*

Abb. zeigt das Protein–Protein Interaktionsnetzwerk in *Saccharomyces cerevisiae*, basierend auf **yeast two-hybrid** Experimenten.

Jeder Knoten (Kreis): bestimmtes Protein
Verbindungen/Kanten: physikalische Interaktionen.

Das Netzwerk wird von einigen Knoten mit sehr vielen Verbindungen zusammengehalten. Diese nennt man **Hubs**.

Dieser größte Cluster enthält 78% aller Proteine der Zelle.



Nature Reviews | Genetics

Rot: Gendeletion ist tödlich

Grün: Gendeletion ist nicht tödlich

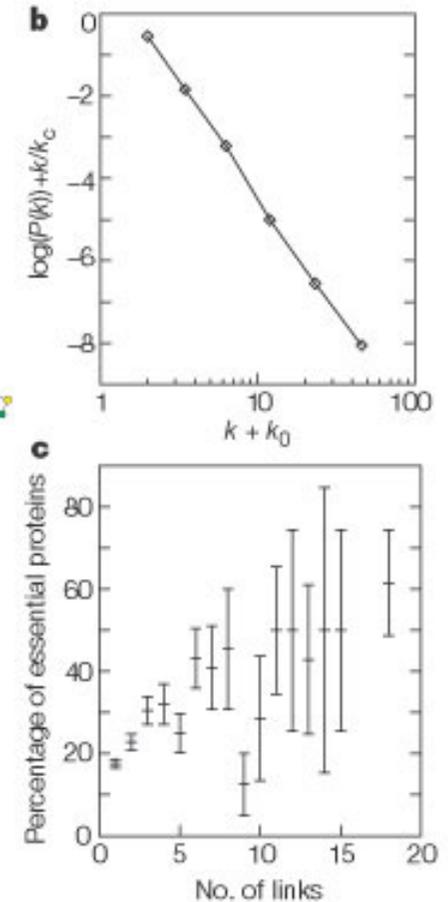
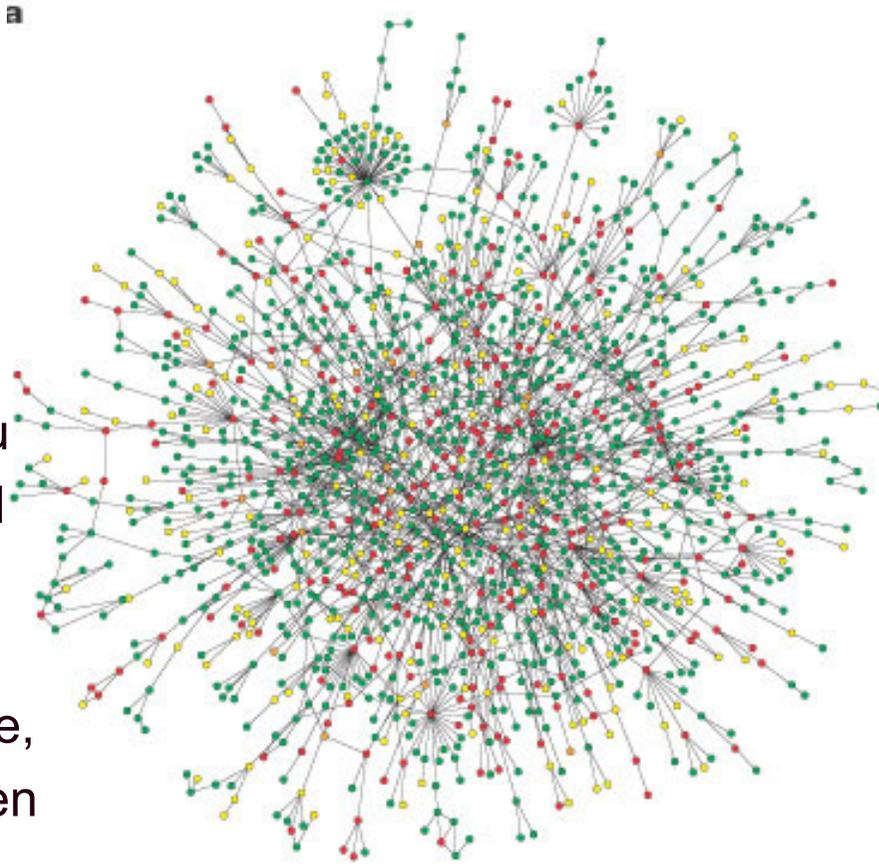
Gelb: Effekt der Gendeletion ist unbekannt.

Barabasi & Oltvai, Nature Rev Gen 5, 101 (2004)

Welche Proteindeletionen sind tödlich?

(b) Die Häufigkeit von Hub-Proteinen mit k Interaktionen nimmt nicht exponentiell ab (wie man dies in einem Zufallsnetzwerk erwartet), sondern etwa proportional zu $1/k^2$ oder $1/k^3$, ist also viel häufiger als zufällig erwartet.

(c) Die Deletion solcher Gene, die für Hub-Proteine mit vielen Links kodieren (und im Plot rechts liegen), ist eher **tödlich** für die Zelle als die Deletion von Proteinen, die mit wenigen anderen Proteinen interagieren (links im Plot).



„essentielle“ Proteine: Zelle ist nicht lebensfähig ohne diese Proteine

H. Jeong, S. P. Mason, A.-L. Barabási and Z. N. Oltvai

Nature **411**, 41-42

Wieviele Proteininteraktionen gibt es

S. cerevisiae

BioGrid (www.thebiogrid.org): 91,651 nicht-redundante physikalische Interaktionen von 6367 Hefe-Proteinen (August 2017).

Mentha (<http://mentha.uniroma2.it/>): 106,683 Interaktionen.

PrePPI (<https://bhapp.c2b2.columbia.edu/PrePPI/>).
(bioinformatisch integrativ kompilierter Datensatz):
60000 Interaktionen mit hoher Zuverlässigkeit

Mensch

Mentha: 277,371 physikalische Interaktionen zwischen 18,506 menschlichen Proteinen.

PrePPI: 1.35 Millionen vorhergesagte Interaktionen.
Für 127,000 davon gibt es experimentelle Bestätigung der direkten Interaktion.

In-Silico Vorhersagemethode

Sequenz-basiert:

- Gen-clustering
- Gen-Nachbarschaft
- Rosetta stone
- phylogenetisches Profiling
- Ko-Evolution

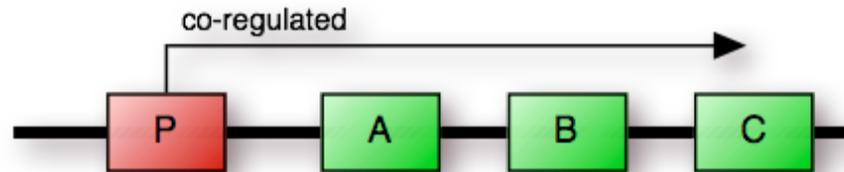


Struktur-basiert:

- interface propensities (V7)
- Protein-Protein Docking (V7)
- 3D-Simulationen (z.B. MD)

Gen-Clustering

Idee: funktionell **verwandte** Proteine oder Teile eines Komplexes werden **gleichzeitig** exprimiert



Suche nach Genen mit einem **gemeinsamen Promoter**

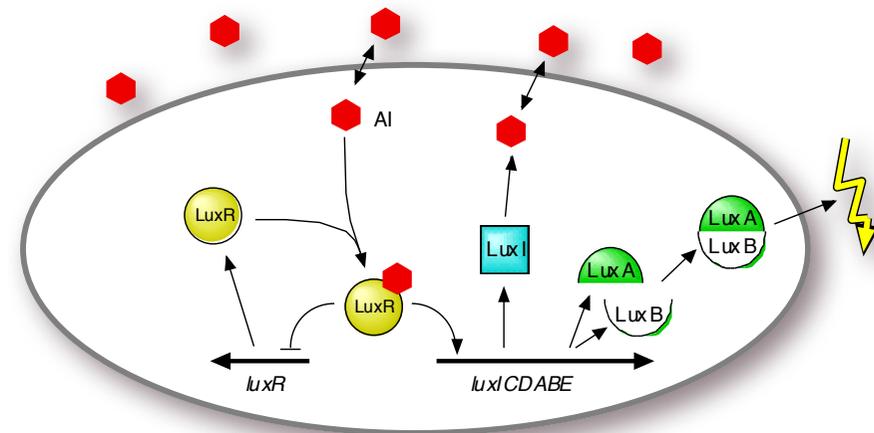
→ wenn aktiviert, werden alle gemeinsam als ein *Operon* transkribiert

Beispiel:

Biolumineszenz in *V. fischeri* wird durch Quorum sensing reguliert

→ 3 Proteine I, AB, CDE sind dafür verantwortlich.

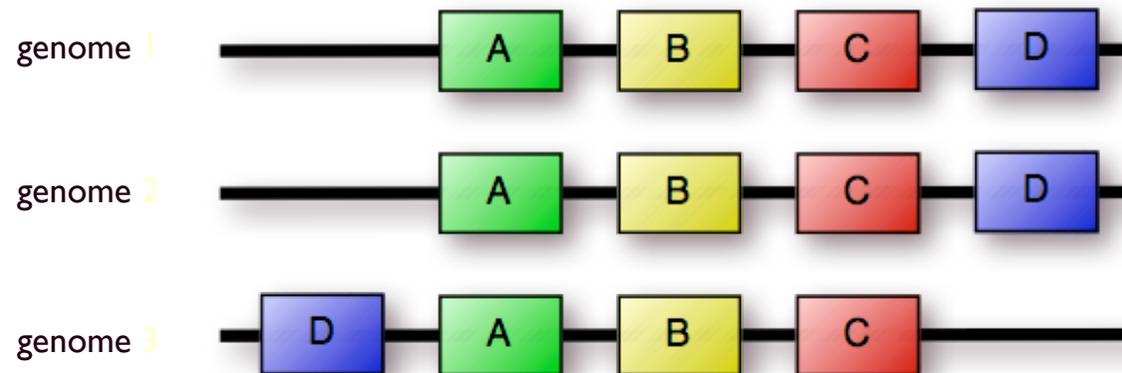
Sie sind als 1 Operon namens ¹²*luxICDABE* organisiert.



