

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers Département de BIOLOGIE



MÉMOIRE

Présenté par

Ghomri Wafaa & Bekkal Brikci Radjaà Meriem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En immunologie

Thème :

**Analyse fonctionnelle des variants de SHP-2
augmentant l'activité phosphatase dans la
signalisation inhibitrice post SIRP α .**

Soutenu le, devant le jury composé de :

Président	TRIQUI Chahinez	MCB	
Encadrant	HADJIDJ Zeyneb	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	HADJ MERABET Djahida	MCA	

Année universitaire 2025/2026

Résumé

SHP-2 est une protéine phosphatase jouant un rôle central dans la transmission des signaux intracellulaires impliqués dans la croissance, la différenciation et la survie cellulaires. Les variations génétiques de type polymorphismes non synonymes (nsSNPs) peuvent modifier ses propriétés structurales et fonctionnelles, influençant ainsi son activité biologique et son implication dans diverses pathologies, notamment les cancers.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact potentiel des nsSNPs de SHP-2 à l'aide d'une approche bioinformatique intégrée. Plusieurs outils bioinformatiques ont été utilisés afin d'identifier les variants susceptibles d'altérer l'activité de la protéine SHP-2, en particulier ceux associés à un gain de fonction pouvant influencer les voies de signalisation cellulaires.

Les variants sélectionnés ont ensuite été soumis à des analyses complémentaires portant sur leurs effets fonctionnels, leur impact sur la stabilité protéique ainsi que leur localisation au niveau des régions conservées au cours de l'évolution. Un premier filtrage par SIFT, PolyPhen-2 et PROVEAN a permis d'identifier 544 variants tolérés parmi les SNPs missense sélectionnés. Ces derniers ont été analysés par MutPred2 afin de prioriser les mutations susceptibles d'induire un gain de fonction. Afin de préserver l'intégrité structurale de la protéine, seuls les variants prédits comme bénins par les outils d'évaluation de stabilité (I-Mutant, DUET) et par l'analyse structurale (Missense3D) ont été retenus. Cette démarche a permis d'aboutir à la sélection de 10 SNPs candidats, dont l'effet sur la stabilité des interactions et l'affinité de liaison a été évalué par docking moléculaire.

Mots-clés : Axe CD47/SIRP α , caractérisation des SNPs, énergie d'interaction, gain de fonction, modification structurale, préparation *in silico*, SHP-2 (*PTPN11*).

Abstract

SHP-2 is a protein phosphatase that plays a central role in the transmission of intracellular signals involved in cell growth, differentiation, and survival. Non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) may alter its structural and functional properties, thereby affecting its biological activity and its involvement in various diseases, particularly cancers.

The aim of this study was to evaluate the potential impact of SHP-2 nsSNPs using an integrated bioinformatics approach. Several bioinformatics tools were employed to identify variants likely to affect SHP-2 protein activity, particularly those associated with gain-of-function effects that may influence cellular signaling pathways.

The selected variants were then subjected to further analyses focusing on their functional effects, their impact on protein stability, and their localization within evolutionarily conserved regions. An initial screening using SIFT, PolyPhen-2, and PROVEAN identified 544 tolerated variants among the selected missense SNPs. These variants were subsequently analyzed using MutPred2 to prioritize mutations likely to induce gain-of-function effects. To ensure the structural integrity of the protein, only variants predicted as benign by stability assessment tools (I-Mutant and DUET) and structural analysis (Missense3D) were retained. This workflow resulted in the selection of 10 candidate SNPs, whose effects on interaction stability and binding affinity were evaluated through molecular docking.

Keywords: CD47/SIRP α axis, SNP characterization, interaction energy, gain of function, structural modification, *in silico* analysis, SHP-2 (*PTPN11*).

ملخص

يُعدّ SHP-2 بروتين فوسفاتاز يلعب دورًا مركزيًا في نقل الإشارات داخل الخلايا، والتي تشارك في تنظيم نمو الخلايا وتمايزها وبقائها. يمكن للتغيرات الجينية من نوع تعدد أشكال النوكليوتيد المفرد غير المترادف (nsSNPs) أن تؤثر على الخصائص البنيوية والوظيفية لهذا البروتين، مما ينعكس على نشاطه البيولوجي ودوره في العديد من الأمراض، خاصة السرطانات.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التأثير المحتمل لتعددات الأشكال nsSNPs في بروتين SHP-2 باستخدام مقارنة معلوماتية حيوية متكاملة. تم استخدام العديد من أدوات المعلوماتية الحيوية لتحديد المتغيرات القادرة على تغيير نشاط بروتين SHP-2، وخاصة تلك المرتبطة باكتساب الوظيفة (Gain of function) والتي قد تؤثر على مسارات الإشارة الخلوية.

بعد ذلك، خضعت المتغيرات المختارة لتحليلات إضافية لدراسة تأثيراتها الوظيفية، وتأثيرها على استقرار البروتين، إضافةً إلى تحديد مواقعها ضمن المناطق المحفوظة تطوريًا. سمح الترشيح الأولي باستخدام أدوات SIFT و PolyPhen-2 و PROVEAN بتحديد 544 متغيرًا متحتمًا من بين طفرات SNPs missense المختارة.

تم إخضاع هذه المتغيرات لاحقًا لتحليل بواسطة MutPred2 من أجل تحديد الطفرات الأكثر احتمالًا لإحداث تأثير اكتساب الوظيفة. ولضمان الحفاظ على سلامة البنية البروتينية، تم الاحتفاظ فقط بالمتغيرات التي تم التنبؤ بأنها حميدة بواسطة أدوات تقييم استقرار البروتين (I-Mutant و DUET) والتحليل البنيوي (Missense3D).

أدت هذه الاستراتيجية إلى اختيار 10 SNPs مرشحة، حيث تم تقييم تأثيرها على استقرار التفاعلات والألفة الارتباطية باستخدام الالتحام الجزيئي (Molecular Docking).

الكلمات المفتاحية: محور CD47/SIRPα ، توصيف تعددات النوكليوتيدات المفردة (SNPs) ، طاقة التفاعل، اكتساب الوظيفة، التغيرات البنيوية، التحليل الحاسوبي (in silico) ، SHP-2 (PTPN11).

Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **Allah le Tout-Puissant** de nous avoir donné la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrante **Mme Hadjidj Zeyneb** pour son accompagnement, ses conseils précieux, sa disponibilité et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses orientations et ses encouragements ont largement contribué à la réussite de ce travail.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements au Professeur **Aribi Mourad**, directeur du laboratoire BIOMOLIM (SNV/STU), pour son accueil, son soutien et pour nous avoir permis de réaliser cette étude dans de bonnes conditions au sein du laboratoire.*

*Nous remercions chaleureusement la doctorante **Bendjeff Nour El Houda** pour son aide, ses conseils, son partage de connaissances et son accompagnement durant les différentes étapes de ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Madame la Présidente Triqui Chahinez**, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de cette soutenance, ainsi que pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail.*

*Nous exprimons également notre profonde reconnaissance à **Madame l'Examinatrice Hadj Merabet Djahida**, pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire, ainsi que pour le temps consacré à son examen et les remarques constructives qu'elle apportera.*

Enfin, nous tenons également à remercier l'ensemble des professeurs et enseignants du Master Immunologie pour leurs efforts, leurs enseignements et les connaissances transmises tout au long de notre parcours universitaire.

Dédicace

Avant tout, je remercie Allah le Tout-Puissant de m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

Alhamdoulilah pour toutes les bénédictions, les opportunités et les réussites qu'Il m'a offertes tout au long de mon parcours.

Je dédie ce modeste travail **à mes très chers parents**, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices, leur soutien constant et leurs encouragements tout au long de mon parcours. Aucune parole ne saurait exprimer ma profonde gratitude envers eux.

À mes frères, pour leur affection, leur présence et les moments de bonheur partagés.

À ma chère tante, pour sa bienveillance, ses conseils précieux et son soutien.

À mes chères amies Hadjer, Hafsa et Djamila, pour leur amitié sincère, leur encouragement et tous les souvenirs que nous avons construits ensemble.

À ma binôme Meriem, avec qui j'ai partagé les efforts, les défis et les réussites de ce travail. Merci pour ta collaboration, ton sérieux et ta bonne humeur.

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin durant cette aventure académique.

Je dédie ce travail avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Ghomri Wafaa

Dédicace

Avant tout, je rends grâce à Allah, le Tout-Puissant, qui m'a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour arriver au terme de ce parcours. Cette réussite, que je croyais parfois si lointaine, n'aurait jamais été possible sans Son aide et Sa miséricorde.

À ma très chère mère,

Aucune parole ne saurait exprimer toute la gratitude, l'amour et le respect que je lui porte. Elle a toujours été une source inépuisable de soutien, de courage et de motivation. Par ses sacrifices, ses encouragements, sa confiance et ses prières, elle a largement contribué à la réussite de ce parcours. Ce travail est le témoignage de ma profonde reconnaissance pour tous les efforts qu'elle a consentis et pour tout ce qu'elle a fait afin de me permettre d'atteindre cette étape de ma vie. Je lui dédie ce modeste travail avec tout mon amour, mon admiration et mon profond respect.

À ma binome Wafaa,

Je la remercie sincèrement pour son soutien, sa patience et sa persévérance tout au long de cette aventure. Grâce à son implication et à tous les efforts fournis ensemble, ce projet a pu voir le jour. Les moments de travail, les difficultés surmontées et les réussites partagées resteront gravés parmi les plus beaux souvenirs de ce parcours.

À mon frère, pour son affection, sa présence et les précieux moments partagés

À mes chères amies Djihène, Douaà et Manel,

Pour leur présence, leur soutien et leur précieuse amitié tout au long de ce parcours. Les moments partagés, les difficultés surmontées ensemble et les souvenirs construits au fil de cette aventure resteront gravés dans ma mémoire. Qu'elles trouvent dans ce travail l'expression de ma sincère affection et de ma profonde gratitude.

À toutes les personnes qui m'ont soutenue, encouragée et accompagnée de près ou de loin,

Je dédie ce modeste travail avec toute ma gratitude et ma profonde reconnaissance.

Bekkal Brikci Radjaà Meriem

Liste des Figures

Figure 1.1 :	Structure du gène <i>PTPN11</i> et domaines de la protéine SHP-2.....	- 5 -
Figure 1.2 :	Structure primaire et conformation tridimensionnelle de SHP-2.....	- 7 -
Figure 1.3 :	Formes autoinhibée et activée de SHP-2.....	- 9 -
Figure 1.4 :	L'axe CD47-SIRPα "Don't eat me".....	- 11 -
Figure 1.5 :	Recrutement et activation de SHP-2 via CD47–SIRPα.....	- 12 -
Figure 1.6 :	Variabilité génétique liée aux polymorphismes mononucléotidiques.....	- 13 -
Figure 1.7 :	SNPs Faux sens (missense).....	- 14 -
Figure 1.8 :	Mécanisme de phosphorylation de SHP-2.....	- 16 -
Figure 1.9 :	Structure chimique de la lovastatine.....	- 21 -
Figure 1.10 :	Représentation structurale de l'inhibiteur allostérique SHP099.....	- 22 -
Figure 1.11 :	Organisation structurale de l'inhibiteur PF-07284892.....	- 22 -
Figure 2.1 :	Base de donnée NCBI.....	- 27 -
Figure 2.2 :	Base de donnée UniProt.....	- 28 -
Figure 2.3 :	L'outil SIFT.....	- 29 -
Figure 2.4 :	L'outil PolyPhen-2.....	- 30 -
Figure 2.5 :	L'outil PROVEAN.....	- 31 -
Figure 2.6 :	L'outil InterPro.....	- 32 -
Figure 2.7 :	L'outil I-Mutant2.0.....	- 33 -
Figure 2.8 :	L'outil DUET.....	- 34 -
Figure 2.9 :	L'outil Missense3D.....	- 35 -
Figure 2.10 :	L'outil MutPred2.....	- 36 -
Figure 2.11 :	L'outil SWISS-MODEL.....	- 38 -
Figure 2.12 :	L'outil Phyre2.2.....	- 39 -
Figure 2.13 :	YASARA, FoldX.....	- 40 -
Figure 2.14 :	L'outil ClusPro.....	- 41 -
Figure 2.15 :	L'outil PyMOL.....	- 42 -
Figure 3.1 :	Prédictions des outils SIFT, PolyPhen, PROVEAN.....	- 44 -
Figure 3.2 :	Répartition des effets des SNPs sur la stabilité structurale de SHP-2 par I-Mutant et DUET.....	- 50 -

Liste des figures

Figure 3.3 : Répartition des effets structuraux des variants de SHP-2 prédits par Missense3D.....	- 51 -
Figure 3.4 : Répartition globale des SNPs et proportion des variants retenus pour l'analyse fonctionnelle.....	- 52 -
Figure 3.5 : Répartition des interactions conservées, perdues et gagnées dans les mutants de SHP-2.....	- 66 -

Liste des Tableaux

Tableau 2.1 : Classification des altérations moléculaires et de l'impact fonctionnel sur SHP-2.....	36 -
Tableau 3.1 : Répartition des SNPs dans les domaines conservés.....	45 -
Tableau 3.2 : Résultats d'analyse MutPred2.....	52 -
Tableau 3.3 : Résultats d'analyse des SNPs finaux par I-Mutant, DUET et Missense3D..	53 -
Tableau 3.4 : Résultats réalisés par Phyre2.....	54 -
Tableau 3.5 : QMEAN Z-Scores des modèles obtenus par SWISS-MODEL.....	57 -
Tableau 3.6 : Résultats de comparaison entre le site sauvage et le site muté.....	59 -
Tableau 3.7 : Delta Delta Interactions ($\Delta\Delta G$ Int) des variants de SHP2 avec SIRP α sauvage (FoldX).....	61 -
Tableau 3.8 : Visualisation des interactions.....	63 -
Tableau 3.9 : Analyse comparative des SNPs SHP-2.....	67 -
Tableau 3.10 : Résidus nouveaux de SIRP α (Absents dans le WT).....	68 -
Tableau 3.11 : Résidus nouveaux de SHP-2 muté (Absents dans le WT).....	68 -
Tableau 3.12 : Résidus perdus SHP-2 (présents dans le WT, absents dans les SNPs).....	68 -
Tableau 7.1 : Prédiction des SNPs par SIFT, PolyPhen et PROVEAN.....	83 -
Tableau 7.2 : Résultats de prédiction des SNPs tolérés par I-Mutant, DUET et Missense3D.....	134 -
Tableau 7.3 : Résultats des SNPs réalisés par MutPred2.....	154 -

Liste des Abréviations

SHP-2 : Src Homology 2 Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatase 2.

SHP-1 : Src Homology 2 Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatase 1.

SIRP α : Signal Regulatory Protein Alpha.

CD47 : Cluster of Differentiation 47.

PTPN11 : Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 11.

PTP : Protein Tyrosine Phosphatase.

SNP : Single Nucleotide Polymorphism.

SH2 : Src Homology 2.

CX_sR : C (Cystéine), X_s (cinq acides aminés quelconques) et R (Arginine).

pTyr : phosphotyrosine.

RPTP : Les PTP récepteurs.

NRPTP : Les PTP non récepteurs.

WPD : Tryptophan–Proline–Aspartate loop.

β 5– β 6 : Boucle située entre les brins β 5 et β 6 du domaine PTP.

P loop : Phosphate-binding loop (ou Phosphotyrosine phosphate-binding loop).

Q loop : Glutamine loop.

pTyr loop : Phosphotyrosine Recognition Loop (boucle de reconnaissance de la phosphotyrosine).

Cys459 : Cystéine 459.

Arg465 : Arginine 465.

N-SH2 : N-terminal Src Homology 2 domain.

C-SH2 : C-terminal Src Homology 2 domain.

PTPase : Protein Tyrosine Phosphatase domain

Y542 : Tyrosine 542.

Y580 : Tyrosine 580.

RAS : Rat Sarcoma.

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase.

PI3K : Phosphoinositide 3-Kinase.

AKT : Protein Kinase B.

Liste des abréviations

JAK : Janus Kinase.

STAT : Signal Transducer and Activator of Transcription

Glu76 (E76) : Acide glutamique.

Arg265 (R265) : Arginine 265.

Ser502 (S502) : Serine 502.

Site pY : Site de liaison à la phosphotyrosine.

RTK : Récepteurs à activité tyrosine kinase.

PTK : Protéine tyrosine kinase.

WT : Wild Type.

ALX148 : Advanced Lead Xenograft 148.

SHP099 : Src Homology 2 Domain-Containing Phosphatase 2 Inhibitor 099.

IgC : Immunoglobulin Constant domain.

IgV : Immunoglobulin Variable domain.

ITSM : Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif.

ITIM : Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif.

K358 : Lysine 358.

K364 : Lysine 364.

NEDD8 : Neural Precursor Cell Expressed, Developmentally Down-Regulated 8.

SENp8 : SUMO/Sentrin-Specific Peptidase 8.

MEC : Matrice Extracellulaire.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ncSNPs : Non-coding Single Nucleotide Polymorphisms.

ARNm: Acide Ribonucléique messenger.

LOF : Loss Of Function (perte de fonction).

GOF : Gain Of Function (gain de fonction).

D61G : Aspartate 61 (position de l'acide aminé dans la protéine) Glycine.

Y279C : Tyrosine 279 (position de l'acide aminé dans la protéine) cystéine.

JMML : Leucémie myélomonocytaire juvénile.

SNC : Système Nerveux Central.

Q256/F7 : Glutamine en position 256 /Phénylalanine en position 7.

Liste des abréviations

S502/Q76 : Sérine en position 502/Glutamine position 76.

Q256/R4 : Glutamine en position 256 /Arginine en position 4.

Q510/G60 : Glutamine en position 510 / Glycine en position 60.

Q506/A72 : Glutamine en position 506 /Alanine en position 72.

PTM: Modification post-traductionnelle.

Grb2: Growth Factor Receptor-Bound Protein 2.

SOS: Son of Sevenless.

PD-1: Programmed Cell Death Protein 1.

NF- κ B: Nuclear Factor Kappa B.

RAS: Rat Sarcoma.

ERK: Extracellular Signal-Regulated Kinase.

Y279C: Tyrosine 279 (position de l'acide aminé dans la protéine) Cystéine.

CD28 : Cluster of Differentiation 28.

IL-23 : Interleukine-23.

Src : Sarcoma kinase.

IL-17: Interleukin 17.

NET: Neutrophil Extracellular Trap.

TLR7: Toll-Like Receptor 7.

Th17: T Helper 17 cells.

MSC-EVs-SHP-2: Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Carrying SHP2.

IFN- γ : Interferon Gamma.

ND : Neurodegenerative Disease.

IL-17A/F : Interleukine-17A/F.

dbSNP : Database of Single Nucleotide Polymorphisms.

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

UniProt : Universal Protein Resource.

FASTA : Fast-All.

SIFT: Sorting Intolerant From Tolerant.

PolyPhen-2 : Polymorphism Phenotyping version 2.

PROVEAN : Protein Variation Effect Analyzer.

Liste des abréviations

InterPro : Integrated Protein Signature Database.

$\Delta\Delta G$: Variation de l'énergie libre de Gibbs.

SVM : Machines à Vecteurs de Support.

pH : Potentiel Hydrogène.

mCSM : mutation Cutoff Scanning Matrix.

SDM : Site Directed Mutator.

4DGP : Un code PDB.

PDB : Protein Data Bank.

