



## Construction de cartes d'interactions extracellulaires. Application au contrôle de l'angiogénèse



E. Chautard<sup>1</sup>, N. Thierry-Mieg<sup>2</sup>, S. Ricard-Blum<sup>1</sup>

1 Institut de Biologie et Chimie des Protéines  
UMR 5086 CNRS - Université Lyon 1  
IFR 128 Biosciences Lyon Gerland

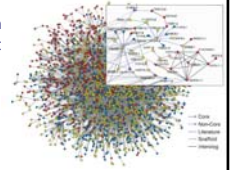
2 Laboratoire Logiciels Systèmes Réseaux,  
UMR 5526 CNRS - Université J. Fourier  
INPG - St Martin d'Hères



## Qu'est-ce qu'un interactome ?

### Interactome ou carte d'interactions

Réseau d'interactions protéine-protéine d'un organisme, d'une cellule, d'un compartiment cellulaire ou d'une protéine



*Caenorhabditis elegans*  
(Li et al., Science 2004 303:540-3)

### Interactions et fonctions biologiques

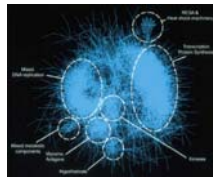
La plupart des protéines exercent leurs fonctions via des interactions

- Enzyme - substrat
- Antigène - anticorps
- Récepteur - ligand
- Protéine - AND/ARN

## Exemples d'interactomes



*Saccharomyces cerevisiae*  
(Schwikowski et al Nat Biotech  
2000 18:1257-61)



*Plasmodium falciparum*  
(Date et Stoekert Gen. Res. 2006  
16: 542-9)

## Pourquoi construire un interactome ?

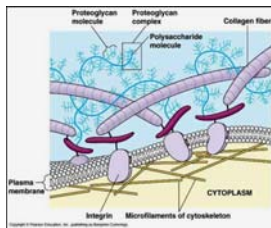
- Prédire de nouvelles fonctions des protéines
- Modéliser - le mécanisme d'action d'une protéine  
- des processus biologiques
- Prédire le comportement de ces modèles en simulant les contraintes induites par des processus biologiques



Mécanisme d'action de l'endostatine, un fragment anti-angiogénique d'une **protéine extracellulaire**

Modélisation des événements extracellulaires et juxta-membranaires de l'**angiogénèse**

## Interactome extracellulaire



La matrice extracellulaire est un réseau complexe d'interactions

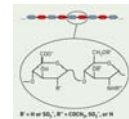
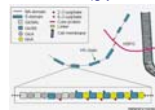
## Cartes d'interactions extracellulaires

### Interactions protéine-protéine et protéine-polysaccharide

- ~ 500 gènes - Protéines multi-domaines  
- Multimères (collagènes, laminines)  
- Assemblages supramoléculaires  
- Matricryptines

- Protéoglycans

- Polysaccharides (glycosaminoglycans)



## Cartes d'interactions extracellulaires

Les bases de données contiennent peu d'interactions extracellulaires

MINT - Mammalian Protein-Protein Interaction Database

- BIND [B](#)iomolecular [I](#)nteraction [N](#)etwork [D](#)atabase
- DIP [D](#)atabase of [I](#)nteracting [P](#)roteins
- MINT [M](#)olecular [I](#)nteraction Database
- MIPS MPPI [M](#)malian [P](#)rotein-[P](#)rotein [I](#)nteraction Database
- HPRD [H](#)uman [P](#)rotein [R](#)eference [D](#)atabase



⇒ Nécessité d'une base de données d'interactions spécifique de la matrice extracellulaire

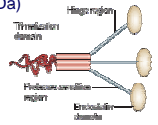
## Interactome de l'endostatine, un fragment du collagène XVIII

### Endostatine

- Fragment C-terminal du collagène XVIII (~ 20 kDa)
- Anti-angiogénique and anti-tumorale

### Quelques partenaires de l'endostatine

- Héparane sulfate Glycosaminoglycane
- Zinc Cation
- Sulfatide Glycolipide
- Endorépine Domaine protéique (perlecan)
- Fibuline-1 Protéine
- Laminine-1 Multimère
- Intégrines Protéines membranaires
- Tropomyosine Intracellulaire ou à la surface des cellules



(Iozzo Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2005 6:646-56)



## Construction d'une base de données

### Protéines

- Données figurant dans UniProtKB/SwissProt
- Annotée, vérifiée, faiblement redondante, disponible en format texte
- Protéines de toutes les espèces
- Protéines extracellulaires, membranaires, intracellulaires