Gen-Nachbarschaft

Hypothese: funktionell **verwandte** Gene werden **gemeinsam exprimiert**

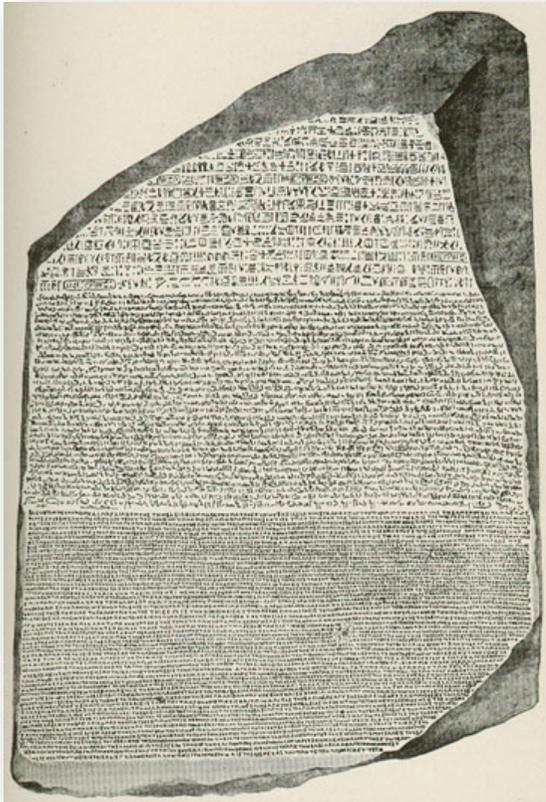
"funktionell verwandt" heißt gleicher {Komplex | Pfad | Funktion | ...}



→ Suche nach **ähnlicher Anordnung** der verwandten Gene in **verschiedenen Organismen**

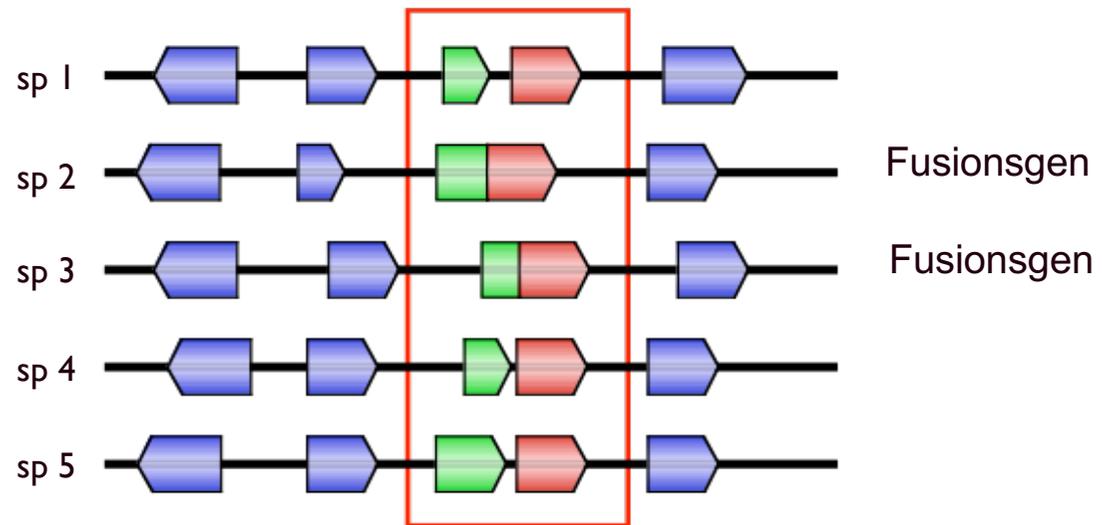
(<=> Gen-Clustering: in einem Organismus, Promoter müssen bekannt sein

Rosetta Stein Methode



Mehrsprachige Stele aus 196 v.Chr.,
wurde 1799 gefunden.
Auf dem Stein steht derselbe Text in 3
Sprachen: Hieroglyphen, demotische
Schrift, griechisch
→ Schlüssel um Bedeutung der
Hieroglyphen zu entschlüsseln

Idee: finde homologe Gene ("**Worte**") in den Genomen
verschiedener Organismen ("**Texte**")
- Überprüfe, ob ein Organismus ein Fusions-Gen enthält
→ Kann darauf hindeuten, dass die beiden Proteine einen
Komplex bilden

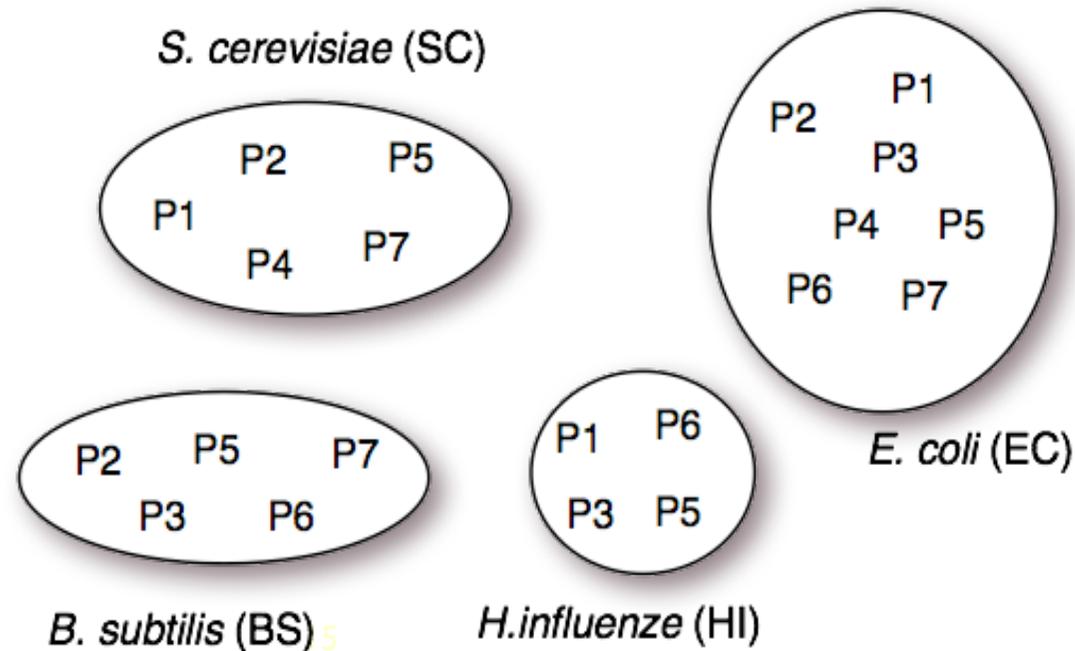


Enright, Ouzounis (2001):
40000 vorhergesagte paarweise Interaktionen
in 23 Spezies

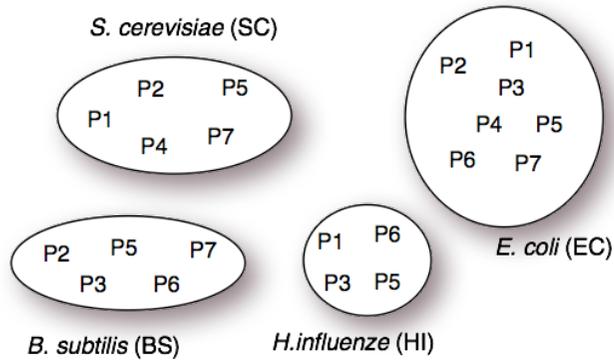
Phylogenetisches Profiling

Idee: entweder **alle** oder **kein** Protein eines Komplexes sollten in einem Organismus vorkommen

→ Vergleiche Vorkommen homologer Proteine zwischen Spezies
(z.B. mit Sequenzalignment)



Distanzen in Phylogenetischem Profiling

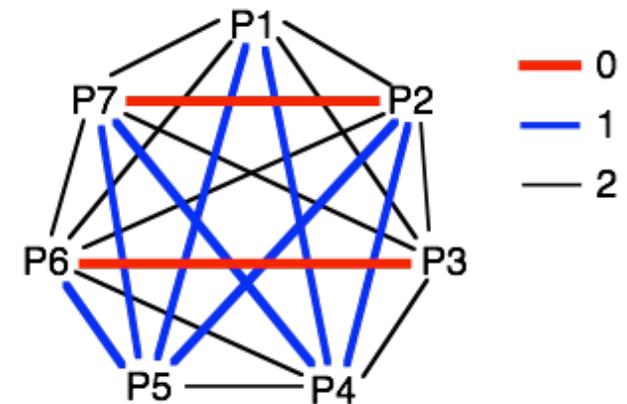


Kodierte Vorkommen/Abwesenheit

	EC	SC	BS	HI
P1			0	
P2				0
P3		0		
P4			0	0
P5				
P6		0		
P7				0

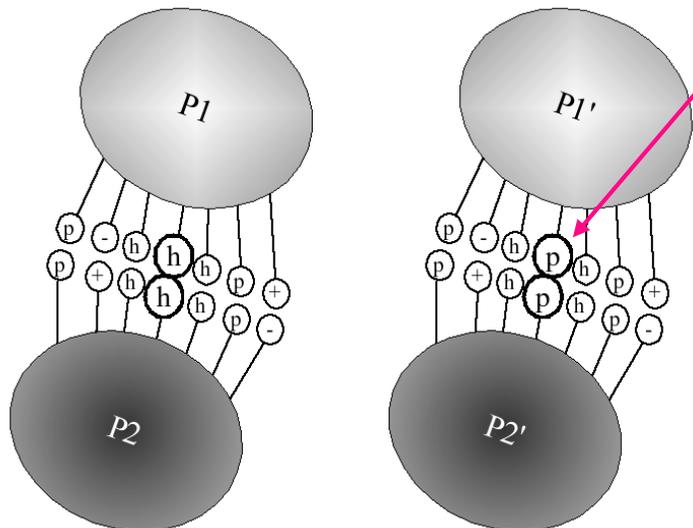
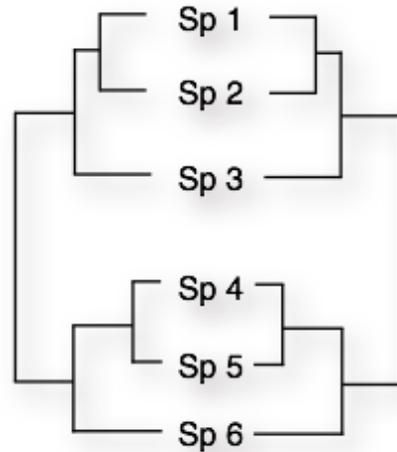
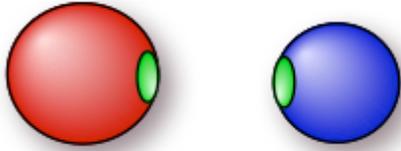
Hamming-Distanz zwischen Spezies: Anzahl an unterschiedlichem Vorkommen

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
P1	0	2	2			2	2
P2		0	2			2	0
P3			0	3		0	2
P4				0	2	3	
P5					0		
P6						0	2
P7							0



Paare mit ähnlichem Vorkommen sind: P2-P7 und P3-P6

Dies sind Kandidaten für Protein-Interaktionen.