SVM : Support Vector Machine.

pLDDT: predicted Local Distance Difference Test.

GMQE : Global Model Quality Estimation.

QSQE : Quaternary Structure Quality Estimate.

QMEAN : Qualitative Model Energy ANalysis.

3D : Three-Dimensional.

Seq Identity : Sequence Identity.

Phyre2 : Protein Homology/analogY Recognition Engine version 2.

MSA : Multiple Sequence Alignment.

HMM : Hidden Markov Mode.

YASARA: Yet Another Scientific Artificial Reality Application.

VdW : Van der Waals.

FFT : Fast Fourier Transform.

PyMOL: Python Molecular Graphics System.

Table des matières

Résumé	II
Abstract	III
ملخص	IV
Remerciements.....	V
Dédicace.....	VI
Liste des Figures	VIII
Liste des Tableaux	X
Liste des Abréviations.....	XI
Introduction	1
Chapitre I : Revue de la littérature.....	- 4 -
1.1. Généralités et Classifications :	- 5 -
1.1.1. Définition des PTPs	- 5 -
1.1.2. Classification des PTPs :	- 5 -
1.2. La Phosphatase SHP-2 (<i>PTPN11</i>) :	- 6 -
1.2.1. Structure et domaines SH2 et PTP :	- 6 -
1.2.2. Mécanisme de fonction et d'auto-inhibition de SHP-2 :	- 7 -
1.2.2. Stabilité de la protéine SHP-2 :	- 9 -
1.3. L'Axe de Signalisation CD47-SIRP α :	- 10 -
1.3.1. Présentation de l'axe CD47-SIRP α :	- 10 -
1.3.2. Recrutement et activation de SHP-2 par les motifs ITIM de SIRP α :	- 11 -
1.4. Les Polymorphismes Génétiques de SHP-2 :	- 12 -
1.4.1. Définition des polymorphismes génétiques :	- 12 -
1.4.2. Les SNPs augmentant l'activité phosphatase :	- 14 -
1.5. Gain de Fonction et Modifications Post-Traductionnelles de SHP-2 :	- 15 -
1.5.1. Modifications post-traductionnelles :	- 15 -
1.5.2. Gain de fonction :	- 17 -
1.6.1. Pathologies associées à la perturbation de SHP-2 :	- 17 -
1.6.1.1. Syndromes génétiques :	- 17 -
1.6.1.2. Maladies auto-immunes et auto-inflammatoires :	- 18 -
1.6.1.3. Cancers :	- 19 -
1.6.1.4. Maladies neurodégénératives :	- 19 -
1.6.2. Thérapies ciblant SHP2 :	- 20 -
1.6.2.1. Thérapies augmentant l'activité (approche knockout) :	- 20 -
1.6.2.2. Thérapies réduisant l'activité (approche knockdown) :	- 21 -

Table des matières

1.7. Analyse <i>in silico</i> et son rôle dans l'étude des SNPs :.....	- 23 -
1.8. Problématique, Objectifs et But de l'Étude :	- 23 -
1.8.1. Problématique :.....	- 23 -
1.8.2. Objectifs :	- 24 -
1.8.3. But de l'étude :	- 24 -
Chapitre II : Matériel et méthodes	- 25 -
2.1 Exploration de données :	- 27 -
2.2 Prédiction des nsSNP tolérés par différents outils de bio-informatique :	- 28 -
2.3 La détection des nsSNP localisés dans les régions conservées des gènes :.....	- 31 -
2.4 Étude de l'impact des nsSNP sur la stabilité des protéines :	- 32 -
2.5 Analyse des effets des nsSNP sur la structure de la protéine :	- 34 -
2.6 Analyse de l'impact fonctionnel et structural des nsSNP :	- 35 -
2.7 Modélisation :	- 37 -
2.8 Analyse de stabilité thermodynamique :	- 39 -
2.9 Docking moléculaire :	- 40 -
2.10 Visualisation :	- 41 -
Chapitre V : Conclusion et perspectives	- 72 -
Chapitre VI : Bibliographie.....	- 74 -

Introduction

Introduction :

L'oncogenèse et l'évolution tumorale ne résultent pas uniquement d'une prolifération cellulaire incontrôlée, mais reposent étroitement sur la capacité des cellules cancéreuses à mettre en place des mécanismes complexes d'échappement immunitaire. Parmi ces stratégies de survie, la manipulation des points de contrôle de l'immunité innée occupe une place déterminante.

En particulier, l'activation de l'axe de signalisation CD47–SIRP α constitue un point de contrôle immunitaire essentiel qui inhibe la phagocytose. Indispensable à l'auto-tolérance physiologique, ce mécanisme est détourné par les cellules cancéreuses qui surexpriment CD47 pour échapper à l'immunosurveillance innée. Cela permet aux cellules tumorales de bloquer la phagocytose dépendante des macrophages, compromettant ainsi l'une des premières barrières de défense de l'organisme (**Dizman & Buchbinder, 2021**).

Cet axe recrute et active la protéine tyrosine phosphatase SHP-2, codée par le gène *PTPN11*. Lorsque SIRP α est activée, SHP-2 exerce un contrôle inhibiteur sur la phagocytose en déphosphorylant des cibles protéiques cruciales pour la dynamique cellulaire (Li et al., 2023).

Cette action enzymatique bloque les processus d'attachement et de réorganisation structurale indispensables à l'encapsulation des cellules cancéreuses par les macrophages (**Li et al., 2023**). En plus de cette action directe, SIRP α contrôle la répartition intracellulaire de SHP-2, influençant par conséquent l'équilibre de signalisation et favorisant un état macrophagique immunosuppresseur (**Shi et al., 2021 ; Eminaga et Bennett, 2008**).

Cette voie est aujourd'hui une cible émergente des points de contrôle immunitaires myéloïdes. Elle montre une efficacité notable dans les cancers hématologiques, tandis que dans les tumeurs solides, les inhibiteurs sélectifs de SIRP α (tels que l'ALX148) sont plus performants, notamment en association thérapeutique. (**Son et al., 2022**).

Malgré ce succès, les taux de réponse varient et tous les patients ne bénéficient pas des traitements actuels. Cette hétérogénéité de réponse peut être expliquée par des variations génétiques affectant le fonctionnement de cet axe, notamment les polymorphismes de type SNPs du gène *PTPN11*. Les SNPs non synonymes (missense) localisés dans les régions codantes peuvent perturber l'interface d'auto-inhibition entre les domaines SH2 et le domaine PTP, stabilisant SHP-2 dans une conformation ouverte (**Edouard et al., 2007 ; Eminaga et**

Introduction

Bennett, 2008). Ces variants à gain de fonction présentent une activité phosphatase constitutivement augmentée et une affinité renforcée pour SIRP α , ce qui peut intensifier la signalisation inhibitrice et favorise l'échappement tumoral (**Eminaga et Bennett, 2008 ; Xu et al., 2021 ; Li et al., 2023**).

Pour étudier ces mécanismes et comprendre comment les variants de SHP-2 influencent la croissance tumorale, nous allons utiliser des approches *in silico*, car elles permettent d'analyser rapidement les mutations, de prédire leurs effets sur la protéine et de modéliser leurs interactions avec les traitements. Ces méthodes sont particulièrement pratiques car elles sont plus rapides, moins coûteuses et moins complexes que les expériences classiques, et elles nous aident à mieux planifier et optimiser les stratégies d'immunothérapie ciblée.

Notre étude porte sur l'analyse fonctionnelle des variants à gain de fonction de SHP-2 amplifiant l'activité phosphatase au sein de la signalisation inhibitrice post-SIRP α dans le but d'inhiber l'échappement tumoral.

Chapitre I :

Revue de la littérature

La classe I représente le groupe le plus important, avec environ 100 gènes (**Chen et al., 2017**). Cette classe regroupe les PTP à cystéine, caractérisées par un mécanisme catalytique reposant sur un résidu cystéine nucléophile situé au sein du motif signature CX₅R, hautement conservé dans l'ensemble de la famille (**Welsh et al., 2021**). En raison de leur diversité structurale et fonctionnelle, les PTP de classe I constituent la catégorie la plus vaste et la plus hétérogène des phosphatases humaines (**Chen et al., 2017 ; Tautz et al., 2013**).

Cette classe I se subdivise en deux sous-familles fonctionnelles :

1. Les PTP classiques, spécifiquement dirigés contre les résidus **phosphotyrosines (pTyr)**. Ils se décomposent eux-mêmes en deux groupes (**Welsh et al., 2021**) :

- **Les PTP récepteurs (RPTP)**, qui possèdent un domaine extracellulaire, un segment transmembranaire et un domaine catalytique intracellulaire
- **Les PTP non récepteurs (NRPTP)**, localisés exclusivement dans le compartiment intracellulaire. Ce dernier groupe inclut notamment le gène *PTPN11*, codant la phosphatase SHP-2 (**Andersen et al., 2001 ; Welsh et al., 2021**).

1.2. La Phosphatase SHP-2 (*PTPN11*) :

1.2.1. Structure et domaines SH2 et PTP :

Le produit protéique SHP-2 (Src Homology 2 domain-containing Protein Tyrosine Phosphatase 2) est une phosphatase non réceptrice spécifique des résidus tyrosine, il comporte 593 acides aminés (**Chen et al., 2024**). Ce dernier est codé par le gène *PTPN11*, situé sur le chromosome 12, au locus 12q24.13, sur une région d'environ 91 kb (**Yang & Lefebvre, 2025b**).

Sur le plan structural, SHP-2 est constituée d'un tandem de deux domaines SH2 situés à l'extrémité N-terminale : le domaine N-SH2 (codé par les exons 2 et 3) et le domaine C-SH2 (codé par les exons 4 et 5). Elle comprend ensuite un domaine catalytique central (PTPase, codé par les exons 6 à 13) qui renferme le site catalytique, la région fonctionnelle cœur de l'enzyme où s'effectue la réaction chimique de déphosphorylation des substrats (**Yu et al., 2014**). Structuellement, ce site est délimité par cinq boucles hautement flexibles (WPD, β5-β6, P, Q et pTyr) et repose sur des résidus d'acides aminés spécifiques, notamment la Cys459 qui joue le rôle de nucléophile pour attaquer le groupement phosphate, et l'Arg465 qui

Revue de la littérature

stabilise le substrat (Moon, 2025; Yuan et al., 2020) , suivi d'une queue C-terminale (codée par les exons 14 et 15) avec deux sites régulateurs de phosphorylation de la tyrosine

(Y542 et Y580), et d'un motif riche en proline (Hou et al., 2023; López Moreno et al., 2025; Yang & Lefebvre, 2025b).

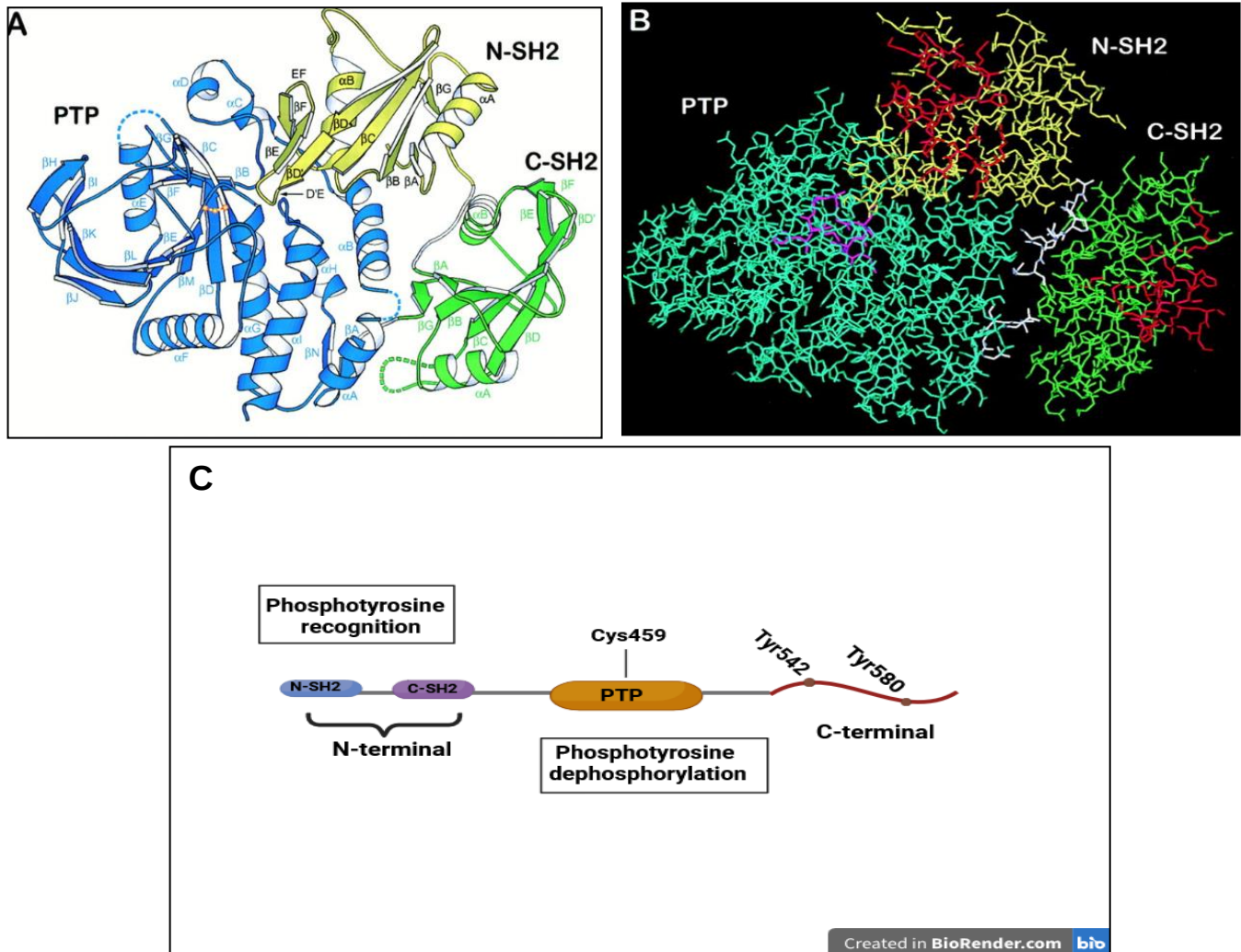


Figure 1.2 : Structure primaire et conformation tridimensionnelle de SHP-2 (Yang & Lefebvre, 2025b).

1.2.2. Mécanisme de fonction et d'auto-inhibition de SHP-2 :

SHP-2 est une protéine exprimée de manière ubiquitaire dans la plupart des tissus et agit comme un régulateur clé de multiples voies de signalisation. Elle exerce un rôle activateur positif sur des cascades majeures, notamment **RAS/MAPK**, **PI3K/AKT** et **JAK/STAT**, tout en contribuant négativement à la régulation de l'inflammation et de l'activation immunitaire (Chang et al., 2022; López Moreno et al., 2025). Le maintien de l'équilibre entre sa conformation ouverte active et son état basal autoinhibé repose sur un agencement précis et contrôlé des interactions entre ses différents domaines

Revue de la littérature

Dans l'état basal autoinhibé, le domaine **N-SH2** s'insère dans le site actif du domaine **PTP**, cette interface constitue le site allostérique fonctionnel de SHP-2 qui limite l'accès du substrat au centre catalytique. Cette conformation fermée n'est pas aléatoire : elle est stabilisée par un réseau dense d'interactions non covalentes. Par exemple, le résidu Glu76 (E76) du domaine N-SH2 établit de fortes liaisons hydrogène avec Arg265 (R265) et Ser502 (S502) du domaine PTP, contribuant à verrouiller la structure inhibée (**López Moreno et al., 2025; Pierotti & Köhn, 2026a**).

Lors de la stimulation de SHP-2 par des facteurs de croissance ou des cytokines activant les récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK), ou encore par des protéines d'échafaudage, deux résidus de tyrosine phosphorylée (pY) rapprochés spatialement interagissent avec le domaine **C-SH2**, initialement disponible. La liaison de ce domaine au premier site pY augmente la concentration locale du second site pY. Cette dynamique force le domaine N-SH2 à réorganiser sa conformation tridimensionnelle afin de s'y lier, induisant une rotation d'environ 120° de ce domaine par rapport au domaine PTP (**Y. Song, Zhao, et al., 2022a**). Cette nouvelle architecture est incompatible avec l'ancrage du domaine PTP, exposant ainsi le site catalytique et libérant l'autoinhibition, ce qui permet l'activation de l'activité phosphatase de SHP-2 (**Chang et al., 2022; López Moreno et al., 2025**).

Par ailleurs, la queue C-terminale spécifique de SHP-2 constitue une région régulatrice additionnelle. La phosphorylation de la tyrosine **Y542** perturberait l'interaction entre les domaines N-SH2 et PTP, favorisant ainsi une conformation active. De manière complémentaire, la phosphorylation de **Y580** augmenterait l'efficacité catalytique de SHP-2 en renforçant l'engagement du domaine C-SH2 (**López Moreno et al., 2025**).

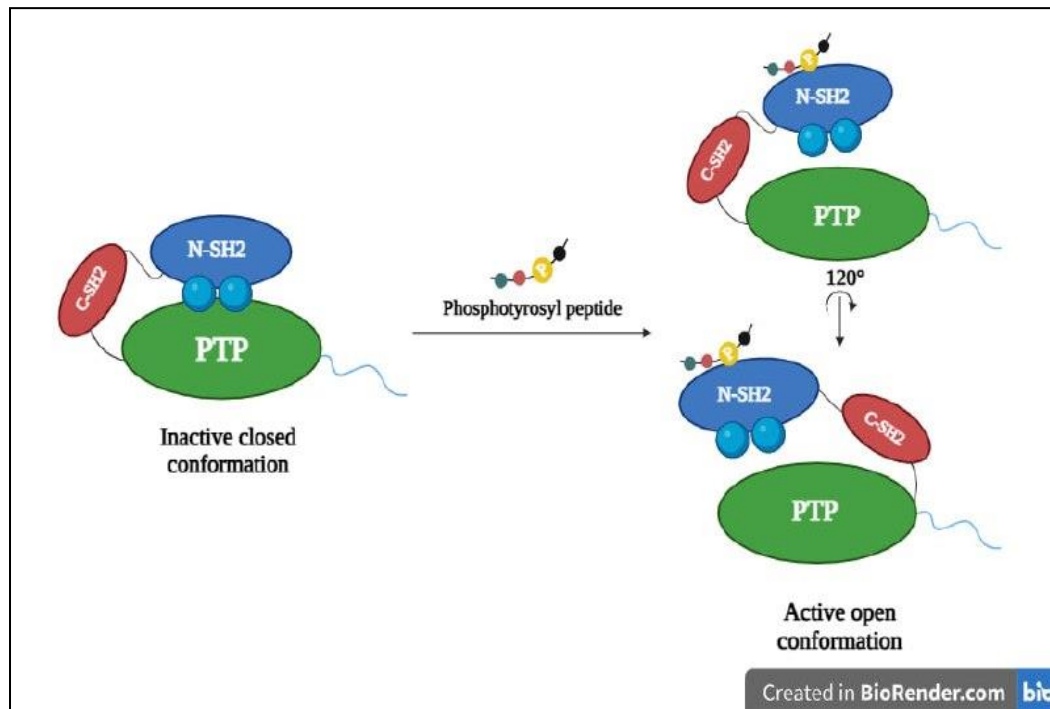


Figure 1.3 : Formes autoinhibée et activée de SHP-2.