### Fragments de protéines et autres molécules

- Ajoutés manuellement dans la base de données

### Données incluses dans la base

Identifiant de Swiss Prot utilisé pour prendre les données dans

- [Gene Ontology](#) (Molecular function - Biological process- Cellular component)
- [Protein Data Bank](#)
- [InterPro](#)



## Gene Ontology



Exemple : Collagen XVIII

[GO:0005581](#); Cellular component: collagen

[GO:0008285](#); Biological process: negative regulation of cell proliferation

<http://www.geneontology.org>

[GO:0009887](#); Biological process: organ morphogenesis

[GO:0007601](#); Biological process: visual perception

## InterPro

Base de données de famille de protéines, domaines et sites fonctionnels

Exemple : Collagen XVIII

[IPR008160](#) Collagen triple helix repeat

[IPR010363](#) Protein of unknown function DUF959 Collagen XVIII, N-terminal

[IPR010515](#) Collagenase NC10 and endostatin



<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>

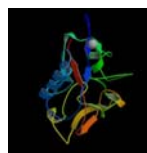


## Protein Data Bank

Structure des macromolécules biologiques



<http://www.rcsb.org/pdb/>



Endostatine (1 BNL)  
Résolution: 2.9 Å

## Construction d'une base de données

### Base de données d'interactions

- **Human Protein Reference Database**
  - Interactions protéine-protéine extraites manuellement de la littérature et vérifiées
  - Des interactions extracellulaires
  - Données expérimentales, pas d'interactions prédites



### Interactions extracellulaires

- Ajoutées manuellement à partir de nos données expérimentales et de la littérature - méthodes d'étude
  - sites d'interactions (séquences, aa ou sulfatation)
  - constantes cinétiques
  - constantes d'affinité

## Human Protein Reference Database

A centralized platform to visually depict and integrate information pertaining to domain architecture, post-translational modifications, interaction networks and disease association for each protein in the human proteome

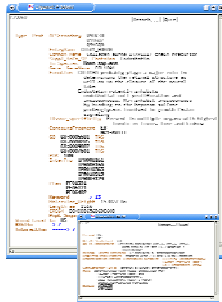
### INTERACTING PROTEIN Collagen type XVIII alpha 1

Name Of Interactor	Experiment Type	Type
■ Cathepsin L	In Vitro	Direct
■ Fibulin 2	In Vitro	Direct
■ Integrin alpha 5	In Vivo	Direct
■ Glypican 1	In Vitro; In Vivo	Direct
■ VEGF receptor 2	In Vitro	Direct
■ Matrix metalloprotease 2	In Vitro; In Vivo	Direct
■ Glypican 4	In Vitro	

<http://www.hprd.org/>

## Construction de la base de données

- Système de Gestion de Base de Données **AceDB** : **A C. elegans DataBase**
- Orientée objet : **modifiable** en fonction du type de données
- **Interface graphique** : mise à jour et exploration dans la base
- Langage de requêtes pour **recherches complexes**
- **Langage Perl** : lire les fichiers sources et créer les fichiers au format AceDB



Interface graphique

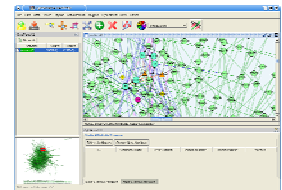
<http://www.acedb.org/>



## Visualisation des cartes d'interactions

- Logiciel permettant de **visualiser les réseaux d'interactions** : **Cytoscape**

- Nombreux **réglages de représentation** des données (couleurs, formes ...)



[www.cytoscape.org](http://www.cytoscape.org)

- Addition de nouvelles fonctions

- **Langage Perl** pour créer les fichiers au format Cytoscape



## Conception d'une interface graphique

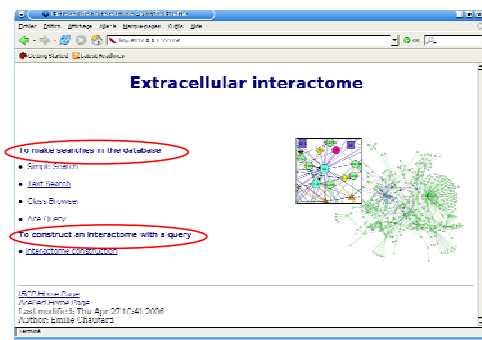
### Utilisation d'AcePerl - AceBrowser

- Permet de lancer des requêtes dans la base de données, et de visualiser les résultats *via* une interface graphique
- Modes de recherches préconçus dans la base
- Langage Perl/CGI - HTML



Exemple de page web réalisée avec AcePerl : [www.wormbase.org](http://www.wormbase.org)

## Interface graphique



# Interrogation de la base de données

# Interrogation de la base de données

# Construction d'interactomes

# Visualisation de l'interactome entier

# L'interactome de l'endostatine

# L'interactome de l'endostatine