Ko-Evolution

Bindungsschnittstellen von Komplexen sind nur **leicht stärker konserviert** als die restliche Proteinoberfläche.

Idee von Pazos & Valencia (1997):

Falls an einer Schnittstelle eine Mutation auftritt, die den Charakter der Aminosäure ändert

(z.B. hydrophob/hydrophob in P1/P2 -> polar/polar in P1'/P2'),

sollten an dem anderen Interface korrespondierende Mutationen an den Positionen auftreten, die mit der ersten Aminosäure Kontakte bilden.

Die Suche nach solchen korrelierten Mutationen kann dabei helfen, Bindungskandidaten zu finden.

korrelierte Mutationen

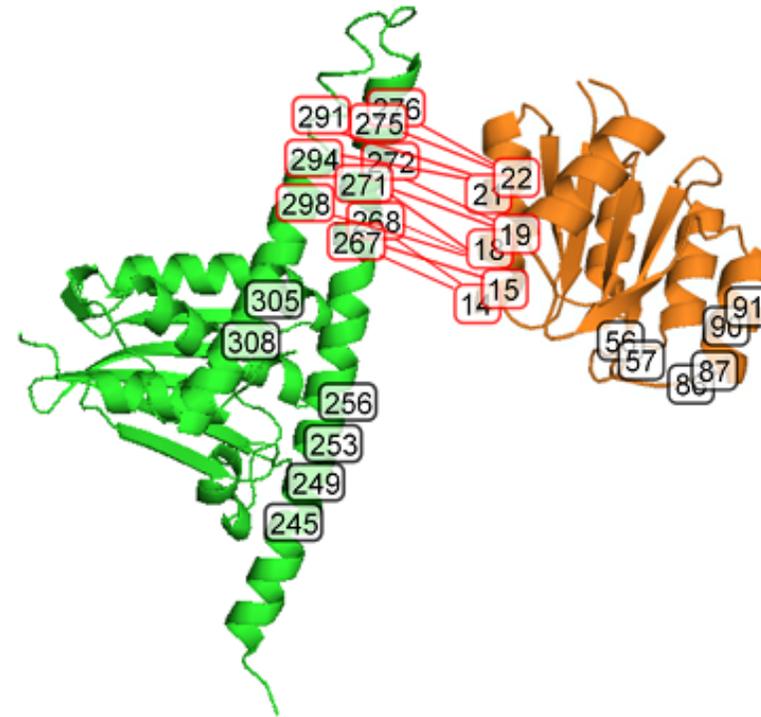
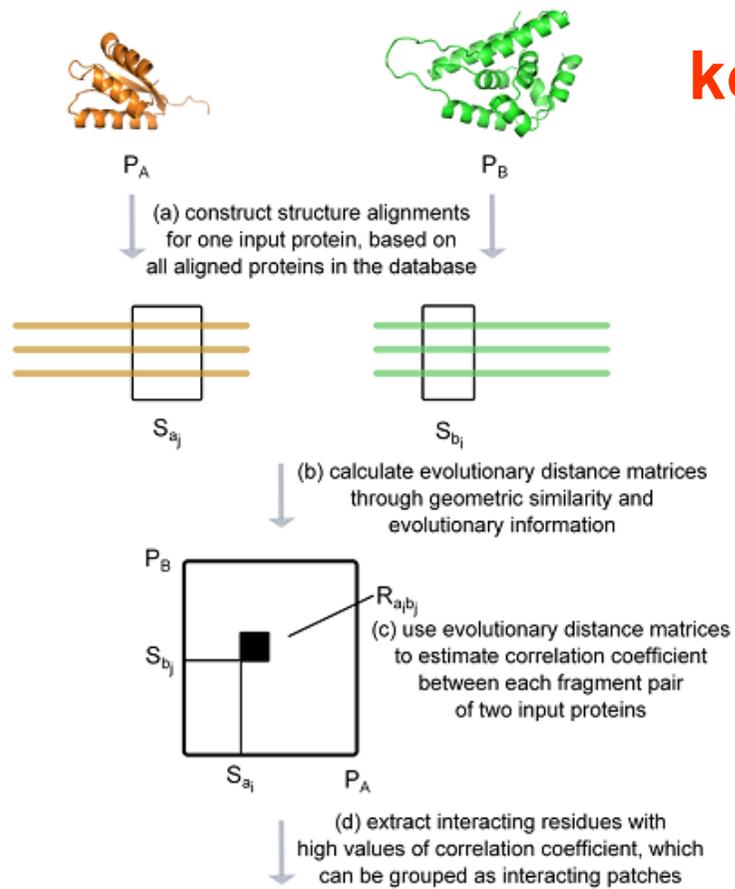


Figure 3. Our method detects correlated residues on SK/RR interaction. Interface residues are indicated in red boxes, and non-interface residues are indicated in black boxes.

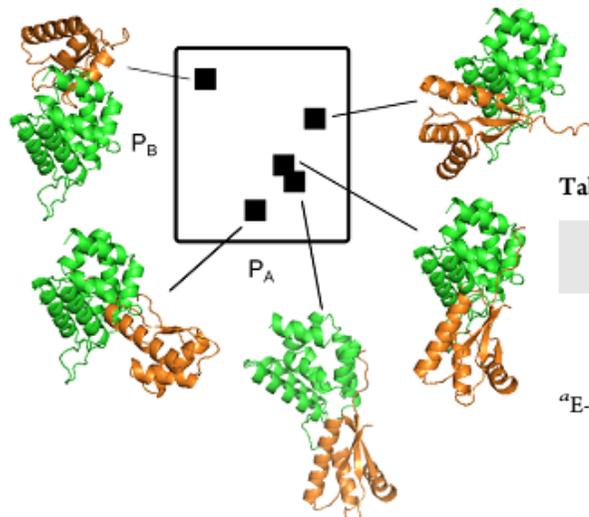


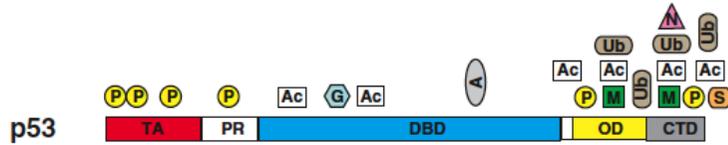
Table 6. Comparison to metaPPI, meta-PPISP, and PPI-Pred

type	our method		metaPPI		meta-PPISP		PPI-Pred	
	Acc	Cov	Acc	Cov	Acc	Cov	Acc	Cov
E-I ^a	73%	65%	61%	37%	56%	55%	46%	47%
others	55%	57%	41%	22%	39%	26%	29%	31%
overall	63%	61%	49%	28%	46%	38%	36%	38%

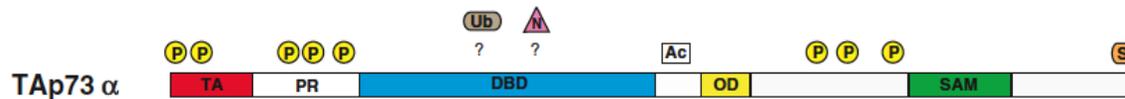
^aE-I is type of enzyme-inhibitor.

Guo et al. J. Chem. Inf. Model. 2015, 55, 2042–2049

Beispiel: das wichtige p53-Protein / post-translationale Modifikationen



p53 („der Wächter der Zelle“) ist ein Transkriptionsfaktor, der ggfs. den Zelltod bzw. die DNA-Reparatur einleitet.



p53 ist bei der Hälfte aller Krebsfälle mutiert, siehe auch Vorlesung V7.



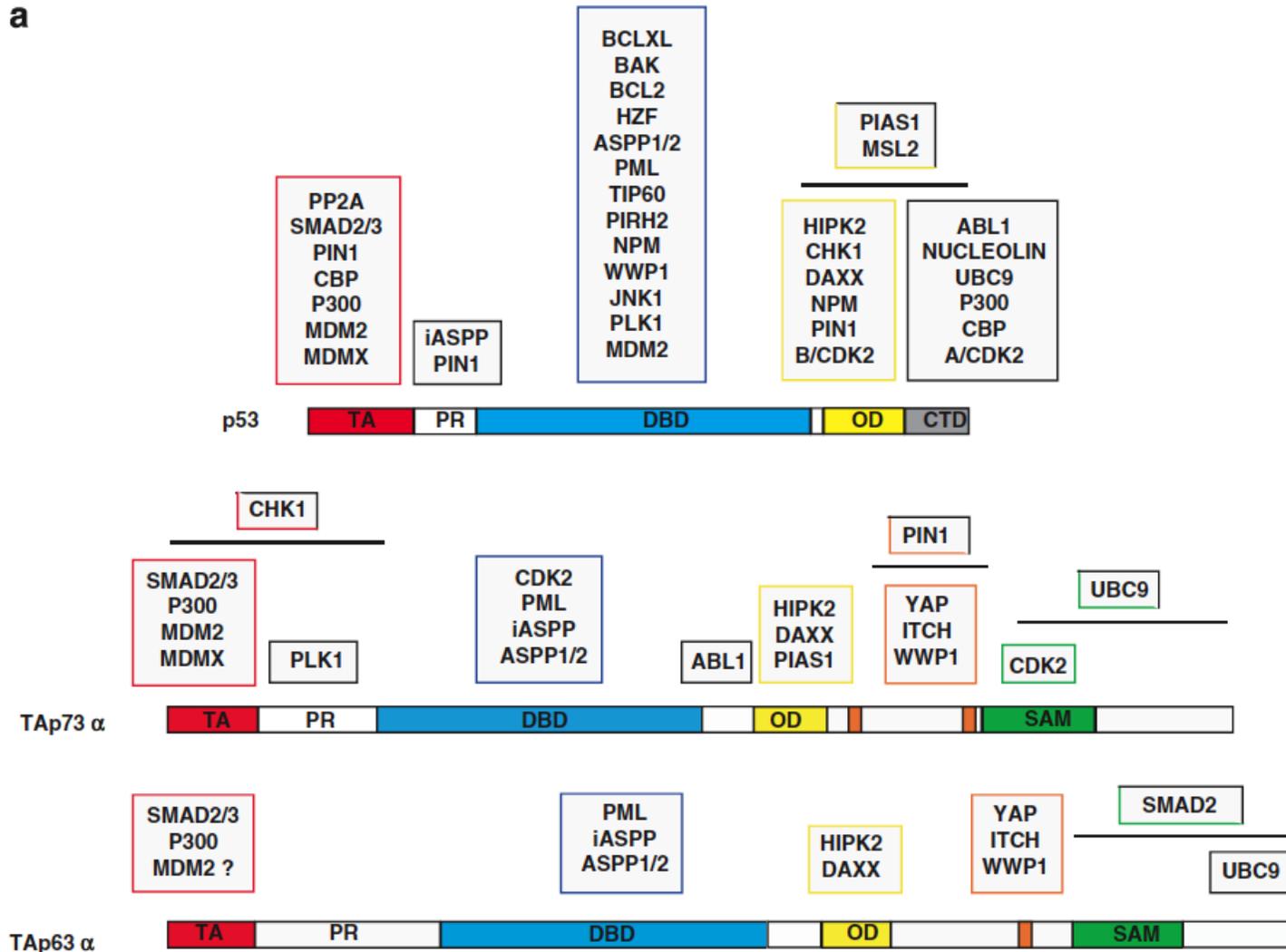
p53 hat im Menschen 2 Verwandte: p63 und p73 mit ähnlichem Domänen-Aufbau.