1.2.2. Stabilité de la protéine SHP-2 :

La protéine SHP-2 présente une dynamique conformationnelle essentielle à sa fonction biologique, elle repose sur un équilibre entre deux états structuraux principaux :

- Un état fermé auto-inhibé, relativement stable et peu dynamique
- Un état ouvert actif, caractérisé par une forte flexibilité conformationnelle.

Dans le SHP-2 sauvage (WT) : L'état inactif est le point d'énergie le plus bas, ce qui signifie qu'il est naturellement l'état le plus stable pour la protéine seule. Lorsque SHP-2 est lié à un ligand, il doit franchir une barrière d'activation d'environ 70 kJ/mol pour adopter son état actif.

- ✓ Les mutations altèrent cet équilibre de stabilité, notamment la mutation E76K qui déstabilise l'état basal fermé et favorise un état ouvert actif, plus stable et plus accessible. Dans ce contexte, SHP-2 devient constitutivement actif, même en l'absence de peptides activateurs.
- ✓ Les approches thérapeutiques visent à restaurer cet équilibre initial comme dans le cas de l'inhibiteur allostérique SHP099 (n'agit pas sur le site actif) qui stabilise la conformation fermée de SHP-2, car il est efficace sur la forme sauvage mais son efficacité est réduite dans le cas des mutants oncogéniques tels que **E76K (Marasco et al., 2023; Wujieti et al., 2024).**

1.3. L'Axe de Signalisation CD47-SIRP α :

1.3.1. Présentation de l'axe CD47-SIRP α :

Le CD47 (Cluster of Differentiation 47), également connu comme *integrin-associated protein*, est une glycoprotéine transmembranaire d'environ 50 kDa. Elle possède un domaine extracellulaire de type immunoglobuline (IgV), cinq segments transmembranaires et une courte queue intracellulaire. CD47 est exprimé dans de nombreux types cellulaires, y compris les érythrocytes (**Bouwstra et al., 2022**).

CD47 interagit avec son récepteur inhibiteur SIRP α (Signal Regulatory Protein alpha), exprimé à la surface des cellules myéloïdes telles que les macrophages, les cellules dendritiques et les neutrophiles. SIRP α se caractérise par trois domaines extracellulaires de type immunoglobuline — un domaine distal de type IgV et deux domaines proximaux de type IgC — ainsi que par quatre résidus tyrosine dans sa région cytoplasmique.

Lors de l'engagement de CD47 avec SIRP α , les résidus tyrosine cytoplasmiques de SIRP α subissent une phosphorylation, conduisant à l'activation de motifs ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs). Ces motifs recrutent ensuite des phosphatases inhibitrices, ce qui déclenche une cascade de signaux négatifs empêchant l'activation de la phagocytose.

Cette interaction constitue un signal inhibiteur connu sous le nom de « don't eat me », permettant aux cellules d'échapper à l'élimination par les macrophages. Les cellules cancéreuses exploitent fréquemment ce mécanisme en surexprimant CD47 afin de détourner la signalisation CD47-SIRP α et ainsi échapper à la phagocytose et au contrôle immunitaire (**Bhardwaj et al., 2025; Tristan Maguet., 2020**).

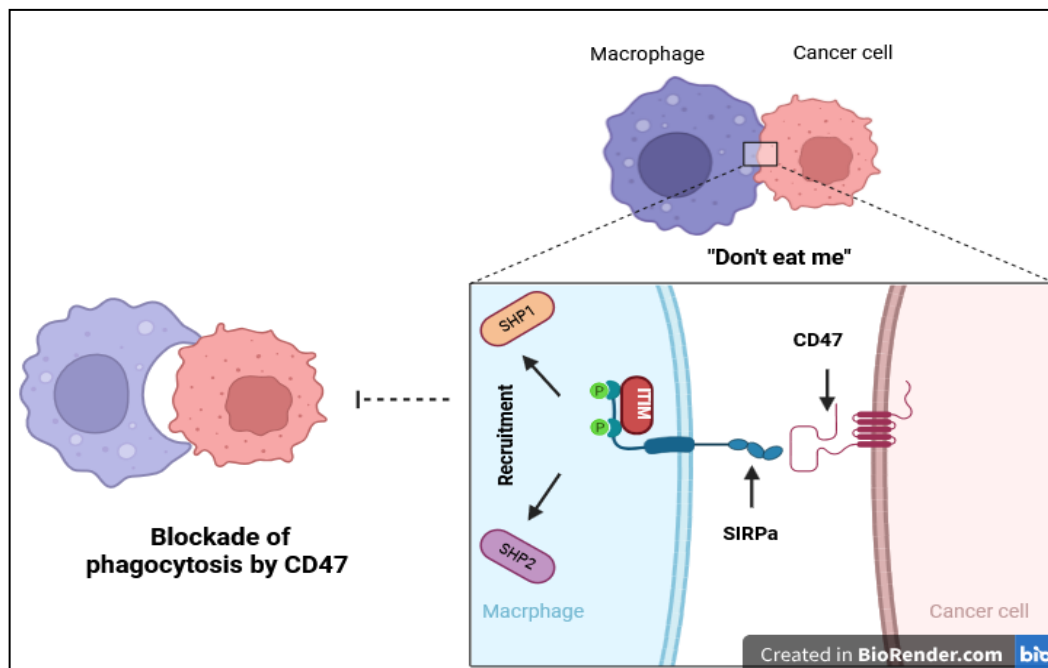


Figure 1.4 : L'axe CD47-SIRPα "Don't eat me".

1.3.2. Recrutement et activation de SHP-2 par les motifs ITIM de SIRPα :

L'activation du récepteur SIRPα par son ligand CD47 provoque la phosphorylation des motifs de signalisation ITIM et ITSM (courtes séquences d'acides aminés contenant une tyrosine) qui agissent comme des sites d'ancrage pour les domaines SH2 des SHP-2 (Logtenberg et al., 2020).

Parallèlement, cette interaction déclenche la déneddylation de SHP-2 néddylée dans l'état basal, c'est-à-dire modifiée par la conjugaison de la protéine ubiquitine-like NEDD8 sur les résidus lysine K358 et K364. L'engagement de CD47 avec SIRPα active la protéase spécifique SENP8 (sentrin-specific protease 8), qui catalyse la déneddylation de SHP-2 en retirant les groupements NEDD8. Ce processus relâche l'autoinhibition de SHP-2 et déverrouille son domaine catalytique PTP, rendant la phosphatase pleinement fonctionnelle (Kharitonov et al., 1997; Li et al., 2023).

L'ancrage de SHP-2 sur SIRPα est le point principal pour atteindre le but de cet axe, induisant une paralysie mécanique et structurelle très ciblée de la machinerie cellulaire du macrophage :

- **Sur le plan mécanique** : la SHP-2 déphosphoryle directement des protéines à proximité comme : les protéines associées aux intégrines et FAK (Focal Adhesion Kinase) et la

Vinculine et la paxilline ce qui renforcent les signal CD47-SIRP α , ce qui empêche le macrophage de s'ancrer fermement à sa cible (Li et al., 2023; Sabrin Mishel., 2023).

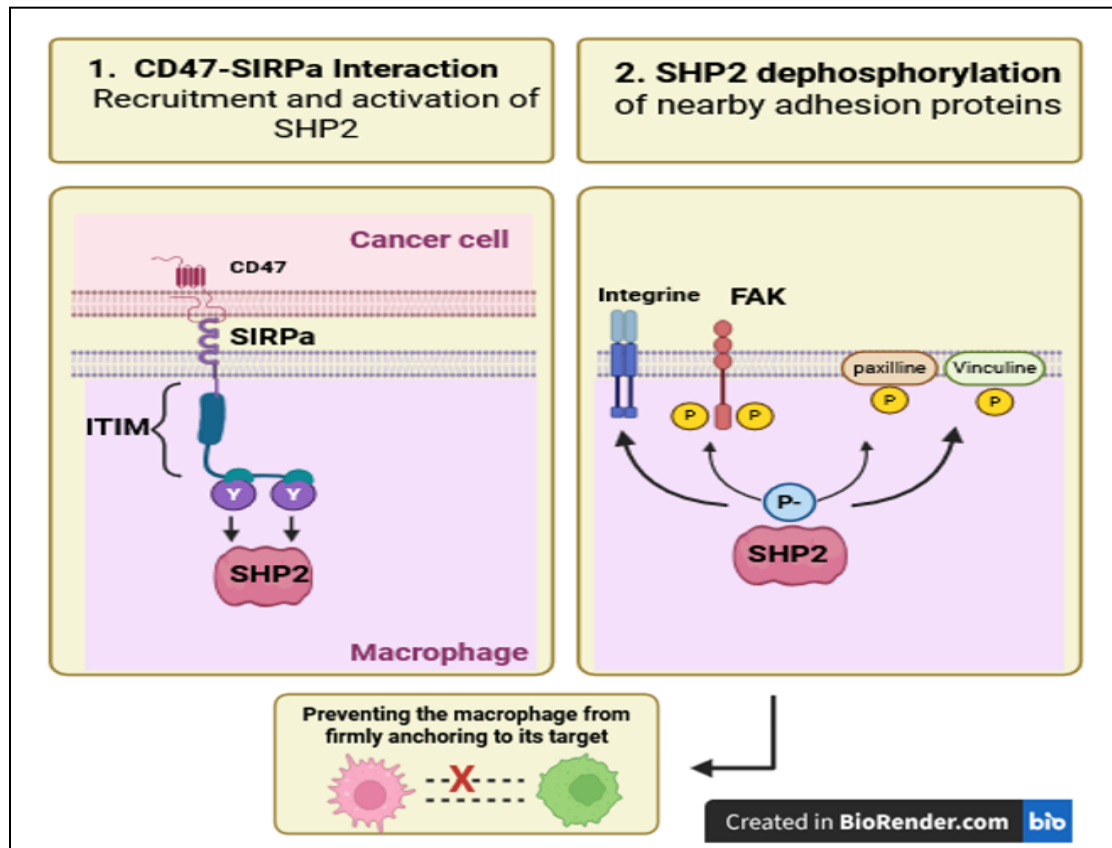


Figure 1.5 : Recrutement et activation de SHP-2 via CD47–SIRP α

- **Sur le plan structurel** : L'englobement de la cellule cible par le macrophage nécessite le remodelage de la MEC suite à la formation d'une structure appelée la coupe phagocytaire grâce aux pseudopodes et l'utilisation des protéines motrices comme la myosine IIA qui s'accumule au niveau de la coupe phagocytaire (Li et al., 2023; Logtenberg et al., 2020).

Lorsque le SHP-2 s'active, il bloque la formation de cette coupe en supprimant les pseudopodes et désactivant la myosine IIA. Cela empêche le réarrangement du cytosquelette d'actine nécessaire pour englober la cible, bloquant ainsi la phagocytose par le macrophage.

1.4. Les Polymorphismes Génétiques de SHP-2 :

1.4.1. Définition des polymorphismes génétiques :

Les polymorphismes sont considérés comme des biomarqueurs qui jouent un rôle essentiel dans le domaine biologique et médical (Eguia Del Valle et al., 2018). Ils sont responsables de la variabilité des traits physiques, de la susceptibilité aux maladies et de la réponse

différentielle aux médicaments, aux vaccins et aux agents pathogènes (A.F. Al-Koofee & M.H. Mubarak, 2020; Sukhumsirichart, 2018).

Le polymorphisme génétique correspond à l'existence de plusieurs versions différentes (appelées allèles) d'un même segment d'ADN chez les individus d'une même espèce (Teama, 2018). Ces variations se situent à un endroit précis et fixe du chromosome, appelé locus. Bien que 99,9 % de l'ADN soit identique entre deux individus de l'espèce humaine, les 0,1 % restants sont représentés par les polymorphismes. Pour qu'une variation soit considérée comme un polymorphisme, sa fréquence doit être $\geq 1\%$ (A.F. Al-Koofee & M.H. Mubarak, 2020; Sukhumsirichart, 2018).

Certains polymorphismes peuvent modifier l'expression de gènes impliqués dans des processus biologiques clés (comme la réponse inflammatoire ou la régulation cellulaire), entraînant ainsi une dérégulation des mécanismes physiologiques espèce (Teama, 2018).

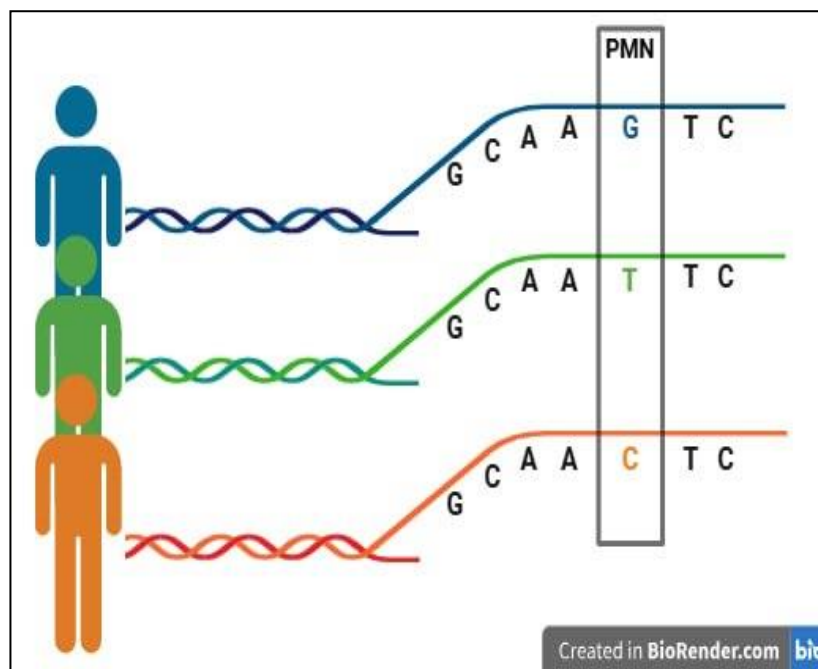


Figure 1.6 : Variabilité génétique liée aux polymorphismes mononucléotidiques.

Le polymorphisme le plus courant est le polymorphisme nucléotidique unique (SNP), car il correspond à un changement d'une seule base azotée (nucléotide) à un endroit précis du génome. L'effet d'un SNP dépend de sa localisation génomique où il peut affecter des régions non codantes (ncSNPs) qui sont souvent neutres ; cependant, lorsqu'il touche des régions régulatrices, il peut influencer l'expression génique en modifiant l'épissage de l'ARNm, la

stabilité de la transcription ou la liaison des facteurs de transcription (**I. Udoh et al., 2021; Kaur & Mukhopadhyay, 2022**).

Dans les régions codantes, lorsque la variation ne change pas l'acide aminé de la protéine, on parle de SNPs synonymes. En revanche, lorsque cette substitution entraîne l'incorporation d'un acide aminé différent au sein de la chaîne polypeptidique, on parle de SNPs non synonymes (missense). Ce type de SNP peut altérer la structure et la fonction de la protéine (**I. Udoh et al., 2021; Kaur & Mukhopadhyay, 2022**).

Dans notre recherche, nous nous concentrons sur ces SNPs missense affectant la protéine SHP-2, pouvant provoquer un gain de fonction, en particulier ceux classés comme SNPs tolérés.

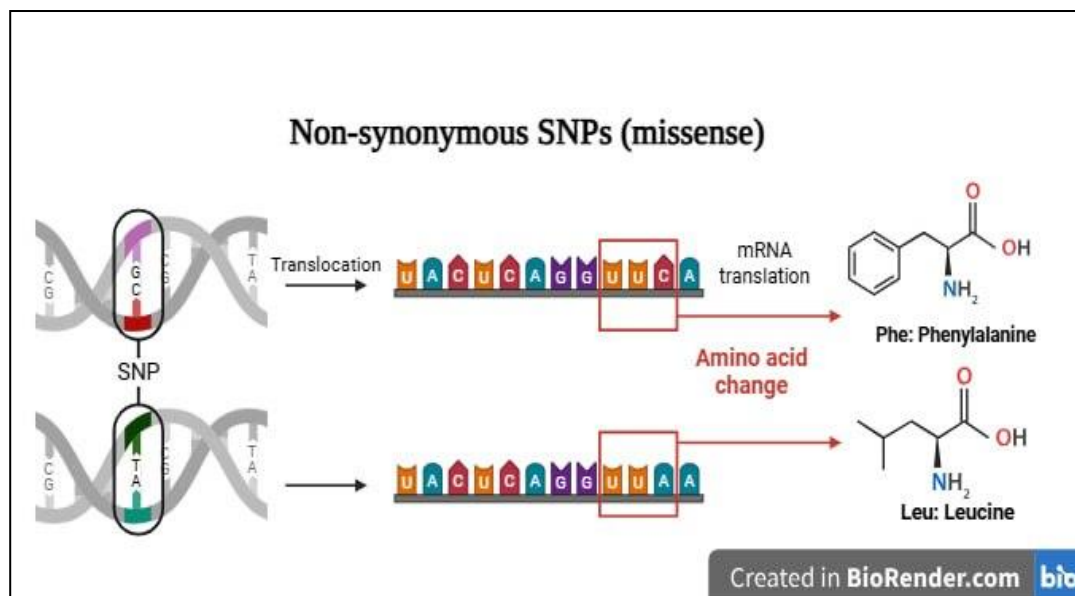


Figure 1.7 : SNPs Faux sens (missense).

1.4.2. Les SNPs augmentant l'activité phosphatase :

Dans certains cas particuliers, la conformation auto-inhibée et l'activité catalytique de la phosphatase SHP-2 peuvent être altérées par des mutations ponctuelles de type SNP faux-sens affectant le gène proto-oncogène *PTPN11*. Ces substitutions d'acides aminés peuvent induire des modifications structurales de la protéine sauvage SHP-2, conduisant soit à des pertes de fonction (LOF), soit à des gains de fonction (GOF).

Les mutations entraînant une perte de fonction peuvent perturber la formation de la surface de reconnaissance du substrat phosphotyrosine (pTyr) et altérer l'activité de déphosphorylation. Ce phénomène résulte notamment d'une diminution de l'interaction

intramoléculaire entre le domaine N-SH2 et le domaine catalytique PTP, compromettant ainsi la reconnaissance et la liaison du substrat.

À l'inverse, certaines mutations induisent un gain de fonction en favorisant l'adoption d'une conformation ouverte de la protéine. Dans cet état, le domaine N-SH2 se déplace vers le côté opposé du domaine PTP, à la suite d'une rotation du domaine C-SH2 d'environ 120° par rapport à celui-ci. Cette réorganisation structurale augmente l'accessibilité de la poche catalytique et entraîne la transition de l'état auto-inhibé vers un état activé de la protéine **(Rafiq et al., 2025; Um et al., 2025)**.

Ces variants peuvent être associés à différentes pathologies, notamment des syndromes du développement et des hémopathies malignes. Par exemple, certaines mutations du gène *PTPN11* sont impliquées dans le Syndrome de Noonan (ex. : D61G) et le Syndrome LEOPARD (ex. : Y279C), ainsi que dans divers troubles neurodéveloppementaux et certaines leucémies (ex. : E76Q) **(Rehman et al., 2019; Tajan et al., 2015)**.