- | | |
|------------------------------|-----------------|
| Acetylation | Phosphorylation |
| Methylation | Neddylation |
| SUMOylation | Ubiquitination |
| O-linked N-Acetylglucosamine | |
| poly (ADP-ribose) | |

DBD: DNA binding domain

Collavin et al. Cell Death and Differentiation (2010) 17, 901–911

Proteininteraktionen von p53, p63 und p73



Von p53 ist bekannt, dass es mit 300 Proteinen in der Zelle interagiert.

MDM2 ist ein wichtiger Inhibitor von p53.

Die Interaktionen von p63 und p73 wurden bislang weniger intensiv untersucht.

PP-Interaktionen werden oft durch post-translationale Modifikationen beeinflusst.

Collavin et al. Cell Death and Differentiation (2010) 17, 901–911

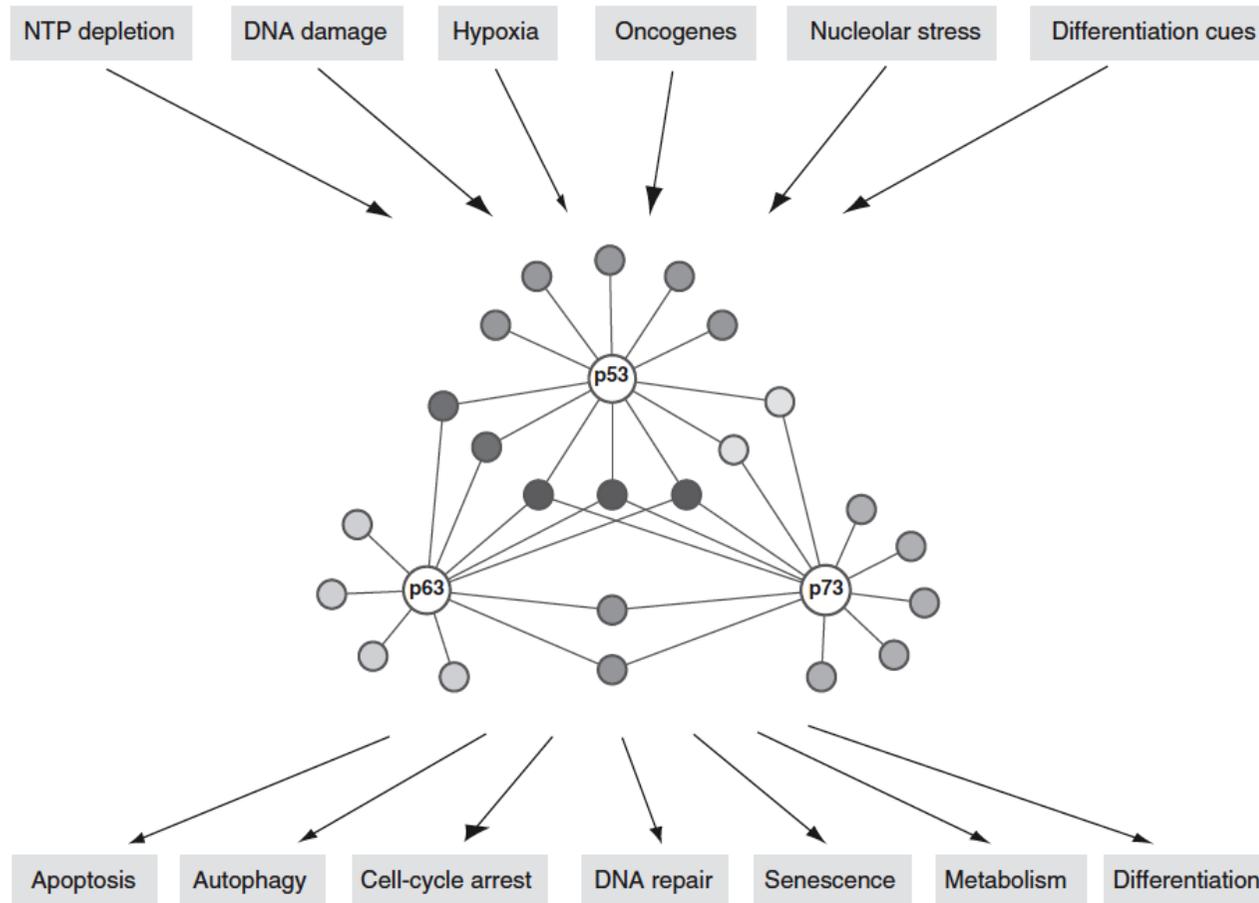
Enzyme, die Mitglieder p53-Familie modifizieren

Table 1 A selection of enzymes that apply post-translational modifications on p53-family proteins, or were reported to physically interact with them, independently of modification

	p53	p73	p63	References ^a						
<i>Kinases</i>						<i>Ubiquitin ligases</i>				
ABL1	+	+	+	30, 67–69	MDM2	+	+	+ /–	44, 49, 50	
ATM	+		+	122	MDMX	+	+	–	42, 43, 49	
CDK2	+	+	+	122, 123	COP1	+				∞
CHK1	+	+		124	PIRH2	+				
CK1	+				Synoviolin	+				
GSK3-beta	+		+	125	ARF-BP1	+				
HIPK2	+	+	+	96	CHIP	+				
JNK1	+	+		126	WWP1	+	+	+	63, 64	
p38	+	+	+	100, 127	ITCH	–	+	+	65, 66	∞
PLK1	+	+		128	E4F1	+				
<i>Phosphatases</i>					TRIM24	+				
PP2A	+		+	125	FBXO45	–	+		62	
Wip1	+				<i>Deubiquitinases</i>					
<i>Acetyltransferases</i>					HAUSP	+				
P300/CBP	+	+	+	77, 78, 100	USP10	+			131	
PCAF	+	+		77	<i>Methyltransferases</i>					
TIP60	+	+		129	Smyd2	+				
<i>De-acetylases</i>					SET7/8	+				
HDAC1/2	+	+		130	PRMT5	+				
Sirt1	+	+		83	<i>Demethylases</i>					
					LSD1	+				
					<i>SUMO ligases</i>					
					Ubc9	+	+	+	132, 133	
					PIAS1	+	+		134	
					TOPORS	+				
					<i>Others</i>					
					O-GlcN-Ac transferase	+				
					PARP-1	+				
					PIN1	+	+		73	

Collavin et al. Cell Death and Differentiation (2010) 17, 901–911

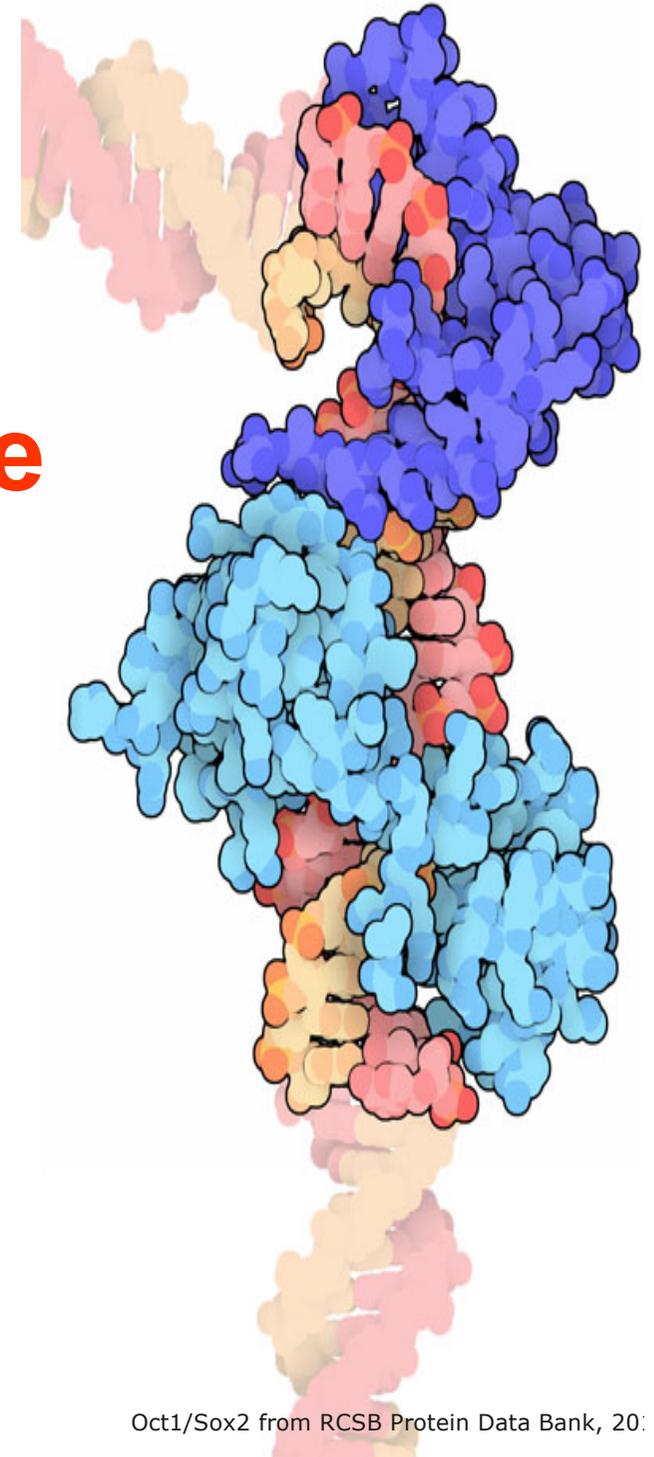
Proteininteraktionsnetzwerke



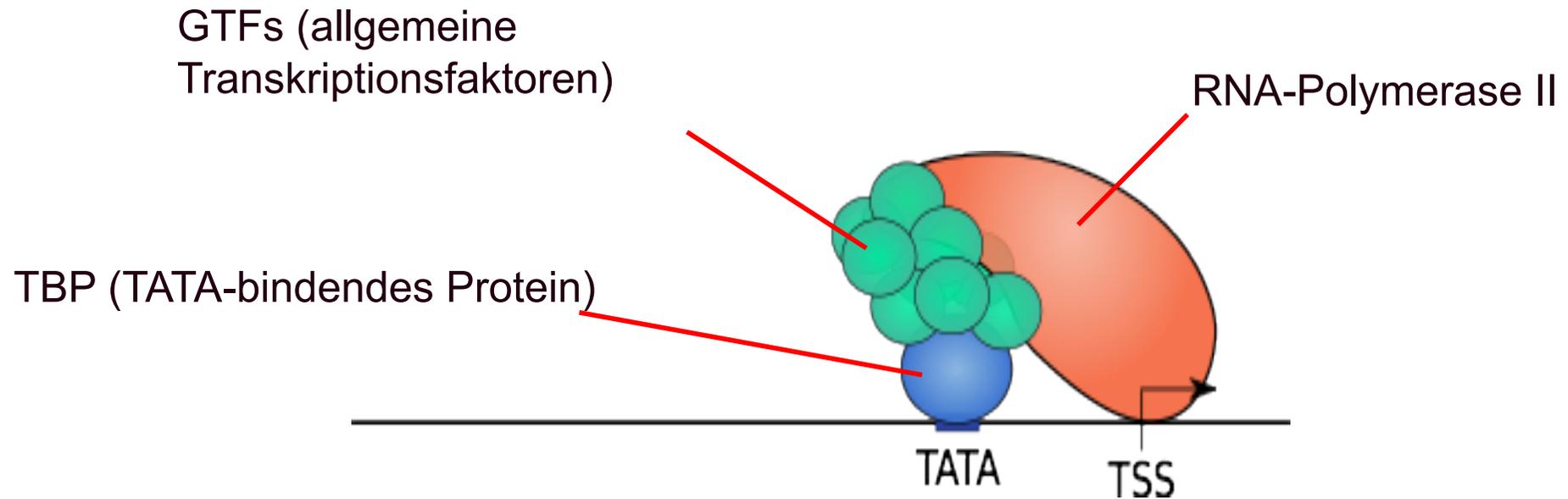
Die Mitglieder p53-Familie reagieren auf viele zellulären Signale und leiten entsprechende Antworten ein.

Collavin et al. Cell Death and Differentiation (2010) 17, 901–911

Transkriptionsfaktor- komplexe in Hefe und ihre Rolle

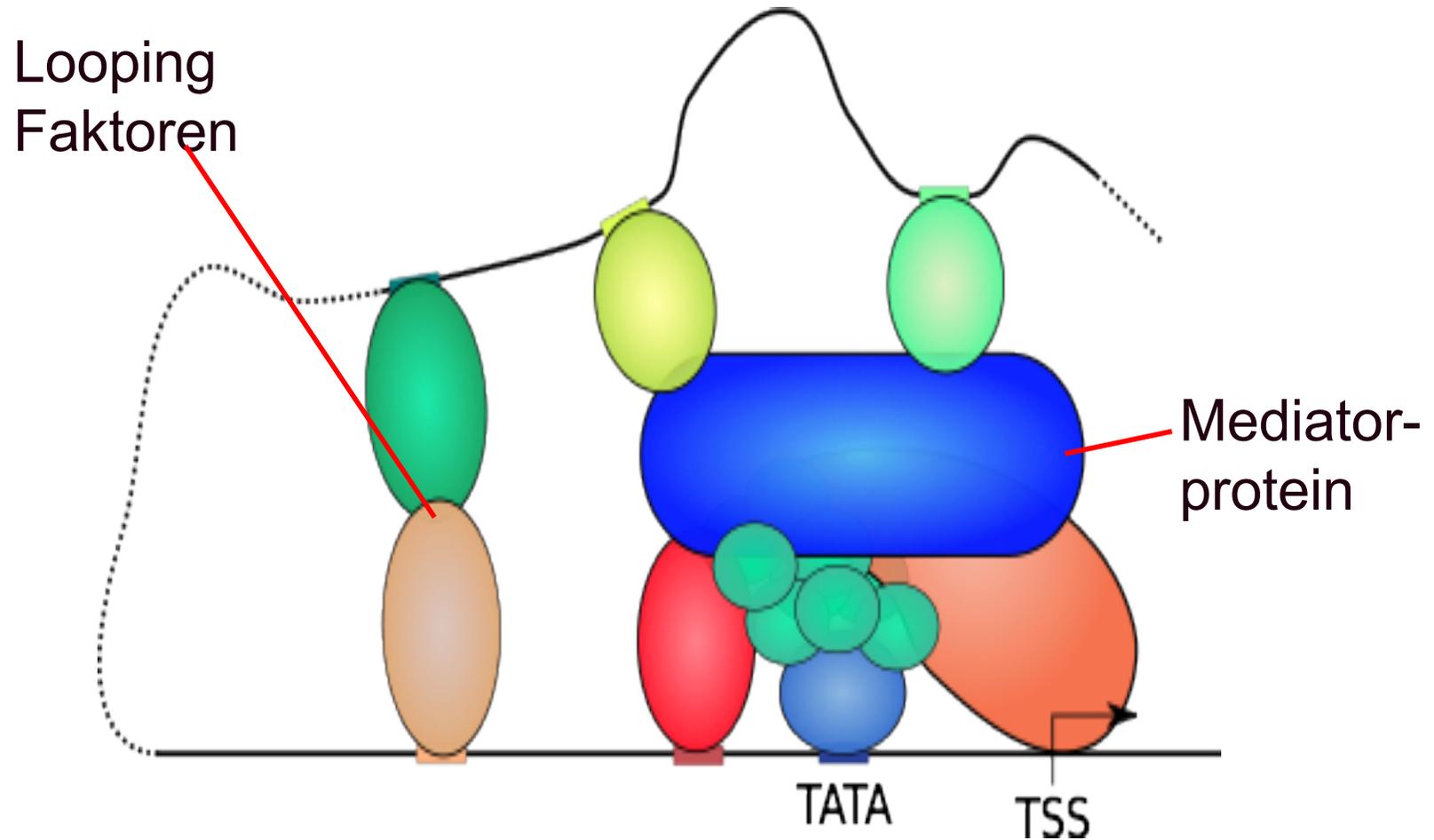


Transkription: Rolle von TFs

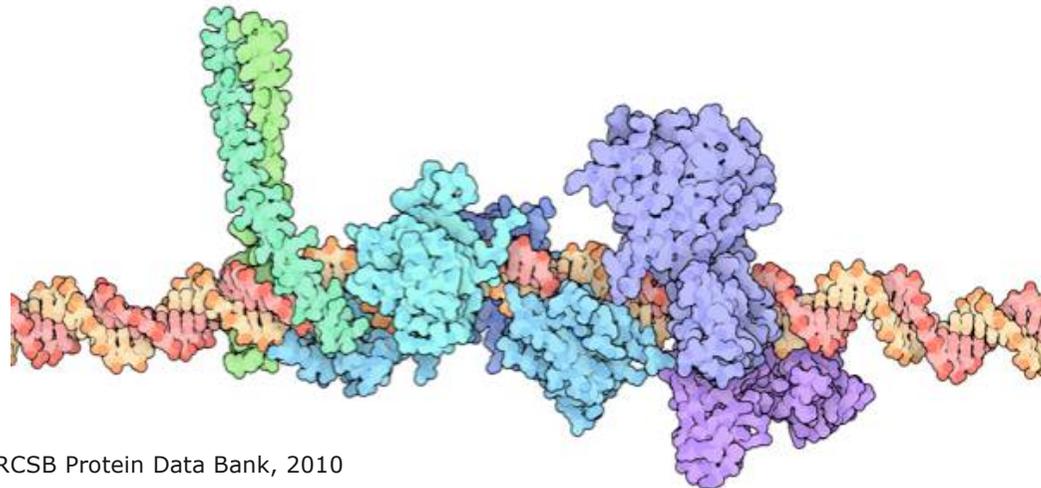
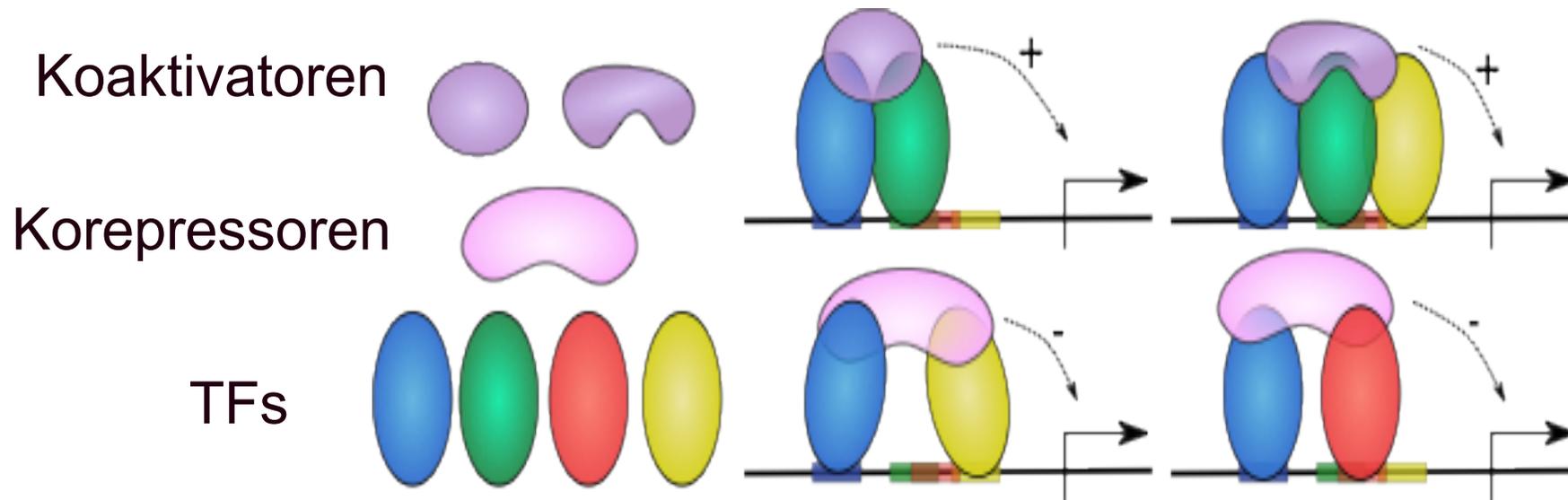