Le SNP E76Q correspond à une mutation somatique de type gain de fonction (GOF) de la protéine SHP-2. Cette altération est identifiée chez environ 35 % des patients atteints de Leucémie myélomonocytaire juvénile (JMML). Elle affecte l'exon 3 du gène, qui code pour le domaine régulateur N-SH2. Cette mutation correspond à la substitution de l'acide aminé glutamate par une glutamine en position 76 (E76Q).

Cette substitution entraîne une diminution des interactions intramoléculaires stabilisant l'état auto-inhibé de la protéine, en perturbant les interactions d'interface Q256/F7 et S502/Q76, ainsi qu'en affaiblissant les interactions Q256/R4, Q510/G60 et Q506/A72 entre les domaines N-SH2 et PTP. En conséquence, la boucle D'E (un interrupteur conformationnel situé dans le domaine régulateur N-SH2) s'éloigne du site catalytique du domaine PTP, ce qui favorise la dissociation de l'interface N-SH2/PTP et contribue à la stabilisation d'une conformation ouverte et catalytiquement active de la protéine **(Rehman et al., 2019)**.

1.5. Gain de Fonction et Modifications Post-Traductionnelles de SHP-2 :

1.5.1. Modifications post-traductionnelles :

Après la synthèse des protéines, elles vont subir des changements chimiques impliquant l'ajout ou la modification de liaisons covalentes sur les acides aminés c'est ce qu'on appelle les modifications post-traductionnelles des protéines (MPT). Ces modifications augmentent

Revue de la littérature

fortement la diversité fonctionnelle des protéines et sont essentielles à la complexité des organismes.

Ces MPT peuvent modifier plusieurs propriétés des protéines, notamment leur conformation, leur activité enzymatique, leur localisation cellulaire, leur stabilité, leurs charges électriques et leurs interactions avec d'autres molécules biologiques.

On dénombre aujourd'hui plus de 650 types, parmi les plus connues : la phosphorylation, l'ubiquitination, la glycosylation, la méthylation, la SUMOylation (Zhong et al., 2023).

Le SHP-2 subit aussi des modifications parmi eux la phosphorylation qui est une modification réversible et fondamentale car elle joue un rôle critique dans le passage de l'enzyme d'un état basal auto-inhibé à un état actif (Marasco et al., 2021). Cette phosphorylation affecte le domaine C-terminale plus précisément les résidus Y542, Y580 ce qui mène à l'activation indirect de cette protéine et d'agir comme une protéine adaptatrice qui recrute des partenaires de signalisation (Grb2/SOS) (Asmamaw et al., 2022; Y. Song, Zhao, et al., 2022b).

En outre, des découvertes récentes indiquent que la phosphorylation du domaine N-SH2 lui-même (site Y62) augmente directement l'activité catalytique de la phosphatase et induit une conformation ouverte et active de SHP-2, similaire à celle observée dans les formes constitutivement actives (Karunaraj et al., 2025; Pierotti & Köhn, 2026b).

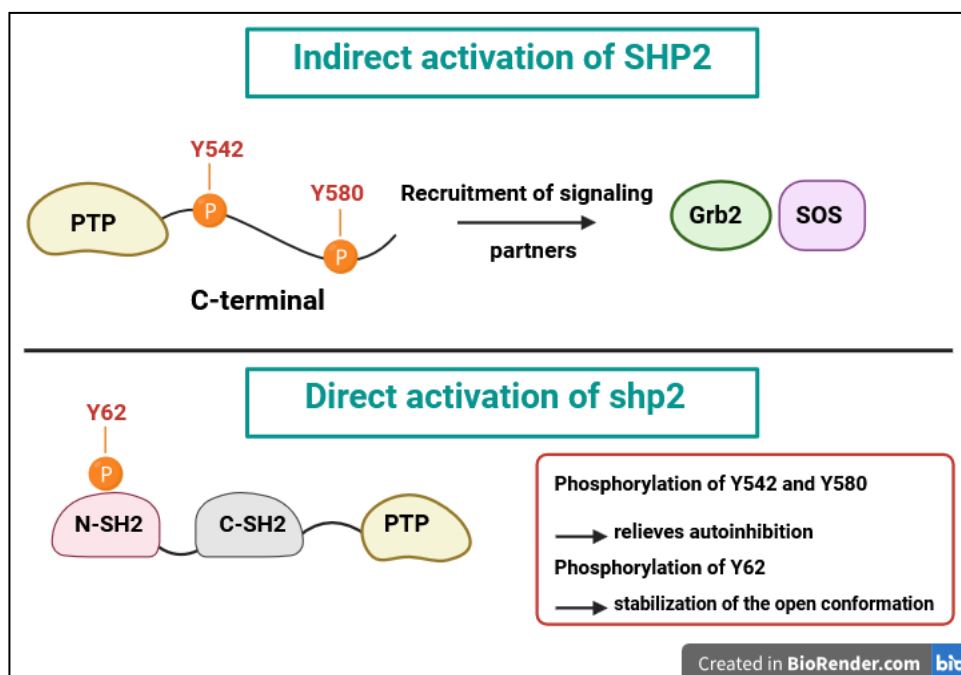


Figure 1.8 : Mécanisme de phosphorylation de SHP-2.

1.5.2. Gain de fonction :

Est un phénomène biologique qui permet à une protéine d'augmenter son activité, d'acquérir une nouvelle fonction ou de présenter une activation persistante dépassant ses limites physiologiques normales (**Matozaki et al., 2009; Scheiter et al., 2024**).

Ce gain de fonction (GOF) est fréquemment provoqué par des mutations appelées mutations de gain de fonction. Ces dernières modifient les profils d'expression qui se produisent dans les régions régulatrices des gènes (**Rougvie, 2013**).

Ces mutations peuvent affecter la protéine tyrosine phosphatase SHP-2, où elles induisent un passage vers un état de gain de fonction selon les mécanismes suivants :

- **Rupture de l'auto-inhibition conformationnelle :** Le gain de fonction provoque des modifications structurelles déstabilisant le verrou qui bloque l'accès au site actif (**Matozaki et al., 2009**), forçant la protéine à rester dans une conformation ouverte et active (**Rafiq et al., 2025; Scheiter et al., 2024**).
- **Altération de l'interface de verrouillage :** Des résidus spécifiques, notamment au niveau de l'exon 3 (domaine N-SH2), constituent des points critiques. Des changements affectant des résidus tels que E76 ou D61 affaiblissent les liaisons hydrogène et les interactions ioniques qui maintiennent le verrou fermé (**Rafiq et al., 2025**).

1.6. Conséquences Pathologiques et Ciblage Thérapeutique de SHP-2 :

1.6.1. Pathologies associées à la perturbation de SHP-2 :

Des mutations du gène *PTPN11* peuvent perturber l'activité de SHP-2 et sont impliquées dans plusieurs pathologies humaines distinctes, incluant des syndromes développementaux et des cancers. Parmi celles-ci :

1.6.1.1. Syndromes génétiques :

1.6.1.1.1. Syndrome de Noonan :

Le syndrome de Noonan est un trouble autosomique dominant caractérisé par une petite taille proportionnée, un dysmorphisme facial typique et des anomalies cardiaques congénitales. Environ 50 % des cas sont attribués à des mutations du gène *PTPN11*, telles que D61G et N308D. La plupart de ces mutations affectent des résidus situés à l'interface entre les domaines N-SH2 et PTP, entraînant une augmentation de l'activité enzymatique de SHP-2 et une activation accrue de la voie de signalisation RAS/ERK.

1.6.1.1.2. Syndrome LEOPARD :

Le syndrome de LEOPARD, également de transmission autosomique dominante mais plus rare, constitue une entité distincte. Son acronyme correspond à ses principales manifestations cliniques : lentigines multiples, anomalies de la conduction cardiaque, anomalies génitales, retard de croissance, hypertélorisme oculaire et surdité. Cette pathologie est majoritairement associée à des mutations du gène *PTPN11*, notamment la mutation Y279C.

Contrairement au syndrome de Noonan, les mutations impliquées dans le syndrome de LEOPARD touchent principalement des résidus du domaine PTP, ce qui conduit à une diminution significative de l'activité catalytique de SHP-2 ainsi qu'à une réduction de l'activation de la voie RAS/ERK (Qiu et al., 2014).

1.6.1.2. Maladies auto-immunes et auto-inflammatoires :

La phosphatase SHP-2 agit comme un régulateur central de la signalisation pathogénique, particulièrement dans :

1.6.1.2.1. Lupus érythémateux systémique :

Une maladie auto-immune caractérisée par des signes cliniques touchant plusieurs organes comme la peau, les reins, le SNC, le système cardiovasculaire... (Crow, 2023) Ces manifestations reflètent le dysfonctionnement du système immunitaire, où SHP-2 joue un rôle majeur ; car il participe à la régulation négative de l'activation des LT via trois mécanismes principaux :

- L'inhibition de la voie de contrôle PD-1 et le blocage de l'axe CD28-NFκB-AKT, empêchant ainsi l'autorégulation des cellules T.
- L'amplification de la voie ERK1/2, et il favorise l'expansion clonale des cellules T autoréactives.
- Déphosphoryle les protéines STAT et la production des cytokines pro-inflammatoires IL-17 (Le Sommer & Kontaridis, 2025).

1.6.1.2.2. Psoriasis :

Une maladie auto-immune et auto-inflammatoire hybride, elle est caractérisée par une prolifération excessive des cellules épidermiques, une peau sèche, rouge, des démangeaisons et des squames.

À cet égard, SHP-2 intervient majoritairement dans l'immunité innée, où les neutrophiles la surexpriment. Cette protéine favorise la formation des pièges neutrophiliques (NET) en maintenant les lésions cutanées.

Cependant, elle intervient aussi dans les macrophages, car elle déphosphoryle TLR7, facilitant son clivage, ce qui induit une production d'IL-23, régulant ainsi les réponses T, en particulier les

1.6.1.3. Cancers :

Dans ce cas-là, SHP-2 participe à plusieurs processus tumoraux, car il facilite l'invasion tumorale et la métastase. Comme dans le cancer du sein, il active plusieurs protéines (ex : Src, ERK...) qui augmentent la migration cellulaire.

Cependant, dans l'apoptose, SHP-2 agit comme un inhibiteur, où il empêche la destruction des cellules cancéreuses. De plus, les mutations à gain de fonction rendent la protéine hyperactive, comme dans le cas de E76K, ce qui va bloquer l'apoptose et les cellules tumorales ne meurent pas.

SHP2 participe également à la prolifération des cellules tumorales et à la régulation du cycle cellulaire ; car il favorise la croissance des cellules cancéreuses en activant les voies de signalisation ERK et PI3K/AKT. Il permet de passer d'une phase à une autre dans le cycle et aide les cellules à échapper à la sénescence. En plus, dans les cellules HeLa, SHP-2 contrôle les points de contrôle régulant le cycle cellulaire.

Enfin, il participe aussi à l'activation des voies qui rendent la cellule cancéreuse moins sensible aux médicaments. C'est pourquoi, aujourd'hui, les chercheurs s'intéressent beaucoup à SHP-2 comme cible thérapeutique (**Zhang et al., 2015**).

1.6.1.4. Maladies neurodégénératives :

Dans le cadre des maladies neurodégénératives (ND) comme la maladie d'Alzheimer et de Parkinson, SHP-2 est exprimée principalement dans différents types de neurones, tandis que les cellules gliales en expriment très peu. Elle émerge comme un régulateur moléculaire clé dont les effets sont souvent bidirectionnels :

Une réduction de SHP-2 dans les cellules précurseurs du cerveau empêche la formation normale des neurones, ce qui signifie que cette dernière aide les cellules souches neurales à devenir des neurones plutôt que d'autres types cellulaires.

Un mauvais contrôle de SHP-2 peut perturber l'équilibre entre les différents types cellulaires du cerveau et entraîner des troubles neurologiques.

Par exemple, dans la maladie d'Alzheimer, SHP-2 interagit directement avec la protéine Tau, ce qui active la voie de signalisation MAPK et induit une entrée anormale des neurones dans le cycle cellulaire, menant à leur perte.

À l'inverse, SHP-2 peut aussi jouer un rôle protecteur, car elle permet d'atténuer les déficits cognitifs et la perte synaptique en favorisant la mitophagie (élimination des mitochondries défectueuses) (**Pang et al., 2025a**).

1.6.2. Thérapies ciblant SHP2 :

Compte tenu de son rôle central dans de nombreuses pathologies, SHP-2 s'impose aujourd'hui comme une cible thérapeutique prometteuse. En raison de son rôle bidirectionnel, les stratégies thérapeutiques visent soit à augmenter son activité, comme dans le cas des maladies neurodégénératives (**Pang et al., 2025b**), soit à la réduire, notamment dans le cancer, où SHP-2 participe à l'activation de voies de signalisation conférant aux cellules tumorales une résistance aux traitements, ainsi que dans certaines pathologies auto-immunes (**Z. Song et al., 2021; J. Wang et al., 2016**).

1.6.2.1. Thérapies augmentant l'activité (approche knockout) :

- ❖ Dans le contexte des maladies neurodégénératives, SHP-2 présente des propriétés bénéfiques. À cet effet, les chercheurs ont développé des approches thérapeutiques visant à renforcer son activité, telles que :
 - ✓ **La lovastatine** : identifiée comme un activateur prometteur de SHP-2, elle est étudiée pour son potentiel thérapeutique dans la maladie de Parkinson. Elle favorise la translocation de SHP-2 vers les mitochondries, permettant la déphosphorylation de Parkin et l'induction de la mitophagie.



- [illegible]

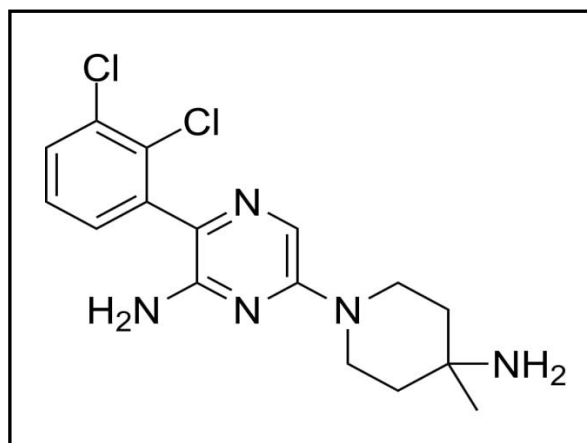


Figure 1.10 : Représentation structurale de l'inhibiteur allostérique SHP099 (S. Wang et al., 2020).

- ✓ **Le PF-07284892 (ARRY-558)** : il s'agit d'un inhibiteur allostérique puissant et hautement sélectif de SHP2, qui maintient la protéine dans sa conformation inactive. Il se lie à une région spécifique située dans un tunnel formé entre les domaines N-SH2, C-SH2 et PTP. Sa structure chimique lui permet de s'insérer plus profondément dans ce site par rapport aux autres inhibiteurs de sa classe, établissant des interactions renforcées qui confèrent une sélectivité élevée vis-à-vis d'autres phosphatases, notamment SHP-1. Parmi les cancers traités par cet inhibiteur il y a le cancer colorectal, le cancer de l'ovaire et le cancer du pancréas (Y. Song, Wang, et al., 2022).

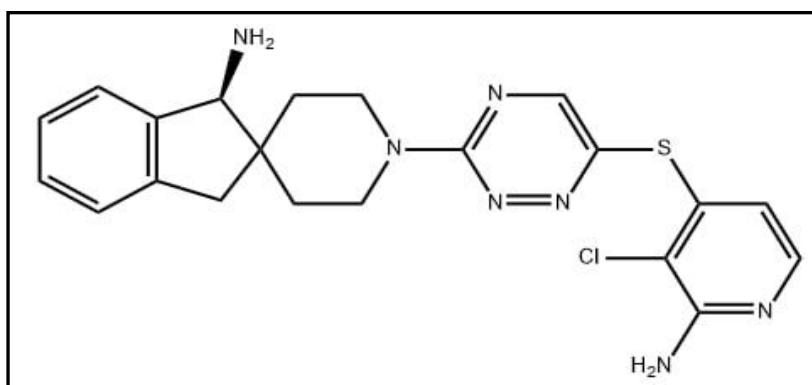


Figure 1.11 : Organisation structurale de l'inhibiteur PF-07284892 (PubChem).

- Dans le lupus érythémateux, **l'inhibiteur 11a-1** constitue un agent sélectif, puissant et réversible de SHP-2. Il module la voie de signalisation ERK/MAPK, entraînant une

diminution de la prolifération des lymphocytes T ainsi qu'une réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IFN- γ et l'IL-17A/F (Wang et al., 2016).

1.7. Analyse *in silico* et son rôle dans l'étude des SNPs :

Les analyses *in silico*, dont le terme est dérivé par analogie avec les concepts expérimentaux *in vivo* et *in vitro*, permettent de simuler et de reproduire, à l'aide d'outils informatiques, des phénomènes biologiques observés dans la nature, ce qui relève du domaine de la bioinformatique (Al-Mohaya et al., 2024; Lin et al., 2020).

Les études *in silico* jouent un rôle essentiel dans l'identification, la caractérisation et la priorisation des polymorphismes nucléotidiques uniques (SNP), en particulier les SNP non synonymes (nsSNP), en permettant une analyse rapide, économique et à grande échelle (Dakal et al., 2017a).

Elles permettent d'abord de prédire l'impact fonctionnel des mutations en distinguant les variants délétères de ceux neutres, ainsi que d'analyser la conservation évolutive des résidus. Ensuite, elles facilitent la modélisation structurale des protéines, permettant de visualiser l'impact des mutations sur la conformation tridimensionnelle, et même de comprendre comment une mutation peut perturber la fonction biologique, en évaluant la stabilité protéique et en analysant les interactions protéine-protéine (comme le docking). Enfin, elles contribuent à établir des corrélations avec les maladies en intégrant des données expérimentales et cliniques, permettant ainsi de prioriser certains SNP comme biomarqueurs potentiels ou cibles thérapeutiques (Dakal et al., 2017a; Rozario et al., 2021).

Toutes ces propriétés offrent un cadre rigoureux pour l'étude des structures protéiques telles que la phosphatase SHP-2 (Hossain et al., 2020).

1.8. Problématique, Objectifs et But de l'Étude :

1.8.1. Problématique :

Dans le cadre de cette étude, nous analyserons *in silico* les variants SNPs du gène *PTPN11* et leur impact sur la structure et la fonction de la protéine SHP-2, ainsi que l'étendue de leur implication dans l'amplification de la signalisation inhibitrice post-SIRP α et l'échappement tumoral à l'immunosurveillance innée, dans le but de découvrir de nouvelles pistes pour le diagnostic moléculaire et l'optimisation des stratégies d'immunothérapie ciblée.

1.8.2. Objectifs :

L'objectif central de cette étude est d'identifier, par une approche *in silico* multi-niveaux, les mutations du gène *PTPN11* susceptibles d'altérer la stabilité et la structure de la protéine SHP-2, et d'induire des mécanismes de gain de fonction.

Dans ce cadre, les SNPs non synonymes associés à SHP-2 seront d'abord identifiés et collectés, puis filtrés en variants tolérés à l'aide d'approches de prédiction fonctionnelle.

Les mutations sélectionnées (tolérées) feront ensuite l'objet d'une évaluation de leur impact sur la stabilité protéique, suivie d'une analyse structurale basée sur des méthodes adaptées et des modèles tridimensionnels de la protéine.