TBP bindet an die DNA, wechselwirkt mit den allgemeinen Transkriptionsfaktoren und rekrutiert RNA-Polymerase II

Kombinatorische Vielfalt vieler TFs, Bindung weiterer Proteine möglich

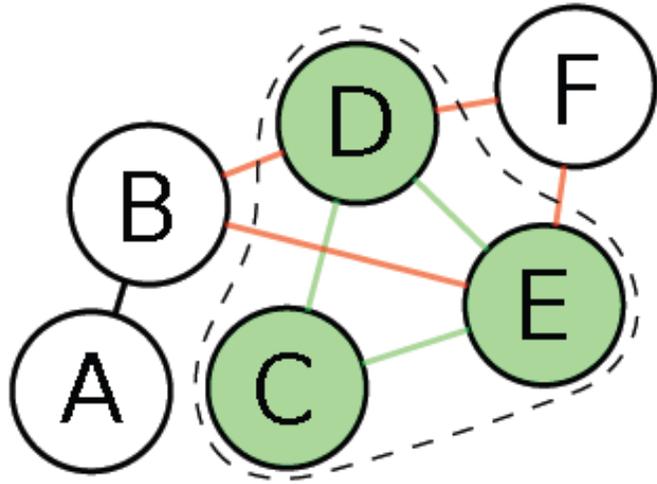


cis-regulatorische Module



IFN-enhanceosome from RCSB Protein Data Bank, 2010

identifiziere Proteinkomplexe, die TFs beinhalten aus PPI-Netzwerk



Der gestrichelt umrandete
Komplex C-D-E hat die maximale
Cohesiveness.

Verwende Idee der Methode ClusterOne:
Identifiziere Kandidaten für TF-Komplexe im
Protein-Interaktionsgraph durch
Maximierung der Cohesiveness $f(V)$:

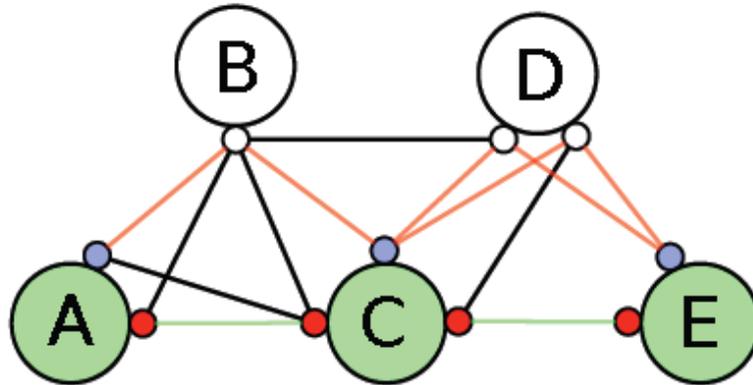
$$f(V) = \frac{w^{in}(V)}{w^{in}(V) + w^{bound}(V)}$$

$w^{in}(V)$: Summe der internen (gewichteten)
Kanten, im Beispiel grün

$w^{bound}(V)$: Summe der externen Kanten, im
Beispiel orange

Domänen-Domänen Repräsentation des PPI-Netzwerks

Annahme: jede Domäne kann nur an einer Interaktion beteiligt sein.



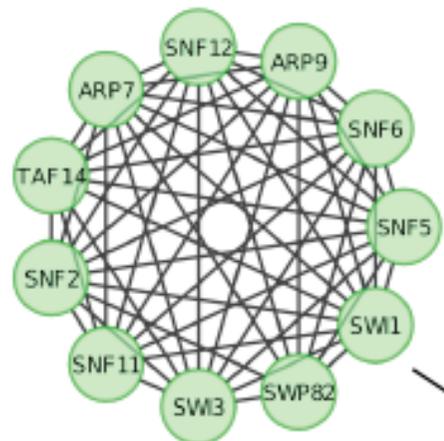
Die grünen Proteine A, C, E bilden aktuellen Komplex.

Die grünen Kanten zwischen ihnen stehen für direkte Kontakte zwischen ihren roten Domänen (kleine Kreise).

B und D sind Kandidaten für einen größeren Komplex.

Ihre weißen Domänen könnten über die orangenen Kanten neue Interaktionen mit den nicht belegten (blauen) Domänen von A, C, E ausbilden.

Datenquellen



weighted protein-protein interaction data, such as

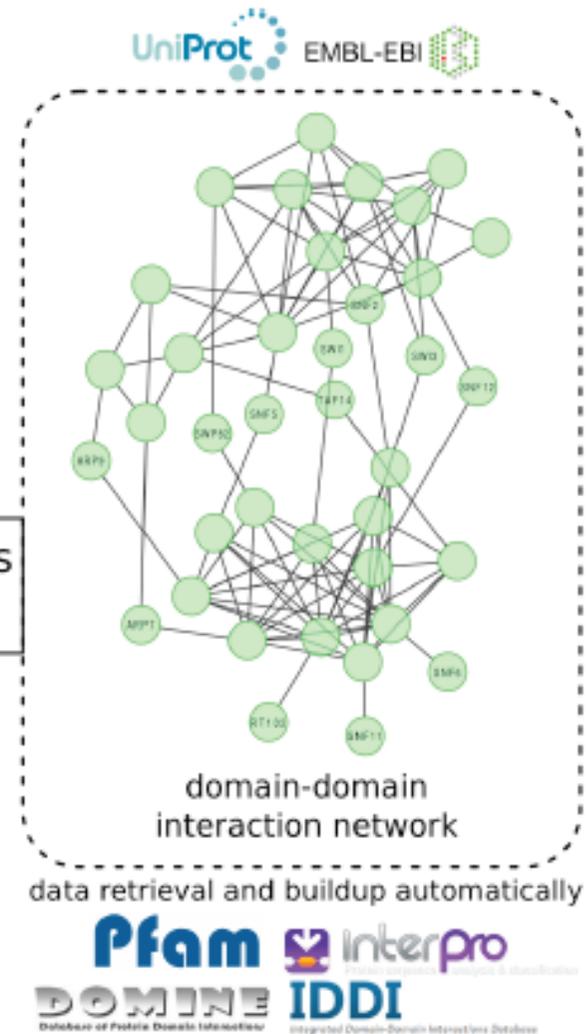


SIF format with UniProt IDs

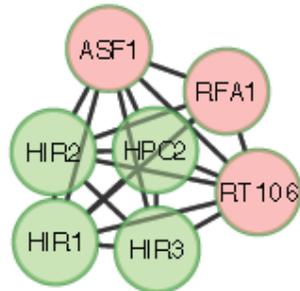
seed proteins,
threshold for pairs,
max. depth of search

domain-aware cohesiveness optimization algorithm

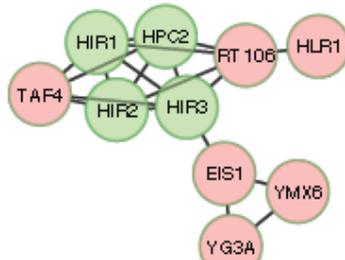
transcription factor complex candidates



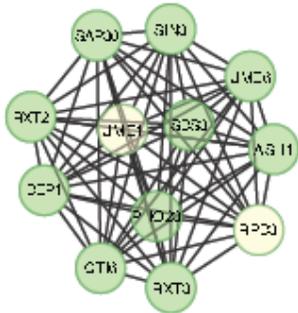
Beispiele für TF-Komplexe (DACA vs. ClusterONE)