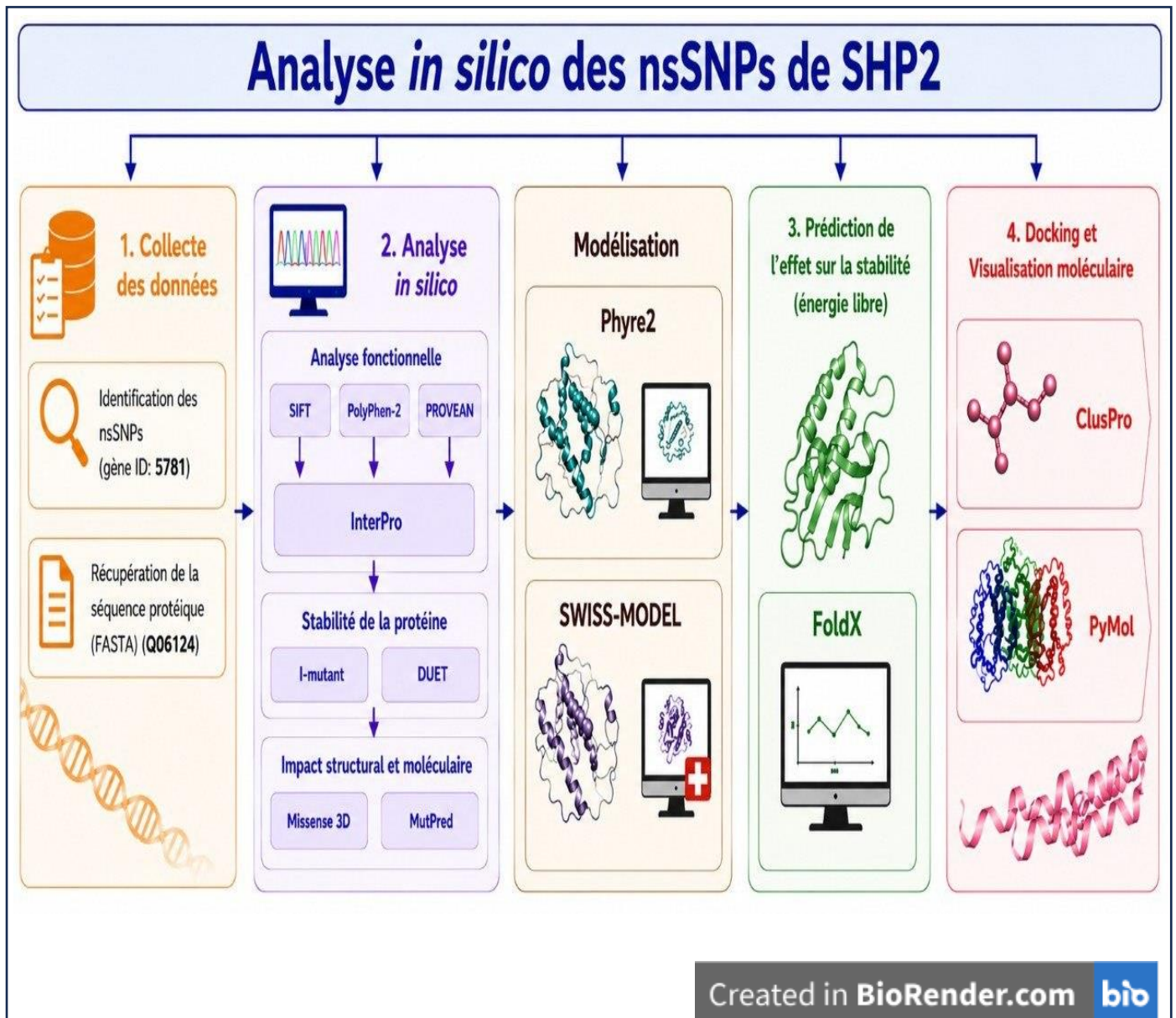
Enfin, une corrélation entre les résultats fonctionnels et structuraux permettra d'identifier les mutations les plus susceptibles de favoriser un état actif constitutif de SHP-2.

1.8.3. But de l'étude :

Le but de cette étude est de classifier les polymorphismes du gène *PTPN11* en distinguant les variants tolérés des variants délétères, afin d'analyser précisément leur impact sur la stabilité et la structure de la protéine SHP-2 et d'identifier les mutations susceptibles d'induire une activation constitutive par gain de fonction.

Chapitre II :

Matériel et méthodes



2.1 Exploration de données :

Afin d'étudier les variations génétiques de la protéine SHP-2, nous avons utilisé deux ressources biologiques de référence. Les polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs) ont été extraits de la base de données dbSNP du NCBI. Cette ressource permet d'accéder à un catalogue de variations, incluant leurs fréquences alléliques et leurs conséquences fonctionnelles potentielles (Phan et al., 2025).

([National Center for Biotechnology Information](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/))



The screenshot displays the NCBI Gene database entry for PTPN11. The header includes the NIH logo and the text "National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information". The main content area shows the gene name "PTPN11 protein tyrosine phosphatase non-receptor type 11 [Homo sapiens (human)]" and a "Download Datasets" button. A "Summary" section provides details on the official symbol, full name, primary source, and a detailed description of the protein's function. A "Table of contents" sidebar on the right lists various sections including Genomic context, Expression, Bibliography, Phenotypes, Variation, HIV-1 interactions, Pathways from PubChem, Interactions, General gene information, and General protein information.

Figure 2.1 : Base de donnée NCBI.

Parallèlement, la séquence primaire de la protéine SHP-2 (identifiant UniProt : **Q06124**) a été récupérée au format FASTA à partir de l'UniProt Knowledgebase (UniProtKB). Cette base de données garantit l'accès à une séquence de référence de haute qualité, enrichie d'annotations fonctionnelles expertes, indispensable pour les analyses bioinformatiques ultérieures (The UniProt Consortium et al., 2023). ([UniProt](https://www.uniprot.org/))

The screenshot shows the UniProt database entry for PTPN11_HUMAN (Q06124). The interface includes a top navigation bar with links to BLAST, Align, Peptide search, ID mapping, SPARQL, and UniProtKB. The main content area is divided into several sections:

- Function:** Acts downstream of various receptor and cytoplasmic protein tyrosine kinases to participate in the signal transduction from the cell surface to the nucleus (PubMed:10655584, PubMed:14739280, PubMed:18559669, PubMed:18829466, PubMed:26742426, PubMed:28074573, PubMed:32184441). Positively regulates MAPK signal transduction pathway (PubMed:28074573). Dephosphorylates GAB1, ARHGAP35 and EGFR (PubMed:28074573). Dephosphorylates ROCK2 at 'Tyr-722' resulting in stimulation of its RhoA binding activity (PubMed:18559669).
- Names & Taxonomy:** Protein: Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11; Gene: PTPN11; Status: UniProtKB reviewed (Swiss-Prot); Organism: Homo sapiens (Human).
- Amino acids:** 593 (go to sequence).
- Protein existence:** Evidence at protein level.
- Annotation score:** 5/5.

The 'Function' tab is currently selected, showing a detailed description of the protein's role in signal transduction. Other tabs include Entry, Variant viewer (1,708), Feature viewer, Genomic coordinates, Publications, External links, and History.

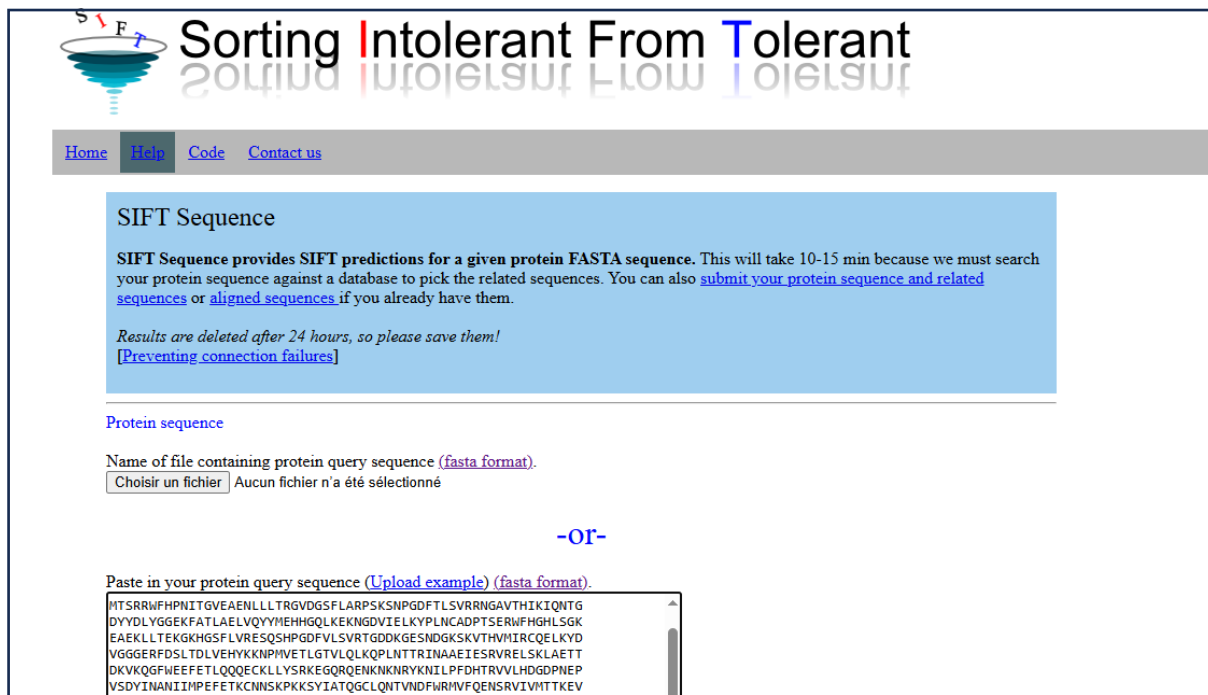
Figure 2.2 : Base de donnée UniProt.

2.2 Prédiction des nsSNP tolérés par différents outils de bio-informatique :

Pour identifier les variants (SNPs) de SHP-2 qui sont tolérés par la protéine, nous avons croisé les résultats de trois outils différents : **SIFT**, **PolyPhen-2** et **PROVEAN**. L'utilisation de ces trois logiciels permet d'obtenir une classification plus fiable qu'avec un seul outil, car ils analysent la protéine sous des angles différents : la conservation de la séquence et l'impact sur la structure. Nous avons appliqué une règle de consensus : un variant a été définitivement considéré comme toléré s'il était prédit comme tel par au moins deux de ces trois outils. Cette approche permet d'isoler avec une plus grande assurance les mutations neutres pour la fonction de la protéine SHP-2 (AlSaeed et al., 2024a; The UniProt Consortium et al., 2023).

SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant) : est utilisé pour prédire l'impact fonctionnel des substitutions d'acides aminés en distinguant les mutations tolérées des mutations intolérées. Son algorithme repose sur le principe de l'homologie de la séquence ; les positions hautement conservées au cours de l'évolution sont cruciales pour la fonction de la protéine et sont donc moins tolérantes aux changements. Techniquement, SIFT calcule une probabilité normalisée pour chaque substitution possible à une position donnée. Une substitution est classée comme intolérante si son score est inférieur à 0,05, tandis qu'un score supérieur ou égal à ce seuil indique un variant toléré. Pour réaliser cette analyse, la séquence de la protéine est soumise au format FASTA, accompagnée des modifications d'acides aminés spécifiques à tester (Ajith & Subbiah, 2023a; AlSaeed et al., 2024a; Dakal et al., 2017b).

(sift.bii.a-star.edu.sg)



Sorting Intolerant From Tolerant

Home Help Code Contact us

SIFT Sequence

SIFT Sequence provides SIFT predictions for a given protein FASTA sequence. This will take 10-15 min because we must search your protein sequence against a database to pick the related sequences. You can also [submit your protein sequence and related sequences](#) or [aligned sequences](#) if you already have them.

Results are deleted after 24 hours, so please save them!
[\[Preventing connection failures\]](#)

Protein sequence

Name of file containing protein query sequence ([fasta format](#)).
 Aucun fichier n'a été sélectionné

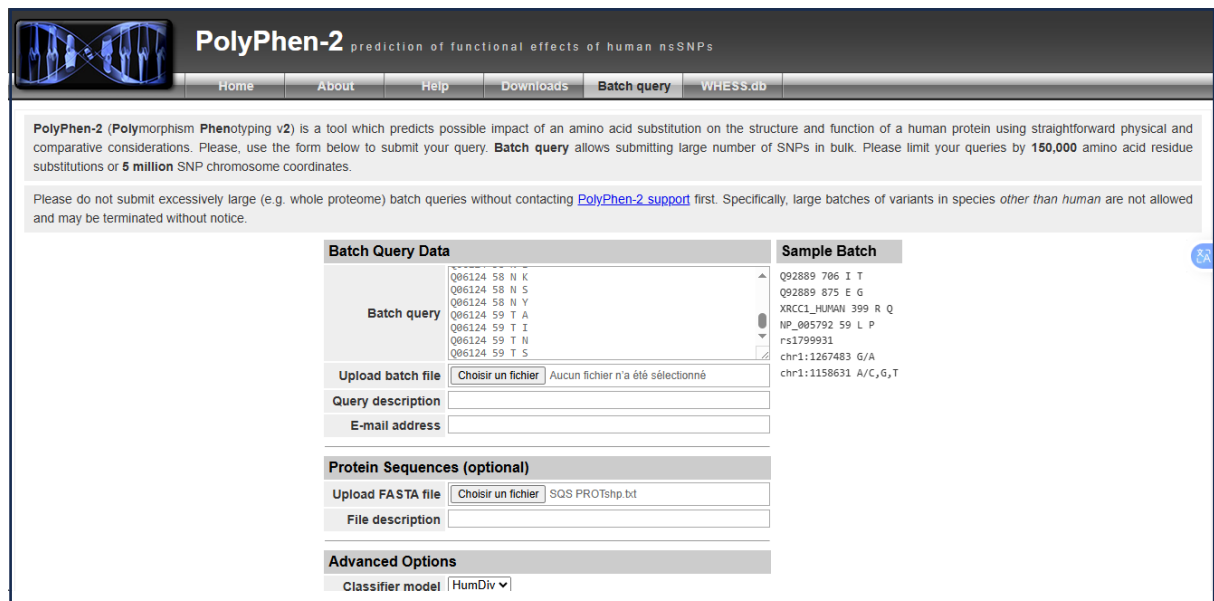
-OR-

Paste in your protein query sequence ([Upload example](#)) ([fasta format](#)).
MTSRWFHPNITGVEANLLTRGVGGSFLARPSKSNPGDFTLSVRRNGAVTHIKIQNTG
DYDLYGGKFATLAELVQYMEHHGQLKEKNGDVIKYLNCADPTSERWFHGLSGK
EAEKLLTEKGHGSFLVRESQSHPGDFVLSVRTGDDKGESNDGSKVTHVMIRCQLKYD
VGGGERFDSLTDLVEHYKKNPMVETLGTVLQLKQPLNTRINAAIESRVRELSKLAETT
DKVKQGFWEFETLQQECKLLYSRKEGQRQENKNRYKNILPFDHTRVVLHDGDPNEP
VSDYINANIIMPFEETCKNNSKPKKSYIATQGCLQNTVNDFWRIVFQENSRIVMTTKEV

Figure 2.3 : L'outil SIFT.

PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2): est un algorithme automatisé qui prédit l'impact fonctionnel des substitutions d'acides aminés sur la structure et la fonction des protéines humaines. Pour traiter efficacement de grands ensembles de données, nous avons utilisé le mode « batch query » (requête en lot), qui permet l'analyse simultanée de multiples variants (AlSaeed et al., 2024b; Poon, 2021a). ([PolyPhen-2: prediction of functional effects of human nsSNPs](#)).

Cette méthode nécessite un format d'entrée spécifique comprenant l'identifiant UniProt de la protéine, la position du résidu, ainsi que les acides aminés d'origine (forme sauvage) et de substitution (par exemple : Q06124 2 T A pour le variant T2A). En croisant l'analyse de l'homologie de séquence avec des paramètres structuraux, l'outil génère un score classant les variants en trois catégories : bénin, possiblement dommageable ou probablement dommageable (Ajith & Subbiah, 2023b; Dakal et al., 2017c).



PolyPhen-2 prediction of functional effects of human nsSNPs

Home About Help Downloads **Batch query** WHES.SS

PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2) is a tool which predicts possible impact of an amino acid substitution on the structure and function of a human protein using straightforward physical and comparative considerations. Please, use the form below to submit your query. **Batch query** allows submitting large number of SNPs in bulk. Please limit your queries by **150,000** amino acid residue substitutions or **5 million** SNP chromosome coordinates.

Please do not submit excessively large (e.g. whole proteome) batch queries without contacting [PolyPhen-2 support](#) first. Specifically, large batches of variants in species *other than human* are not allowed and may be terminated without notice.

Batch Query Data

Batch query: Q06124 58 N K
Q06124 58 N S
Q06124 58 N Y
Q06124 59 T A
Q06124 59 T I
Q06124 59 T N
Q06124 59 T S

Upload batch file: Choisir un fichier (Aucun fichier n'a été sélectionné)

Query description:

E-mail address:

Sample Batch

Q92889 706 I T
Q92889 875 E G
XRCC1_HUMAN 399 R Q
NP_005792 59 L P
rs1799931
chr1:1267483 G/A
chr1:1158631 A/C,G,T

Protein Sequences (optional)

Upload FASTA file: Choisir un fichier (SQS PROTshp.txt)

File description:

Advanced Options

Classifier model: HumDiv

Figure 2.4 : L’outil PolyPhen-2.

PROVEAN (Protein Variation Effect Analyzer) : est un outil bioinformatique conçu pour quantifier l'impact des substitutions d'acides aminés sur la fonction biologique des protéines (AlSaeed et al., 2024c). Son algorithme s'appuie sur l'homologie de séquence pour prédire si une variation altère la stabilité ou la fonction protéique (Ajith & Subbiah, 2023c).

Conformément aux critères de classification standards, une mutation est considérée comme **délétère** (néfaste) si son score est **inférieur ou égal à -2,5**, tandis qu'un score supérieur à ce seuil indique un variant **neutre** (Ajith & Subbiah, 2023d). Pour réaliser l'analyse, la séquence de référence est saisie dans le premier champ (« Step 1 »), puis les modifications d'acides aminés sont renseignées dans le second (« Step 2 ») afin de générer les scores de prédiction (Ajith & Subbiah, 2023e ; Poon, 2021b).

(provean.jcvi.org/provean_seq_report.php?jobid=931403343896935)

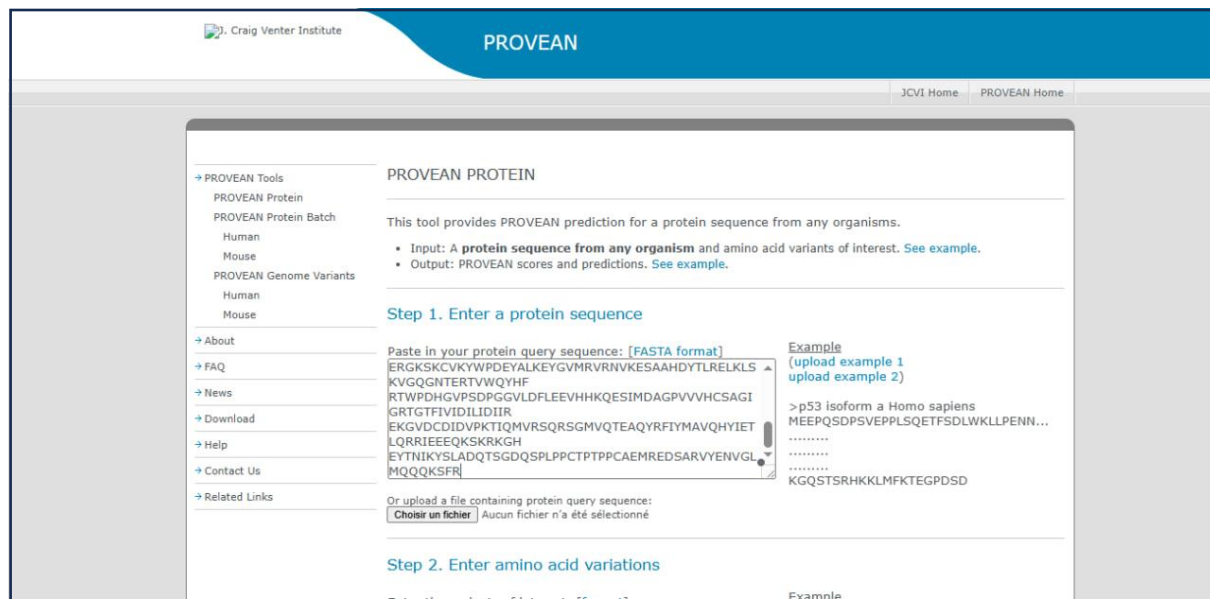


Figure 2.5 : L'outil PROVEAN.

2.3 La détection des nsSNP localisés dans les régions conservées des gènes :

- **InterPro** : Est une ressource bioinformatique lancée en 1999, utilisable pour l'analyse, la classification fonctionnelle et la localisation des domaines conservés de chaque protéine ; il permet de donner un sens biologique immédiat aux millions de séquences de protéines. Pour cela, il utilise des modèles prédictifs connus sous le nom de signatures (utilisés pour reconnaître des protéines à partir de leurs séquences) (Blum et al., 2025).

Dans ce but, nous avons introduit notre séquence au format FASTA dans le logiciel, réalisé une analyse, puis déterminé les domaines identifiés (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>).

Recherche par séquence Recherche par texte Recherche par Architecture de domaine

Scannez vos séquences

```
>sp|Q06124|PTN11_HUMAN Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11
MTSRWFHFNITGVEAENLLTRGVDGSFLARPSKSNPGDFTLSVRRNGAVTHIKIQTG
DYYDLYGGEKFATLAELVQYYMEHHGQLKEKNGDVIELKYPLNCADPTSERWFHGLSGK
EAEKLLTERGKHGSFLVRESQSHPGDFVLSVRTGDDKGSNDGSKSVTHVMIRQELKYD
VGGGERFDSLTDLVEHYKKNPMVETLGTVLQKQPLNTRINAAEIESRVRELSKLAETT
DRVKQGFWEFEFTLQQQECRLLYSRKEGQROENKNKNRYKNILPFDHTRVVLHDGDPNEP
VSDYINANIIMPEFETKCNNSKPKKSYIATQGCCLQNTVNDFWRMVFQENSRVIVMTTKEV
ERKSKCVKYWPDEYALKEYGVMRVRNVKESAAHDYTLRELKLSKVGQNTERTVWQYHF
RTWPDHGVPSDPGGVLDPLEEVHKKQESIMDAGFVVVHCSAGIGRTGTFTVIDILIDIIR
EKGVDCDIDVPKTIQMVRSQRSGMVQTEAQYRFIYMAVQHYIETLQRIIEEQSKRRKGH
EYTNIKYSLADQTSGDQSLPPCTPTPPCAEMREDSARVYENVGLMQQCKSF
```

☒ Séquence Valable.

[Options avancées](#)

Propulsé par InterProScan

Figure 2.6 : L’outil InterPro.

2.4 Étude de l’impact des nsSNP sur la stabilité des protéines :

- **I-Mutant2.0** : est un outil informatique qui permet la prédiction automatique de l’effet d’une mutation ponctuelle sur la stabilité d’une protéine. Il repose sur une technologie d’apprentissage automatique appelée **Machines à Vecteurs de Support (SVM)**.

Cet outil agit à la fois comme un classificateur pour prédire si la mutation augmente ou diminue la stabilité de la protéine par rapport à la forme sauvage (WT), et calcule également le changement d’énergie libre ($\Delta\Delta G$) afin d’évaluer l’effet thermodynamique de la mutation, cela permet de classer les résultats en deux catégories différentes selon la valeur de ($\Delta\Delta G$), en se basant sur des conditions physiologiques humaines standard, à savoir une température de 37 °C et un pH de 7.

➤ **Mutation positive (protéine stable) :**

$\Delta\Delta G > 0$ = la mutation augmente la stabilité de la protéine par rapport à sa forme sauvage.

➤ **Mutation négative (protéine instable) :**

$\Delta\Delta G < 0$ = la mutation réduit la stabilité de la protéine (Capriotti et al., 2005). (<https://folding.biofold.org/i-mutant/i-mutant2.0.html>)

Figure 2.7 : L’outil I-Mutant2.0.

- DUET** : L'impact des substitutions d'acides aminés sur la stabilité thermodynamique de la protéine SHP-2 a été prédit à l'aide du serveur DUET. Cet outil utilise une approche intégrative de consensus en combinant deux méthodes complémentaires : mCSM, qui s'appuie sur des signatures structurales basées sur la théorie des graphes et l'apprentissage automatique, et SDM (*Site Directed Mutator*), qui repose sur une fonction d'énergie statistique tenant compte de l'environnement local des résidus (**Ajith & Subbiah, 2023c; Pires et al., 2014a**). Ces deux scores sont fusionnés via une machine à vecteurs de support (SVM) pour prédire la variation de l'énergie libre de Gibbs ($\Delta\Delta G$) consécutive à une mutation (**Pires et al., 2014b**). Pour nos analyses, la structure cristallographique de référence de SHP-2 a été extraite de la Protein Data Bank (code PDB : 4DGP). Les acides aminés manquants dans ce modèle expérimental ont été complétés en utilisant les prédictions structurales d'AlphaFold, Étant donné que certaines régions modélisées par AlphaFold peuvent présenter une certaine instabilité structurale (zones de faible confiance pLDDT), les résultats de stabilité correspondant à ces segments spécifiques ont été marqués par un astérisque (*) dans notre tableau de résultats afin de signaler une interprétation prudente. (**DUET**).

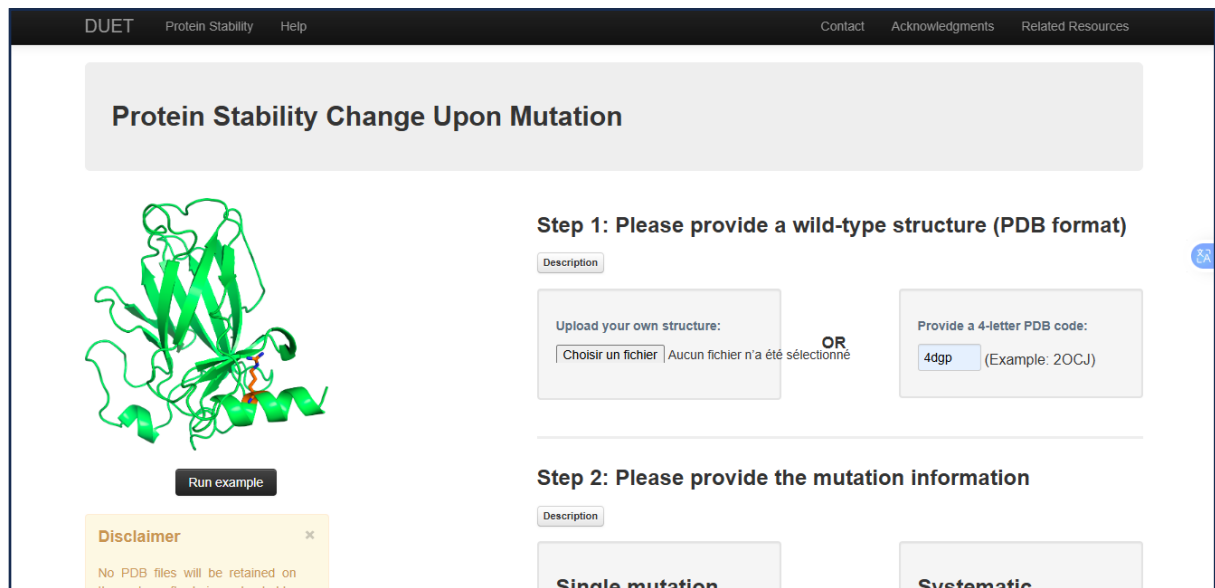


Figure 2.8 : L'outil DUET.

2.5 Analyse des effets des nsSNP sur la structure de la protéine :

- **Missense3D** : est un pipeline bio-informatique, c'est-à-dire un enchaînement automatisé d'analyses permettant de passer de données brutes à un résultat final. Il est développé pour prédire l'impact des variants faux-sens sur les protéines.

Cet outil se base sur l'analyse de la structure tridimensionnelle afin de déterminer si une substitution d'acide aminé est pathogène ou neutre. Il identifie les altérations pouvant entraîner des dommages structuraux et permet ainsi de distinguer les variants pathogènes des variants bénins (Ittisoponpisan et al., 2019).

Pour obtenir ces résultats avec Missense3D, il faut d'abord saisir l'identifiant UniProt de la protéine, l'acide aminé sauvage, sa position ainsi que le variant.

Ensuite, on précise si la région est transmembranaire ou non, puis on choisit la source de la structure : soit une structure expérimentale issue de la Protein Data Bank (PDB), soit un modèle prédit par AlphaFold, soit encore une structure impliquant un complexe protéine-protéine.

Après analyse, l'outil fournit un résultat indiquant si la mutation est bénigne, suggérant une conservation de la structure et de la fonction, ou dommageable (damaging), ce qui correspond à une altération de la structure tridimensionnelle pouvant affecter la stabilité de la protéine et entraîner une perte de fonction. (<https://missense3d.bc.ic.ac.uk/missense3d/>).

Variant information

UniProt ID:

Residue number:

Wild-type amino acid:

Variant amino acid:

Transmembrane region ⓘ:

Or choose from the following examples:

- [P00918 | 2fos \(A\) | 107 His > Tyr](#)
- [P00918 | AlphaFold | 107 His > Tyr](#)
- [P45954 | Complexes | 376 Glu > Gly](#)

Structural information ⓘ

Select the 3D coordinates for the analysis of your variant:

☒ Choose a PDB ID and Chain ID

☐ Or use a tertiary structure AlphaFold model (Human only)

☐ Or search for PPI complexes in GWYRE & ProtVar (Human only)

PDB ID:

PDB chain ID of your variant:

Figure 2.9 : L’outil Missense3D.

2.6 Analyse de l’impact fonctionnel et structural des nsSNP :

- **MutPred2** : est une méthode basée sur l’apprentissage automatique, il fait l’intégration des données génétiques et moléculaires afin de fournir une estimation probabiliste du caractère pathogène d’une substitution d’acide aminé, ainsi qu’une liste des altérations moléculaires possibles qui affectent le phénotype.

Ce modèle fait une première estimation (probabilité a priori) avant l’analyse permettant d’évaluer si la mutation est potentiellement délétère ou non,, puis il l’améliore (probabilité a posteriori) pour analyser les détails de la mutation afin d’obtenir un résultat plus précis et plus fiable.

Le logiciel prend en compte diverses propriétés structurales et fonctionnelles des protéines comme la topologie transmembranaire, les peptides signaux, l’activité catalytique et les modifications post-traductionnelles (**Pejaver et al., 2020**).

L’analyse des substitutions d’acides aminés nécessite l’utilisation de la séquence protéique au format FASTA, ainsi qu’un ensemble de variants, généralement constitué d’environ 100 mutations et l’analyse statistique est effectuée avec un seuil de significativité fixé d’environ 0,05. Les résultats sont ensuite présentés sous forme de tableau, incluant des scores de

Matériel et méthodes

pathogénicité ainsi que des annotations et remarques détaillant les altérations moléculaires prédites, facilitant ainsi leur interprétation biologique (<http://mutpred.mutdb.org/>).

MutPred2 web server

The web server can be used for small-scale data sets (at most 100 substitutions, with no input sequence of length > 35,000 residues). Currently, this web site provides MutPred2.0. It requires protein sequences in the FASTA format, a list of amino acid substitutions in the corresponding FASTA headers (separated by spaces only), and a valid email address. The protein ID cannot contain spaces, semi-colons or commas.

E-Mail

Email Address

Sequence and substitution information (FASTA format)

```
>sp|Q06124|PTN11_HUMAN T2A T2I N10D N10S N10T I11V T12A V14M N18D N18S T22A R23K V25I D26N A31V K35E K35Q N37K D40G V45I R47K N48H N48S G49A G49E
A50G A50P A50T A50V V51I K55R Q57R T59N T59S Y62F E69D A75G A75P A75S A75T V78I Q79E Y80F M82I M82K M82L M82T M82V E83K H84D H84N H84Q H84Y H85D
H85N H85Q H85R Q87E Q87K E90D K91R D94E D94G D94H D94N D94V V95I V95L E97D N103I N103S A105E A105P A105S A105T A105V D106E P107A S109T H116N
E121D E121Q T127I T127S E128D K131R H132D H132P|
MTSRWFHPNITGVEAENLLTRGVDSFLARPSKSNPGDFTLSVRRNGAVTHIKIQTG
DYYDLVGGEKFAELVQYYMEHHGQLEKNGDVIELKYPNCADPTSERWFHGLSGK
EAEKLLTEKGKHSGLVRESOSHPGDFLVSVRTGDDKGESNDGSKVTHVMIRCOELKYD
VGGGERFDSLTLVEHYKKNPMVETLGTVLQKQPLNTRINAAIESRVRELKLAETT
DKVKQGFWEFEFTLQQQECKLLYSRKEGQRQENKKNRYKNILPFDHTRVVLHDGDPNEP
VSDYINANIIMPEFETKCNNSKPKKSYIATQGCLONTVNDFWRMVFOENSRIVIMTTKEV
```

OR

Upload FASTA file

P-value threshold (optional)

Figure 2.10 : L'outil MutPred2

Tableau 2.1 : Classification des altérations moléculaires et de l'impact fonctionnel sur SHP2

Allosteric site	Loss of	HAUTE	Auto-inhibition N-SH2/PTP VALIDÉE EXPÉRIMENTALEMENT. N308D cause gain de fonction par déstabilisation de l'état fermé. Structures cristallographiques disponibles (PDB 2SHP fermé)	Perte du site allostérique → levée de l'auto-inhibition → phosphatase hyperactive
Catalytic site	Gain of / Altered	HAUTE	Domaine PTP catalytique. Activité phosphatase mesurée pour de nombreux mutants (2-12x selon le variant)	Augmentation de l'activité catalytique directe
PPI residue	Gain of / Altered	HAUTE	Interaction avec SIRPα via domaines SH2 et avec substrats en aval (GAB1, IRS1, etc.)	Recrutement facilité et signalisation renforcée
PPI hotspot	Gain of / Altered	HAUTE	Résidus critiques d'interaction SH2-phosphotyrosine	Renforcement de la liaison aux partenaires
MoRF	Altered	HAUTE	Interaction N-SH2/PTP (auto-inhibition) — régions de reconnaissance moléculaire	Perturbation de l'auto-inhibition → activation constitutive
Phosphorylation	Gain of	MOYENNE	Les domaines SH2 reconnaissent les phosphotyrosines	Modification du recrutement aux ITIMs
Stability	Gain of / Loss of	MOYENNE	Stabilité globale. ATTENTION : MutPred2 ne distingue PAS la	Modification de la stabilité globale — à interpréter selon la

			stabilité de la forme ouverte vs fermée	localisation du variant (N-SH2 vs PTP vs linker)
--	--	--	---	--

2.7 Modélisation :

❖ **SWISS MODEL** : est une plateforme automatisée de modélisation comparative des structures protéiques. Elle permet de prédire la structure tridimensionnelle des protéines et des complexes protéiques à partir de leur séquence d'acides aminés, en utilisant des structures homologues déjà connues comme modèles. Elle permet la production rapide et automatisée de modèles protéiques fiables, offre d'excellents résultats en termes de précision structurale et de qualité des modèles générés, facilite l'étude des interactions protéine-protéine et des complexes moléculaires, permet d'identifier les sites actifs, les sites de liaison et les régions fonctionnelles importantes des protéines. Elle intègre des outils d'évaluation de qualité tels que GMQE, QSQE et QMEAN afin d'estimer la fiabilité des modèles générés, et utilise le moteur de modélisation ProMod3 pour construire des modèles atomistiques précis des structures tertiaires et quaternaires des protéines. (<https://swissmodel.expasy.org>).

Pour utiliser SWISS-MODEL, nous avons d'abord inséré la séquence d'acides aminés mutée de la protéine étudiée dans la plateforme. Ensuite, nous avons renseigné le nom du SNP ainsi qu'une adresse e-mail afin de recevoir les résultats de la modélisation. Après l'exécution de l'analyse, un e-mail contenant plusieurs modèles de structures tridimensionnelles (3D) de la protéine a été reçu. Parmi les modèles proposés, nous avons sélectionné le modèle présentant la meilleure qualité, généralement le modèle 1, car il possède souvent le pourcentage le plus élevé de couverture et d'identité de séquence (Seq Identity = 99 % Coverage), ce qui indique une forte similarité avec la structure réelle de la protéine et une meilleure fiabilité du modèle obtenu (**Waterhouse et al., 2018**).

The screenshot shows the 'Start a New Modelling Project' page on the SWISS-MODEL website. At the top, there is a navigation bar with links for 'Modelling', 'Repository', 'Tools', 'Documentation', 'Log in', and 'Create Account'. The main heading is 'Start a New Modelling Project'. Below this, there is a large text input field for 'Target Sequence(s)' with a placeholder 'Paste your target sequence(s) or UniProtKB AC here'. To the left of this field, a note specifies: '(Format must be FASTA, Clustal, plain string, or a valid UniProtKB AC)'. Below the text field are two buttons: a green '+ Upload Target Sequence File...' and a grey 'Validate' button. To the right of the main input area is a 'Supported Inputs' section with a dropdown menu showing 'Sequence(s)', 'Target-Template Alignment', 'User Template', and 'DeepView Project'. Below the 'Target Sequence(s)' field are two more input fields: 'Project Title:' with 'Untitled Project' and 'Email:' with 'Optional'. At the bottom of the form are two large blue buttons: 'Search For Templates' and 'Build Model'. A small disclaimer at the very bottom states: 'By using the SWISS-MODEL server, you agree to comply with the following terms of use and to cite the corresponding articles.'

Figure 2.11 : L’outil SWISS-MODEL.

- ❖ **Phyre 2** : La modélisation structurale de les SNPs de la protéine SHP-2 ont été réalisée à l'aide du serveur web Phyre2 (*Protein Homology/analogy Recognition Engine V 2.0*). Ce système repose sur une approche de bioinformatique structurale utilisant la détection d'homologie à distance pour prédire la structure tertiaire et l'inférence fonctionnelle (**Kelley et al., 2015a**).