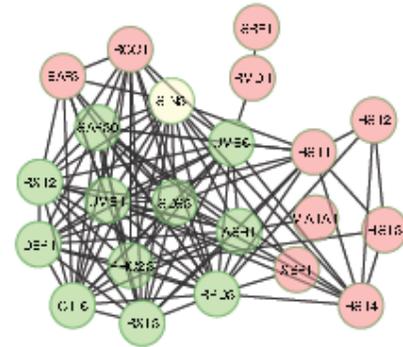
(a) HIR(SGD) / DACA



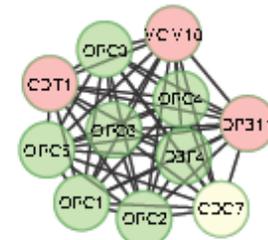
(b) HIR(SGD) / ClusterONE



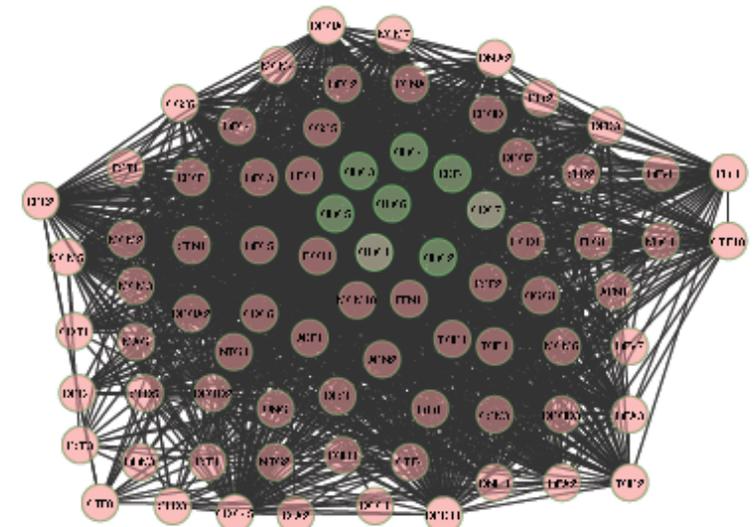
(c) RPD3L(CYC2008) / DACA



(d) RPD3L(CYC2008) / ClusterONE



(e) ORC(MIPS) / DACA

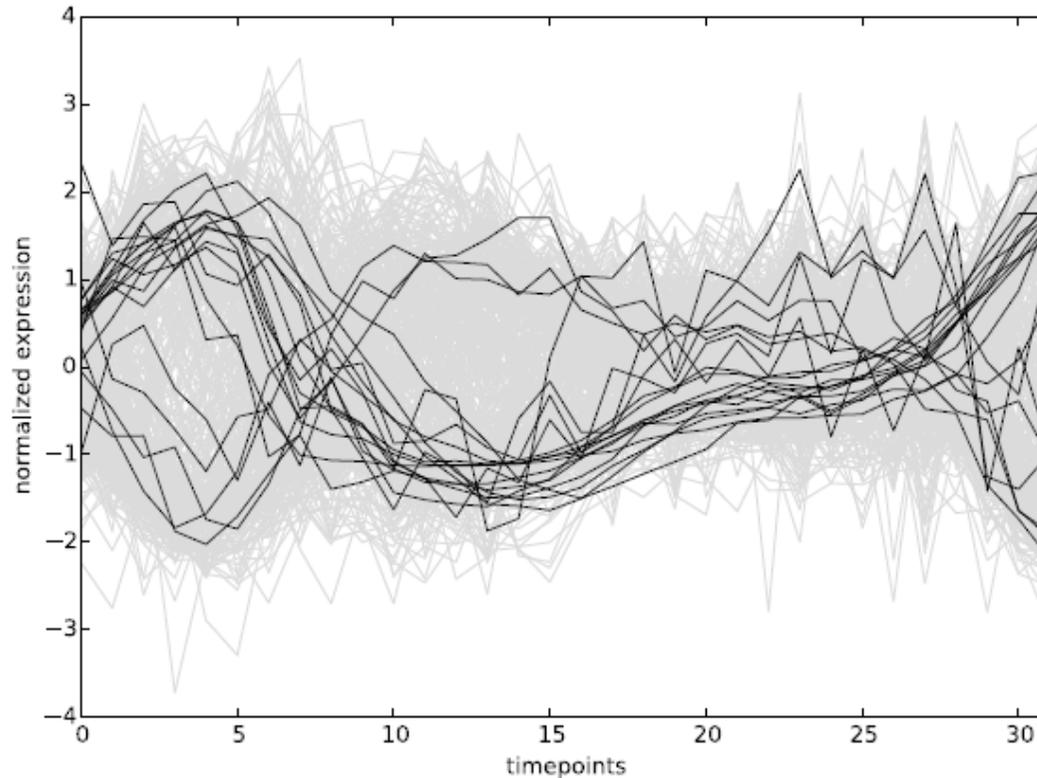


(f) ORC(MIPS) / ClusterONE

Grüne Knoten: Proteine im Referenzkomplex, die korrekt vorhergesagt wurden.

Rote Knoten: weitere Proteine, die als Teil des Komplexes vorhergesagt werden, die aber experimentell nicht bestätigt sind.

Targetgene von TF Komplexen sind ko-exprimiert!



X-Achse: 32 Zeitpunkte entlang des Zellzyklus von Hefezellen.
Zellen wurden für Messung synchronisiert.

Grau: Expression der Targetgene von MET4 **oder** MET32 während des Zellzyklus

Schwarz: Expression der Targetgene, die sowohl von MET4 **und** von MET32 reguliert werden.

-> es gibt 2 Gruppen von Targetgenen, die sich sehr ähnlich verhalten.

Funktionelle Rolle von TF Komplexen

$P_{dECS} < 0.05$ bedeutet, dass Ko-Expression der Zielgene nicht zufällig ist; vergleiche mit Datenpunkten, bei denen die Zeitpunkte zufällig durcheinander gewürfelt wurden.

TFs	P_{dECS}	targets	reg. influence	GO process enrichment ($P < 0.05$) in targets
MET4/MET32	0.0010	19	+	methionine metabolic process
TBP/HAP5	0.0335	47	+	/
GLN3/DAL80	0.0009	28	/	allantoïn catabolic process
DIG1/STE12/SWI6	0.0369	15	/	fungal-type cell wall organization
FHL1/RAP1	0.0001	116	+	rRNA transport
RPH1/GIS1	0.0001	100	-	hexose catabolic process
CBF1/MET32	0.0002	33	o	sulfate assimilation
DIG1/STE12	0.0003	34	-	response to pheromone
GCN4/RAP1	0.033	62	+	/
MSN4/MSN2	0.0021	105	+	oligosaccharide biosynthetic process
DAL80/GZF3	0.0044	20	-	purine nucleobase metabolic process
SWI6/SWI4	0.0039	53	+	regulation of cyclin-dependent protein serine/threonine kinase activity
STB1/SWI6	0.0275	47	+	/
TBP/SWI6	0.0159	14	+	/
GLN3/GZF3	0.0120	31	/	allantoïn catabolic process
MBP1/SWI6/SWI4	0.0307	18	+	regulation of cyclin-dependent protein serine/threonine kinase activity
MBP1/SWI6	0.0124	25	/	cell cycle process

Jeder Komplex enthält 2-3 TFs (und andere Proteine)

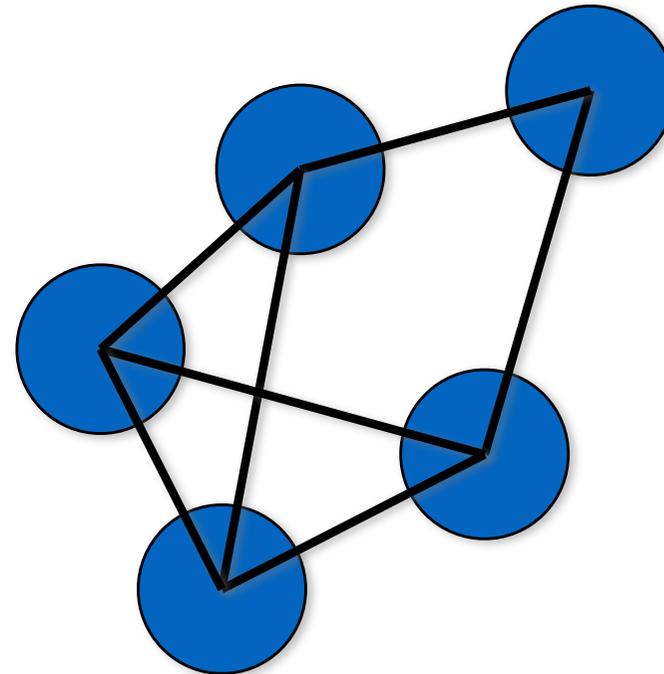
Anzahl an Zielgenen mit Bindemotiven für 2-3 TFs.

Wie bestimmt man diese unter den Zielgenen angereicherten GO-Terme?

Spezifische PP-Interaktionsnetzwerke für bestimmte Bedingungen

Modell: Brustkrebs (gute Datenlage)

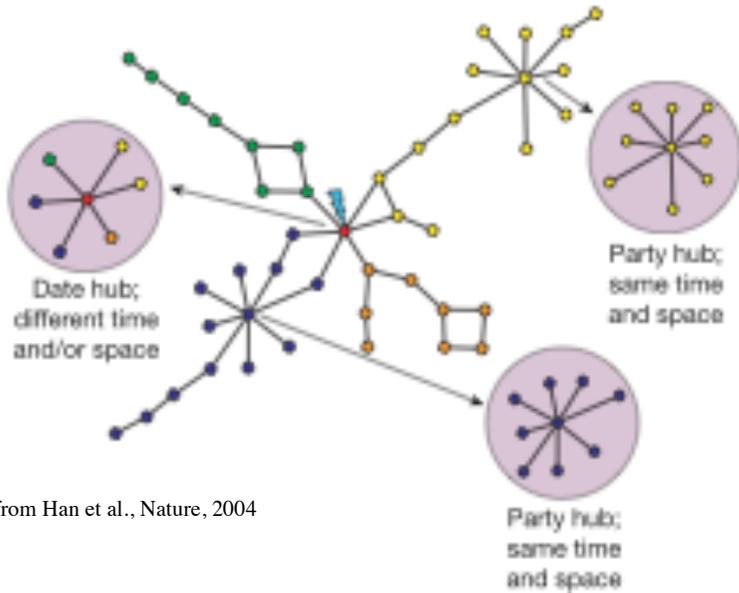
Abb. zeigt das gesamte PPI-
Netzwerk, z.B. für Mensch
= Sammlung paarweiser
Interaktionen aus
verschiedenen Experimenten



Will, Helms, Bioinformatics, 47, 219 (2015)
doi: 10.1093/bioinformatics/btv620

Proteininteraktionen können jedoch ...