Le processus de modélisation suit les quatre étapes algorithmiques standards :

- La collecte de séquences homologues et la génération d'un alignement de séquences multiples (MSA).
- Le scan d'une bibliothèque de repliements par comparaison de modèles de Markov cachés (HMM-HMM matching).
- La modélisation des boucles.
- le placement des chaînes latérales (**Houston et al., 2018; Kelley et al., 2015b**).
- Les prédictions ont été générées en mode normal. Conformément aux critères de fiabilité établis dans la littérature pour l'annotation de protéomes, seuls les modèles présentant un score de confiance supérieur ou égal à 90 % ont été retenus pour l'analyse des domaines et de la fonction(**Kelley et al., 2015c**).

(<https://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>).

Figure 2.12 : L'outil Phyre2.2.

2.8 Analyse de stabilité thermodynamique :

FoldX : Afin d'évaluer l'impact des mutations sur la stabilité thermodynamique des protéines, le plugin FoldX intégré dans l'environnement de modélisation moléculaire YASARA View a été utilisé. Ce plugin constitue une interface graphique complète pour le programme FoldX, développée comme extension de la suite YASARA, permettant d'exécuter les commandes principales via un système de menus, avec affichage immédiat des résultats (**Van Durme et al., 2011**). Le champ de force FoldX a été validé sur une base de données de 5556 mutants affectant la stabilité protéique, dont 2484 mutations hautement fiables issues de structures cristallographiques de haute **résolution** (**Delgado et al., 2025**). Dans un premier temps, les structures protéiques ont été soumises à une étape de minimisation d'énergie via la fonction RepairObj de FoldX, permettant de corriger les clashes stériques et d'optimiser les rotamères des chaînes latérales. La fonction FoldX Mutate Residue a ensuite été utilisée pour introduire les mutations au niveau des résidus cibles, via l'interface graphique étendue du plugin YASARA mise à jour dans FoldX 5.0 (**Delgado et al., 2019**). La variation d'énergie libre de repliement ($\Delta\Delta G = \Delta G_{\text{mutant}} - \Delta G_{\text{sauvage}}$) a été calculée en appliquant les paramètres suivants : 5 runs, une température de 298 K, un pH de 7, une force ionique de 0,10 M et un design Van der Waals (VdW) de 2. Une mutation a été considérée comme déstabilisante lorsque $\Delta\Delta G >$

+0,5 kcal/mol, stabilisante lorsque $\Delta\Delta G < -0,5$ kcal/mol, et neutre pour des valeurs intermédiaires (Van Durme et al., 2011). (<http://www.yasara.org/>) (Homepage | FoldX).

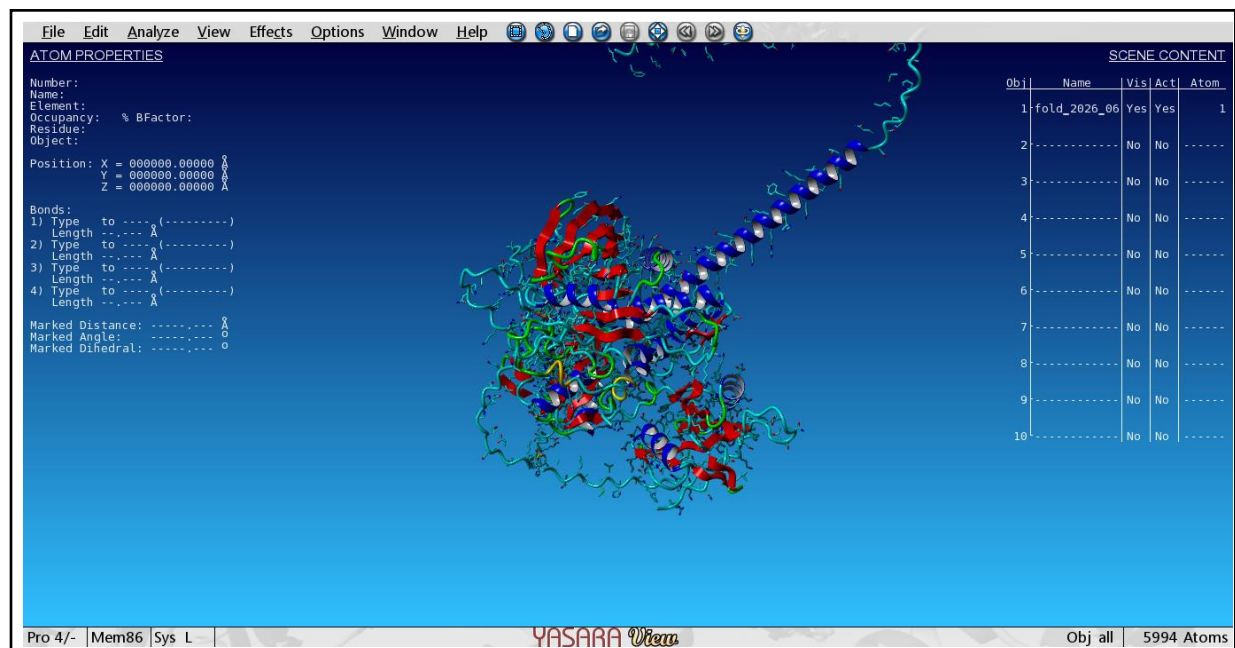
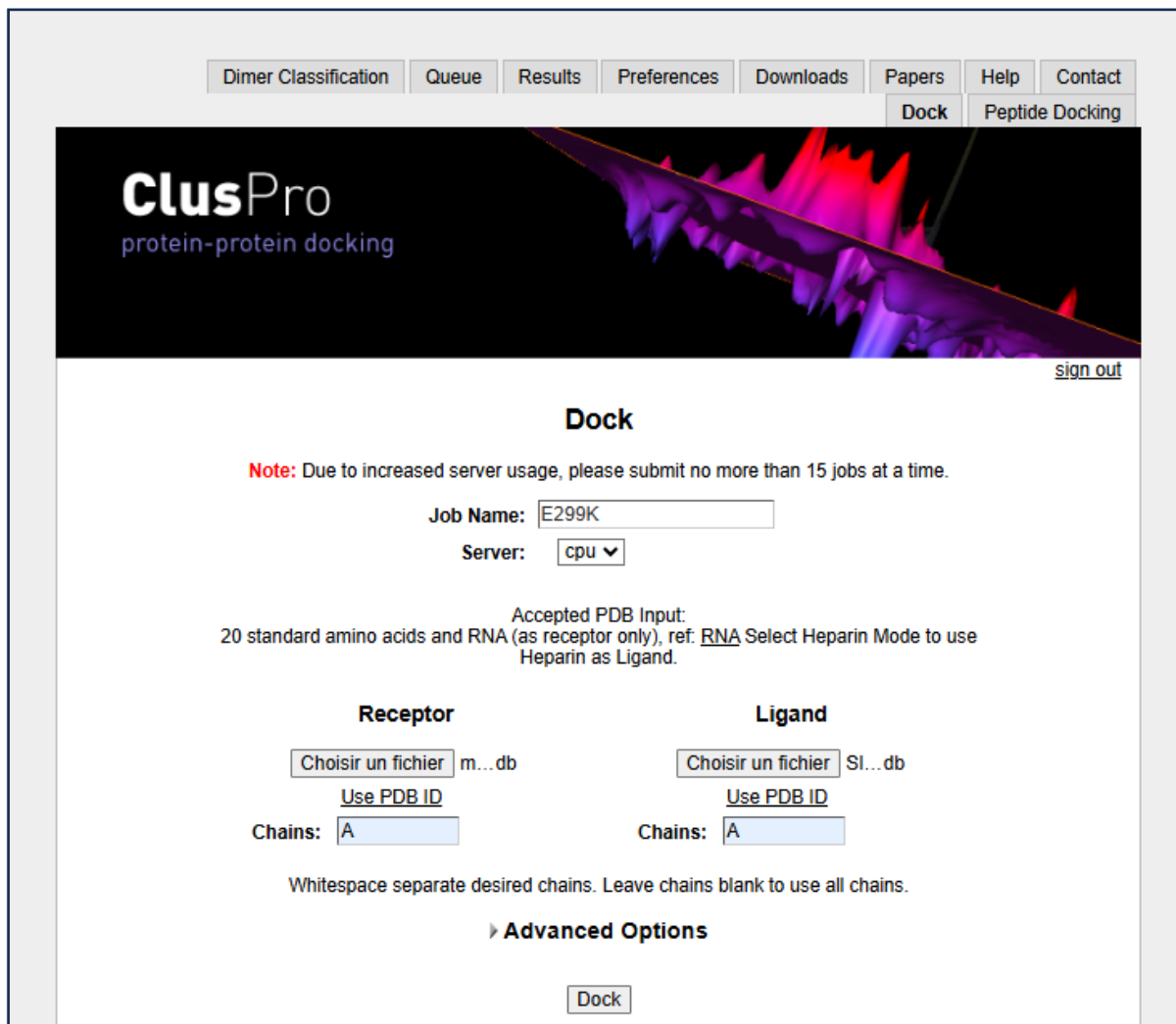


Figure 2.13 : YASARA, FoldX.

2.9 Docking moléculaire :

ClusPro 2.0 : Le docking moléculaire entre la protéine SHP-2 (forme sauvage et mutants) et SIRP α a été réalisé à l'aide du serveur web ClusPro, le premier algorithme de docking protéine-protéine entièrement automatisé (Comeau et al., 2004). Le mécanisme de ClusPro repose sur un échantillonnage exhaustif de milliards de conformations par Transformée de Fourier Rapide (FFT), suivi d'un regroupement (clustering) des structures les plus stables afin d'identifier les sites de liaison les plus probables (Jones et al., 2022). Le programme fournit en sortie une liste de modèles classés selon la population de leurs clusters. Pour cette étude, nous avons choisi le modèle 00 (Balanced), car il utilise un ensemble de coefficients équilibrés (complémentarité de forme, électrostatique et désolvatation) pour identifier la structure présentant l'énergie libre la plus basse et la plus stable (Desta et al., 2020).

Pour les simulations de docking avec SIRP α préparée (élimination des molécules d'eau et phosphorylation des ITIMs), l'entrée PDB 4DGP préparée (élimination d'eau) a été utilisée comme modèle pour la structure de SHP-2 sauvage, tandis que les modèles des variants (SNPs) ont été générés par homologie via SWISS-MODEL.



The screenshot shows the ClusPro protein-protein docking web interface. At the top, there is a navigation bar with links: Dimer Classification, Queue, Results, Preferences, Downloads, Papers, Help, Contact, Dock, and Peptide Docking. Below this is a header section with the ClusPro logo and a 3D visualization of a protein dimer. The main content area is titled 'Dock' and contains a note about server usage. It includes input fields for 'Job Name' (E299K) and 'Server' (cpu). There is also a section for 'Accepted PDB Input' with instructions. Below this, there are two columns for 'Receptor' and 'Ligand', each with a 'Choisir un fichier' button, a 'Use PDB ID' link, and a 'Chains' input field. A 'Dock' button is at the bottom.

Dimer Classification Queue Results Preferences Downloads Papers Help Contact Dock Peptide Docking

ClusPro
protein-protein docking

[sign out](#)

Dock

Note: Due to increased server usage, please submit no more than 15 jobs at a time.

Job Name:

Server:

Accepted PDB Input:
20 standard amino acids and RNA (as receptor only), ref: [RNA](#) Select Heparin Mode to use Heparin as Ligand.

Receptor

m...db

[Use PDB ID](#)

Chains:

Ligand

Sl...db

[Use PDB ID](#)

Chains:

Whitespace separate desired chains. Leave chains blank to use all chains.

► **Advanced Options**

Figure 2.14 : L’outil ClusPro.

2.10 Visualisation :

PyMOL : est un programme graphique moléculaire largement utilisé en biologie structurale par plus de 100.000 utilisateurs. Il permet la visualisation et l’analyse en trois dimensions des structures protéiques obtenues par le docking moléculaire. Ce logiciel peut également interagir avec des sites web et des programmes externes afin d’améliorer l’efficacité et la productivité des utilisateurs (**Mooers, 2020**).

Au début, il faut importer le fichier contenant les structures moléculaires des protéines obtenues par le docking moléculaire. Le logiciel affiche ensuite ces structures en trois dimensions afin de permettre leur visualisation et leur analyse détaillée.

Par la suite, la structure est représentée sous forme de bâtonnets (« as sticks ») pour mieux visualiser les interactions moléculaires. Ensuite, les liaisons entre le récepteur et le ligand sont

Matériel et méthodes

sélectionnées et identifiées, puis les noms des acides aminés impliqués sont extraits afin de faciliter la visualisation des distances entre les différents résidus.

Enfin, les distances entre chaque paire d'acides aminés sont mesurées afin d'évaluer la stabilité et la force des interactions moléculaires.

Cette visualisation permet donc de déterminer le nombre d'interactions formées ainsi que leur intensité entre le ligand et le récepteur.

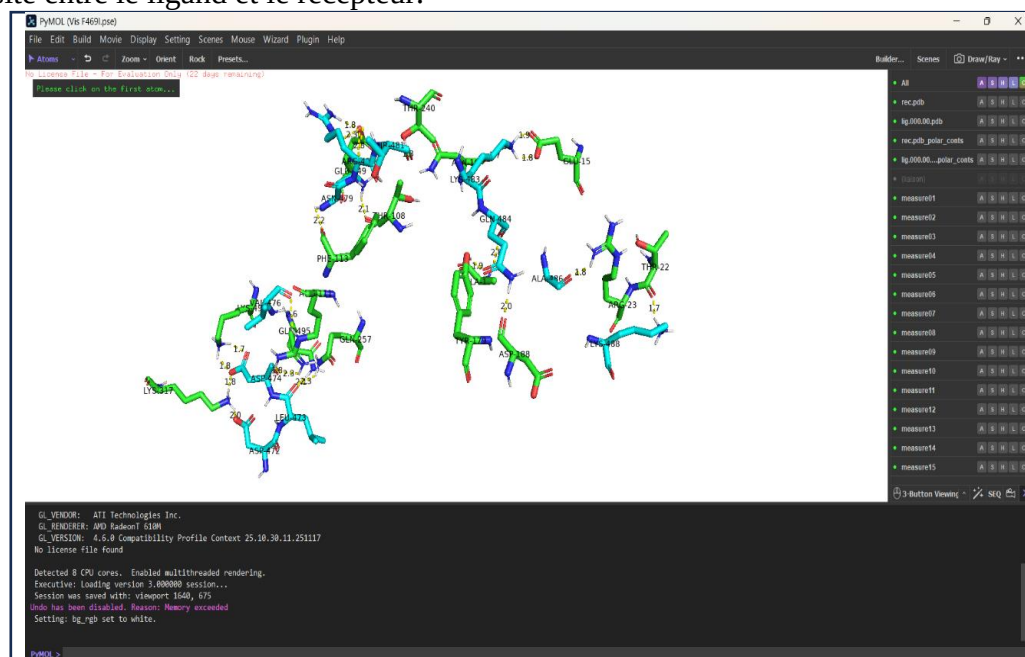


Figure 2.15 : L'outil PyMOL.

Remarque : Dans le cadre de la réalisation de ce mémoire, des outils d'intelligence artificielle ont été utilisés comme supports d'aide à la recherche et à la rédaction. Ces outils nous ont accompagnés lors de certaines difficultés rencontrées, notamment dans la recherche et l'identification d'articles scientifiques pertinents, ainsi que dans la reformulation et l'amélioration de la présentation des textes. Les plateformes utilisées, telles que Claude AI, Google AI Studio, Consensus et Nano Banana, ont permis de faciliter l'organisation des idées, la clarification de certains contenus et l'optimisation de la rédaction. Leur utilisation a été réalisée comme un outil d'assistance, tandis que l'analyse scientifique, la sélection des informations et la validation finale du contenu ont été effectuées par nos soins.

Chapitre V :

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives :

Le présent travail a permis d'étudier l'impact potentiel des polymorphismes non synonymes (nsSNPs) du gène PTPN11, codant la protéine SHP-2, un régulateur clé de nombreuses voies de signalisation cellulaire et de l'axe immunitaire CD47/SIRP α . Grâce à une approche bioinformatique intégrant plusieurs outils de prédiction fonctionnelle, structurale et moléculaire, il a été possible d'identifier des variants susceptibles d'influencer les propriétés biologiques de la protéine.

Les analyses réalisées ont mis en évidence plusieurs nsSNPs présentant des caractéristiques compatibles avec un gain de fonction, notamment par leur influence sur la stabilité protéique, les modifications post-traductionnelles, les interactions moléculaires et les propriétés structurales de SHP-2. Les études d'interaction ont révélé des modifications du réseau de liaisons au sein de la protéine mutée, avec la conservation de certaines interactions dans quelques variants et l'apparition de nouvelles interactions dans d'autres.

Le résultat de variant R421L soutient l'hypothèse selon laquelle certains variants de PTPN11 pourraient favoriser l'activation de SHP-2 et renforcer la signalisation inhibitrice médiée par l'axe CD47/SIRP α , contribuant ainsi à l'échappement immunitaire des cellules tumorales. Toutefois, les prédictions obtenues demeurent théoriques et nécessitent une validation expérimentale afin de confirmer leurs effets biologiques réels.

En perspective, des analyses complémentaires telles que la dynamique moléculaire et les études fonctionnelles *in vitro* pourraient permettre de mieux comprendre les conséquences de ces variants sur la structure, l'activité et les interactions de SHP-2. Ainsi, l'identification et la caractérisation des polymorphismes fonctionnels de PTPN11 pourraient améliorer notre compréhension des différences interindividuelles dans la réponse aux immunothérapies et contribuer à l'optimisation des stratégies thérapeutiques personnalisées en oncologie.