dynamisch in Zeit and Raum

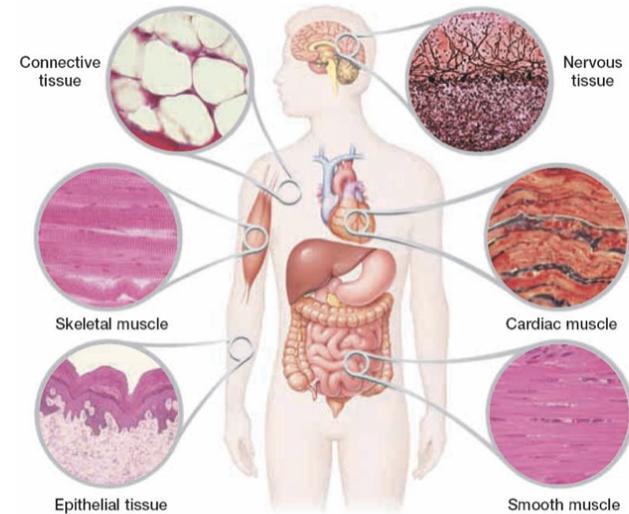


from Han et al., Nature, 2004

Gleiche Farbe = ähnliches Expression sprofil

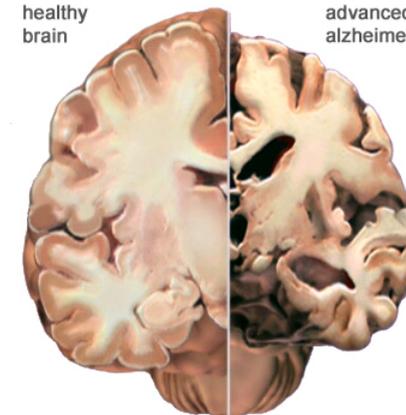
and

Proteinkomposition variiert je nach Bedingung



healthy brain

advanced alzheimer's

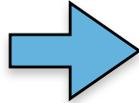


Human tissues from www.pharmaworld.pk
Alzheimer from www.alz.org

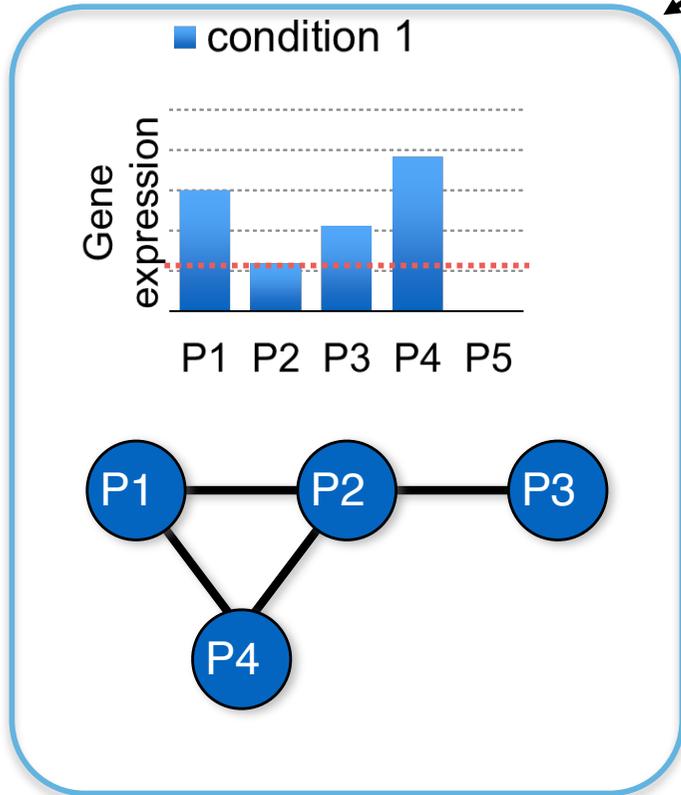
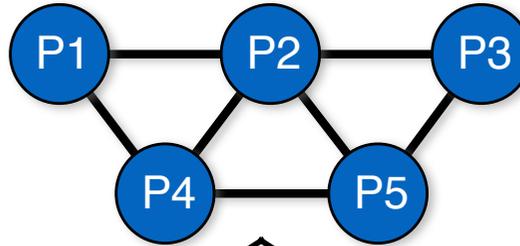
Gen-basierte Bedingungs-spezifische PPI Netzwerke

Datenbank(en)

...

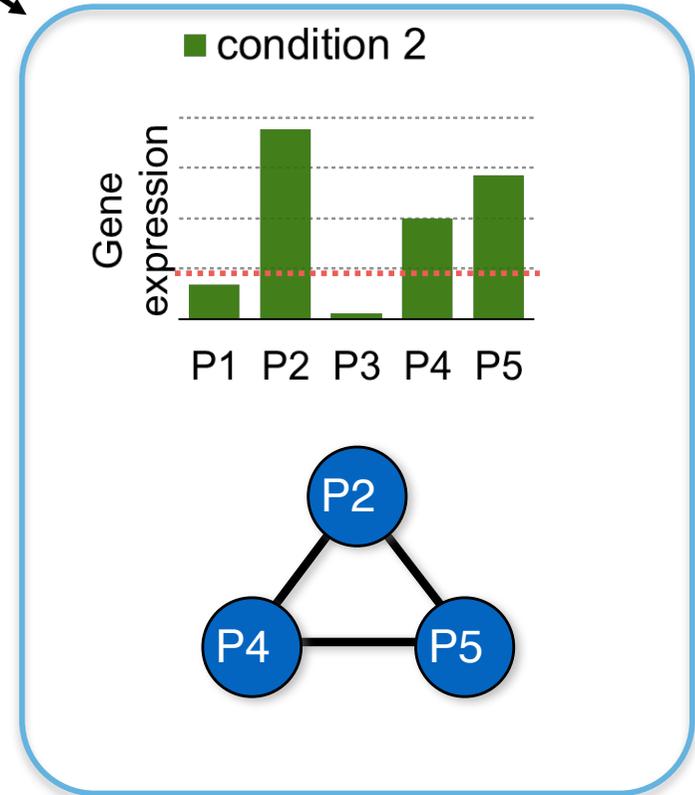


Vollständiges PPI Netzwerk



Idee:
breche auf Teilmenge
der exprimierten
Gene herunter

e.g.:
Bossi and Lehner, Mol. Syst. Bio., 2009
Lopes et al., Bioinformatics, 2011
Barshir et al., PLoS CB, 2014

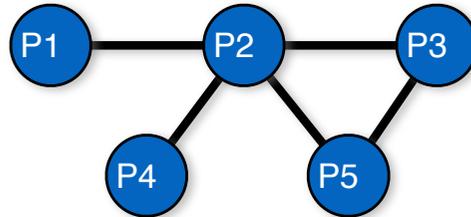


Differentielle Analyse der PPI (Um)-Verknüpfungen

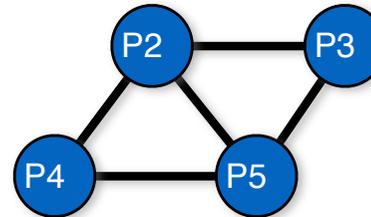
112 normale Gewebe (TCGA – gleiche Personen))

112 Brustkrebsgewebe (TCGA)

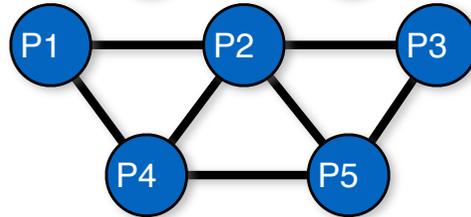
Vergleich 1:



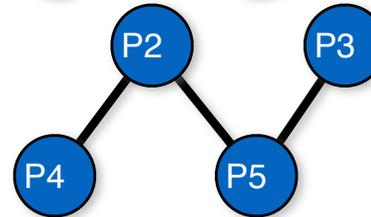
d_1 →



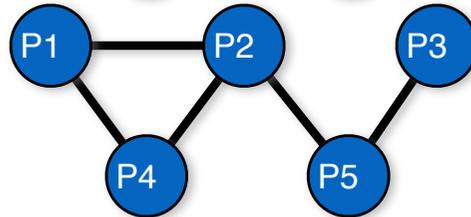
Vergleich 2:



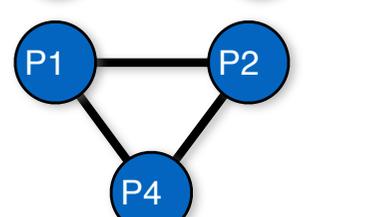
d_2 →



Vergleich 3:



d_3 →



↓ Σd_i



Prüfe, ob eine bestimmte PP-Interaktion in einer signifikant höheren Anzahl an Patienten geändert wird als man zufällig erwartet.

Binomieller Verteilung / Test

Die diskrete Wahrscheinlichkeitsverteilung mit der Wahrscheinlichkeitsfunktion

$$B(k | p, n) = \binom{n}{k} p^k (1 - p)^{n-k} \quad k = 0, 1, \dots, n$$

heißt die *Binomialverteilung* zu den Parametern n (Anzahl der Versuche) und $p \in [0, 1]$ (der *Erfolgs-* oder *Trefferwahrscheinlichkeit*).

Ein **Binomialtest** ist ein statistischer Test, bei dem die Testgröße binomialverteilt ist. Er wird verwendet um Hypothesen über Merkmale zu prüfen, die genau zwei Ausprägungen annehmen können.

In Fall der PP-Interaktionen kann eine Interaktion existieren oder nicht.

Man erzeugt also für eine genauso große Anzahl von 112 PP-Netzwerken dieselbe Anzahl von etwa 10.000 zufälligen Verschaltungsänderungen

Dann zählt man ab, wie häufig eine bestimmte Interaktion P_i - P_j zufällig „rewired“ wird und vergleicht dies mit der in Patienten beobachteten Anzahl.

Daraus erhält man einen p-Wert für diese Interaktion P_i - P_j .

Rewiring von PPIs in Brustkrebs vs. gesundem Gewebe

Im Mittel liegen 12.500 – 12.600 Proteine vor.

Die Standardabweichung drückt Unterschiede zwischen einzelnen Patienten aus.

Anhand der bekannten Interaktionsdaten erwartet man zwischen diesen Proteinen etwa 134.000 PP-Interaktionen

-> etwa 10.000 dieser PP-Interaktionen sind in Krebs-Gewebe signifikant anders verschaltet als in gesundem Gewebe.

	GENE
avg. number of proteins (normal)	12,678 ± 223
avg. number of proteins (tumor)	12,528 ± 206
avg. number of interactions (normal)	134,348 ± 2,387
avg. number of interactions (tumor)	133,128 ± 2,144
P_{rew}	0.067 ± 0.016
significantly rewired interactions	9,754

Rewired PPIs sind mit Krebs-Merkmalen assoziiert

	GENE
rewired interactions	9,754
participation in any hallmark term	7,028
fraction in any hallmark term	0.721
Resisting Cell Death	4,064 (0.417)
Activating Invasion and Metastasis	2,244 (0.230)
Sustaining Proliferative Signaling	3,964 (0.406)
Inducing Angiogenesis	169 (0.017)
Tumor-Promoting Inflammation	516 (0.053)
Genome Instability and Mutation	1,362 (0.140)
Enabling Replicative Immortality	232 (0.024)
Evading Growth Suppressors	3,362 (0.345)
Avoiding Immune Destruction	752 (0.077)
Deregulating Cellular Energetics	821 (0.084)
avg.	1,749 (0.179)

Ein großer Anteil (72%) der anders verschalteten (rewired) Interaktionen betrifft Proteine, die mit den hier aufgeführten, bekannten Merkmalen von Krebs („hallmarks of cancer“) assoziiert sind.

Zusammenfassung – PP-Komplexe und Netzwerke

Etwa die Hälfte aller zellulären Proteine beteiligen sich transient oder permanent an Interaktionen mit anderen Proteinen.

Im Mittel interagiert ein Protein mit 6 anderen Proteinen (in Hefe).

Protein-Schnittstellen sind (etwas) stärker **konserviert** als die restliche Protein-Oberfläche (Problem: es kann ja weitere Interaktionen geben ...).

Korrelierte Mutationen an Schnittstellen sind starke Indizien für PPIs.

Hub-Proteine im Protein-Protein-Interaktionsnetzwerk haben eine höhere Wahrscheinlichkeit **essentiell** zu sein.

Proteinkomplexe, die mehrere Transkriptionsfaktoren erhalten, erhöhen die kombinatorische Vielfalt der Genregulation.

Während der Zelldifferenzierung bzw. Krankheitsentstehung ändern sich eine Vielzahl an Protein-Interaktionen.