Chapitre VI : Bibliographie

1. A.F. Al-Koofee, D., & M.H. Mubarak, S. (2020). **Genetic Polymorphisms**. In M. Çalışkan, O. Erol, & G. Cevahir Öz (Éds.), *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88063>
2. Ajith, A., & Subbiah, U. (2023). **In silico prediction of deleterious non-synonymous SNPs in STAT3**. *Asian Biomedicine*, 17(4), 185-199. <https://doi.org/10.2478/abm-2023-0059>
3. Al-Mohaya, M., Mesut, B., Kurt, A., & Çelik, Y. S. (2024). **In silico approaches which are used in pharmacy**. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2024.154854>
4. AlSaeed, M. J., Ramdhan, P., Malave, J. G., Eljilany, I., Langaee, T., McDonough, C. W., Seabra, G., Li, C., & Cavallari, L. H. (2024). **Assessing the Performance of In silico Tools and Molecular Dynamics Simulations for Predicting Pharmacogenetic Variant Impact**. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 116(4), 1082-1089. <https://doi.org/10.1002/cpt.3348>
5. Asmamaw, M. D., Shi, X.-J., Zhang, L.-R., & Liu, H.-M. (2022). **A comprehensive review of SHP2 and its role in cancer**. *Cellular Oncology*, 45(5), 729-753. <https://doi.org/10.1007/s13402-022-00698-1>
6. Bhardwaj, N., Chandra, H., Singh, A., & Babu, R. (2025). **CD47/SIRPα pathways : Functional diversity and molecular mechanisms**. *World Journal of Biological Chemistry*, 16(3). <https://doi.org/10.4331/wjbc.v16.i3.108045>
7. Blum, M., Andreeva, A., Florentino, L. C., Chuguransky, S. R., Grego, T., Hobbs, E., Pinto, B. L., Orr, A., Paysan-Lafosse, T., Ponamareva, I., Salazar, G. A., Bordin, N., Bork, P., Bridge, A., Colwell, L., Gough, J., Haft, D. H., Letunic, I., Llinares-López, F., ... Bateman, A. (2025). **InterPro : The protein sequence classification resource in 2025**. *Nucleic Acids Research*, 53(D1), D444-D456. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1082>
8. Bouwstra, R., Van Meerten, T., & Bremer, E. (2022). **CD47-SIRPα blocking-based immunotherapy : Current and prospective therapeutic strategies**. *Clinical and Translational Medicine*, 12(8), e943. <https://doi.org/10.1002/ctm2.943>
9. Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). **Updating the Definition of Cancer**. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142-1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>
10. Capriotti, E., Fariselli, P., & Casadio, R. (2005). **I-Mutant2.0 : Predicting stability changes upon mutation from the protein sequence or structure**. *Nucleic Acids Research*, 33(Web Server), W306-W310. <https://doi.org/10.1093/nar/gki375>
11. Chang, C., Lin, C., Chen, B., Lin, P., & Chen, C. (2022). **SHP2 : The protein tyrosine phosphatase involved in chronic pulmonary inflammation and fibrosis**. *IUBMB Life*, 74(2), 131-142. <https://doi.org/10.1002/iub.2559>
12. Chen, X., Keller, S. J., Hafner, P., Alrawashdeh, A. Y., Avery, T. Y., Norona, J., Zhou, J., & Ruess, D. A. (2024a). **Tyrosine phosphatase PTPN11/SHP2 in solid tumors—Bull’s eye for targeted therapy?** *Frontiers in Immunology*, 15, 1340726. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1340726>
13. Chen, X., Keller, S. J., Hafner, P., Alrawashdeh, A. Y., Avery, T. Y., Norona, J., Zhou, J., & Ruess, D. A. (2024b). **Tyrosine phosphatase PTPN11/SHP2 in solid tumors—Bull’s eye for targeted therapy?** *Frontiers in Immunology*, 15, 1340726. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1340726>

14. Comeau, S. R., Gatchell, D. W., Vajda, S., & Camacho, C. J. (2004). **ClusPro : A fully automated algorithm for protein-protein docking.** *Nucleic Acids Research*, 32(Web Server), W96-W99. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh354>
15. Crow, M. K. (2023). **Pathogenesis of systemic lupus erythematosus : Risks, mechanisms and therapeutic targets.** *Annals of the Rheumatic Diseases*, 82(8), 999-1014. <https://doi.org/10.1136/ard-2022-223741>
16. Dakal, T. C., Kala, D., Dhiman, G., Yadav, V., Krokhotin, A., & Dokholyan, N. V. (2017). **Predicting the functional consequences of non-synonymous single nucleotide polymorphisms in IL8 gene.** *Scientific Reports*, 7(1), 6525. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06575-4>
17. Delgado, J., Radusky, L. G., Cianferoni, D., & Serrano, L. (2019). **FoldX 5.0 : Working with RNA, small molecules and a new graphical interface.** *Bioinformatics*, 35(20), 4168-4169. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz184>
18. Delgado, J., Reche, R., Cianferoni, D., Orlando, G., Van Der Kant, R., Rousseau, F., Schymkowitz, J., & Serrano, L. (2025). **FoldX force field revisited, an improved version.** *Bioinformatics*, 41(2), btaf064. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaf064>
19. Desta, I. T., Porter, K. A., Xia, B., Kozakov, D., & Vajda, S. (2020). **Performance and Its Limits in Rigid Body Protein-Protein Docking.** *Structure*, 28(9), 1071-1081.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2020.06.006>
20. Dizman, N., & Buchbinder, E. I. (2021). **Cancer Therapy Targeting CD47/SIRPα.** *Cancers*, 13(24), 6229. <https://doi.org/10.3390/cancers13246229>
21. Eguia Del Valle, A., Lopez-Vicente, J., Martinez-Conde, R., & Aguirre-Zorzano, L. (2018). **Current understanding of genetic polymorphisms as biomarkers for risk of biological complications in implantology.** *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 0-0. <https://doi.org/10.4317/jced.55141>
22. Hossain, Md. S., Roy, A. S., & Islam, Md. S. (2020). **In silico analysis predicting effects of deleterious SNPs of human RASSF5 gene on its structure and functions.** *Scientific Reports*, 10(1), 14542. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71457-1>
23. Hou, Y., Lu, X., Xu, Z., Qu, J., & Huang, J. (2023). **How a single mutation alters the protein structure : A simulation investigation on protein tyrosine phosphatase SHP2.** *RSC Advances*, 13(7), 4263-4274. <https://doi.org/10.1039/D2RA07472A>
24. Houston, S., Lithgow, K. V., Osbak, K. K., Kenyon, C. R., & Cameron, C. E. (2018). **Functional insights from proteome-wide structural modeling of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*, the causative agent of syphilis.** *BMC Structural Biology*, 18(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12900-018-0086-3>
25. Udoh, L., Peggy Obaseoji, W., & Uzoebo, C. (2021). **Single Nucleotide Polymorphisms : A Modern Tool to Screen Plants for Desirable Traits.** In I. Y. Abdurakhmonov (Éd.), *Plant Breeding—Current and Future Views*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.94935>
26. Ittisoponpisan, S., Islam, S. A., Khanna, T., Alhuzimi, E., David, A., & Sternberg, M. J. E. (2019). **Can Predicted Protein 3D Structures Provide Reliable Insights into whether Missense Variants Are Disease Associated?** *Journal of Molecular Biology*, 431(11), 2197-2212. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.009>
27. Jones, G., Jindal, A., Ghani, U., Kotelnikov, S., Egbert, M., Hashemi, N., Vajda, S., Padhorny, D., & Kozakov, D. (2022). **Elucidation of protein function using computational docking and hotspot analysis by *ClusPro* and *FTMap*.** *Acta*

- Crystallographica Section D Structural Biology*, 78(6), 690-697.
<https://doi.org/10.1107/S2059798322002741>
28. Karunaraj, P., Scheele, R., Wells, M. L., Rathod, R., Abrahamson, S., Taylor, L. C., Gokulu, I. S., Chowdhury, L., Kazmi, A., Song, W., Hornbeck, P., Li, J., Glasgow, A., & Vasan, N. (2025). **A Hotspot Phosphorylation Site on SHP2 Drives Oncoprotein Activation and Drug Resistance.** *Cancer Biology*.
<https://doi.org/10.1101/2025.06.11.659120>
 29. Kaur, B., & Mukhopadhyay, C. (2022). **Bioresearch Highlights on Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), and their Applications.** *Acta Scientif Veterinary Sciences*, 106-114. <https://doi.org/10.31080/ASVS.2022.04.0504>
 30. Kelley, L. A., Mezulis, S., Yates, C. M., Wass, M. N., & Sternberg, M. J. E. (2015). **The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis.** *Nature Protocols*, 10(6), 845-858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.053>
 31. Kharitonov, A., Chen, Z., Sures, I., Wang, H., Schilling, J., & Ullrich, A. (1997). **A family of proteins that inhibit signalling through tyrosine kinase receptors.** *Nature*, 386(6621), 181-186. <https://doi.org/10.1038/386181a0>
 32. LaRochelle, J. R., Fodor, M., Vemulapalli, V., Mohseni, M., Wang, P., Stams, T., LaMarche, M. J., Chopra, R., Acker, M. G., & Blacklow, S. C. (2018). **Structural reorganization of SHP2 by oncogenic mutations and implications for oncoprotein resistance to allosteric inhibition.** *Nature Communications*, 9(1), 4508.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06823-9>
 33. Le Sommer, S., & Kontaridis, M. I. (2025). **SHP2 happens, just sail with it : The role of the protein tyrosine phosphatase SHP2 in autoimmune and autoinflammatory diseases.** *Current Opinion in Physiology*, 45, 100833.
<https://doi.org/10.1016/j.cophys.2025.100833>
 34. Li, Y., Zhou, H., Liu, P., Lv, D., Shi, Y., Tang, B., Xu, J., Zhong, T., Xu, W., Zhang, J., Zhou, J., Ying, K., Zhao, Y., Sun, Y., Jiang, Z., Cheng, H., Zhang, X., & Ke, Y. (2023). **SHP2 deneddylation mediates tumor immunosuppression in colon cancer via the CD47/SIRPα axis.** *Journal of Clinical Investigation*, 133(4), e162870.
<https://doi.org/10.1172/JCI162870>
 35. Lin, X., Li, X., & Lin, X. (2020). **A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design.** *Molecules*, 25(6), 1375.
<https://doi.org/10.3390/molecules25061375>
 36. Logtenberg, M. E. W., Scheeren, F. A., & Schumacher, T. N. (2020). **The CD47-SIRPα Immune Checkpoint.** *Immunity*, 52(5), 742-752.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.011>
 37. López Moreno, S. F., Lenz, S. A., Casso-Chapa, B., Paniagua-Bojorges, A., Kim, J. H., Palaskas, N. L., Nead, K. T., Samanthapudi, V. S. K., Mejia, G., Hoang, O., Lee, J., Lin, S. H., Herrmann, J., Wang, G., Yusuf, S. W., Iliescu, C. A., Beinart, N. I., Manisty, C., Ushio-Fukai, M., ... Abe, J. (2025). **SHP2 : A Redox-Sensitive Regulator Linking Immune Checkpoint Inhibitor Therapy to Cancer Treatment and Vascular Risk.** *Antioxidants*, 14(12), 1388.
<https://doi.org/10.3390/antiox14121388>
 38. M. Zolezzi, J., Bastías-Candia, S., & C. Inestrosa, N. (2019). **Molecular Basis of Neurodegeneration : Lessons from Alzheimer's and Parkinson's Diseases.** In A. Borreca (Éd.), *Recent Advances in Neurodegeneration*. IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.81270>

39. Marasco, M., Kirkpatrick, J., Carlomagno, T., Hub, J. S., & Anselmi, M. (2023). **Experiment-guided molecular simulations define a heterogeneous structural ensemble for the *PTPN11* tandem SH2 domains.** *Chemical Science*, 14(21), 5743-5755. <https://doi.org/10.1039/D3SC00746D>
40. Marasco, M., Kirkpatrick, J., Nanna, V., Sikorska, J., & Carlomagno, T. (2021). **Phosphotyrosine couples peptide binding and SHP2 activation via a dynamic allosteric network.** *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 2398-2415. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.04.040>
41. Matozaki, T., Murata, Y., Saito, Y., Okazawa, H., & Ohnishi, H. (2009). **Protein tyrosine phosphatase SHP-2 : A proto-oncogene product that promotes Ras activation.** *Cancer Science*, 100(10), 1786-1793. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2009.01257.x>
42. Mooers, B. H. M. (2020). **Shortcuts for faster image creation in PyMOL.** *Protein Science*, 29(1), 268-276. <https://doi.org/10.1002/pro.3781>
43. Moon, D.-O. (2025). **Targeting SHP2 with Natural Products : Exploring Saponin-Based Allosteric Inhibitors and Their Therapeutic Potential.** *Current Issues in Molecular Biology*, 47(5), 309. <https://doi.org/10.3390/cimb47050309>
44. Pang, J., Cen, C., Tian, Y., Cao, X., Hao, L., Tao, X., & Cao, Z. (2025). **Targeting Shp2 as a therapeutic strategy for neurodegenerative diseases.** *Translational Psychiatry*, 15(1), 6. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-03222-1>
45. Pejaver, V., Urresti, J., Lugo-Martinez, J., Pagel, K. A., Lin, G. N., Nam, H.-J., Mort, M., Cooper, D. N., Sebat, J., Iakoucheva, L. M., Mooney, S. D., & Radivojac, P. (2020). **Inferring the molecular and phenotypic impact of amino acid variants with MutPred2.** *Nature Communications*, 11(1), 5918. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19669-x>
46. Phan, L., Zhang, H., Wang, Q., Villamarin, R., Hefferon, T., Ramanathan, A., & Kattman, B. (2025). **The evolution of dbSNP : 25 years of impact in genomic research.** *Nucleic Acids Research*, 53(D1), D925-D931. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae977>
47. Pierotti, C. L., & Köhn, M. (2026). **Regulation and activity of the phosphatase SHP2 : SH2 domains, dephosphorylation activity, and beyond.** *Biochemical Society Transactions*, 54(1), 15-24. <https://doi.org/10.1042/BST20253102>
48. Pires, D. E. V., Ascher, D. B., & Blundell, T. L. (2014). **DUET : A server for predicting effects of mutations on protein stability using an integrated computational approach.** *Nucleic Acids Research*, 42(W1), W314-W319. <https://doi.org/10.1093/nar/gku411>
49. Poon, K.-S. (2021). **In silico analysis of BRCA1 and BRCA2 missense variants and the relevance in molecular genetic testing.** *Scientific Reports*, 11(1), 11114. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88586-w>
50. Qiu, W., Wang, X., Romanov, V., Hutchinson, A., Lin, A., Ruzanov, M., Battaile, K. P., Pai, E. F., Neel, B. G., & Chirgadze, N. Y. (2014). **Structural insights into Noonan/LEOPARD syndrome-related mutants of protein-tyrosine phosphatase SHP2 (PTPN11).** *BMC Structural Biology*, 14(1), 10. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-14-10>
51. Rafiq, H., Han, L., Rehman, A. U., He, P., Abdelhameed, A. S., Hassan, E. S. G., Fu, H., Wadood, A., & Hu, J. (2025). **Deciphering the structural and dynamic effects**

- of SHP2-E76 mutations : Mechanistic insights into oncogenic activation. *BMC Chemistry*, 19(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s13065-025-01494-2>
52. Rehman, A. U., Rafiq, H., Rahman, M. U., Li, J., Liu, H., Luo, S., Arshad, T., Wadood, A., & Chen, H.-F. (2019). **Gain-of-Function SHP2 E76Q Mutant Rescuing Autoinhibition Mechanism Associated with Juvenile Myelomonocytic Leukemia.** *Journal of Chemical Information and Modeling*, 59(7), 3229-3239. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00353>
53. Rougvie, A. E. (2013). **Heterochronic Mutation.** In *Brenner's Encyclopedia of Genetics* (p. 442-445). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00700-2>
54. Rozario, L. T., Sharker, T., & Nila, T. A. (2021). **In silico analysis of deleterious SNPs of human MTUS1 gene and their impacts on subsequent protein structure and function.** *PLOS ONE*, 16(6), e0252932. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252932>
55. Scheiter, A., Lu, L.-C., Gao, L. H., & Feng, G.-S. (2024). **Complex Roles of PTPN11/SHP2 in Carcinogenesis and Prospect of Targeting SHP2 in Cancer Therapy.** *Annual Review of Cancer Biology*, 8(1), 15-33. <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-062722-013740>
56. Sim, N.-L., Kumar, P., Hu, J., Henikoff, S., Schneider, G., & Ng, P. C. (2012). **SIFT web server : Predicting effects of amino acid substitutions on proteins.** *Nucleic Acids Research*, 40(W1), W452-W457. <https://doi.org/10.1093/nar/gks539>
57. Son, J., Hsieh, R. C.-E., Lin, H. Y., Krause, K. J., Yuan, Y., Biter, A. B., Welsh, J., Curran, M. A., & Hong, D. S. (2022). **Inhibition of the CD47-SIRPα axis for cancer therapy : A systematic review and meta-analysis of emerging clinical data.** *Frontiers in Immunology*, 13, 1027235. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1027235>
58. Song, Y., Wang, S., Zhao, M., Yang, X., & Yu, B. (2022). **Strategies Targeting Protein Tyrosine Phosphatase SHP2 for Cancer Therapy.** *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(4), 3066-3079. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c02008>
59. Song, Y., Zhao, M., Zhang, H., & Yu, B. (2022). **Double-edged roles of protein tyrosine phosphatase SHP2 in cancer and its inhibitors in clinical trials.** *Pharmacology & Therapeutics*, 230, 107966. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107966>
60. Song, Z., Wang, M., Ge, Y., Chen, X.-P., Xu, Z., Sun, Y., & Xiong, X.-F. (2021). **Tyrosine phosphatase SHP2 inhibitors in tumor-targeted therapies.** *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(1), 13-29. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.07.010>
61. Sukhumsirichart, W. (2018). **Polymorphisms.** In Y. Liu (Éd.), *Genetic Diversity and Disease Susceptibility*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76728>
62. Tajan, M., De Rocca Serra, A., Valet, P., Edouard, T., & Yart, A. (2015). **SHP2 sails from physiology to pathology.** *European Journal of Medical Genetics*, 58(10), 509-525. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2015.08.005>
63. Teama, S. (2018). **DNA Polymorphisms : DNA-Based Molecular Markers and Their Application in Medicine.** In Y. Liu (Éd.), *Genetic Diversity and Disease Susceptibility*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79517>
64. The UniProt Consortium, Bateman, A., Martin, M.-J., Orchard, S., Magrane, M., Ahmad, S., Alpi, E., Bowler-Barnett, E. H., Britto, R., Bye-A-Jee, H., Cukura, A., Denny, P., Dogan, T., Ebenezer, T., Fan, J., Garmiri, P., Da Costa Gonzales, L. J., Hatton-Ellis, E., Hussein, A., ... Zhang, J. (2023). **UniProt : The Universal Protein**

- Knowledgebase in 2023.** *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D523-D531.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052>
65. Um, S., Kakati, T., Iakoucheva, L. M., Chen, Y., & Mooney, S. (2025). **Understanding Molecular Basis of PTPN11-Related Diseases** (Version 1). arXiv.
<https://doi.org/10.48550/ARXIV.2511.11860>
66. Van Durme, J., Delgado, J., Stricher, F., Serrano, L., Schymkowitz, J., & Rousseau, F. (2011). **A graphical interface for the FoldX forcefield.** *Bioinformatics*, 27(12), 1711-1712. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr254>
67. Van Roij, J., Brom, L., Youssef-El Soud, M., Van De Poll-Franse, L., & Raijmakers, N. J. H. (2019). **Social consequences of advanced cancer in patients and their informal caregivers : A qualitative study.** *Supportive Care in Cancer*, 27(4), 1187-1195. <https://doi.org/10.1007/s00520-018-4437-1>
68. Wang, J., Mizui, M., Zeng, L.-F., Bronson, R., Finnell, M., Terhorst, C., Kyttaris, V. C., Tsokos, G. C., Zhang, Z.-Y., & Kontaridis, M. I. (2016). **Inhibition of SHP2 ameliorates the pathogenesis of systemic lupus erythematosus.** *Journal of Clinical Investigation*, 126(6), 2077-2092. <https://doi.org/10.1172/JCI87037>
69. Wang, S., Battigelli, A., Alkekha, D., Fairman, A., Antoci, V., Yang, W., Moore, D., & Shukla, A. (2020). **Controlled delivery of a protein tyrosine phosphatase inhibitor, SHP099, using cyclodextrin-mediated host–guest interactions in polyelectrolyte multilayer films for cancer therapy.** *RSC Advances*, 10(34), 20073-20082. <https://doi.org/10.1039/D0RA03864D>
70. Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F. T., de Beer, T. A. P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., & Schwede, T. (2018). **SWISS-MODEL : Homology modelling of protein structures and complexes.** *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W296-W303.
<https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
71. Wujieti, B., Hao, M., Liu, E., Zhou, L., Wang, H., Zhang, Y., Cui, W., & Chen, B. (2024). **Study on SHP2 Conformational Transition and Structural Characterization of Its High-Potency Allosteric Inhibitors by Molecular Dynamics Simulations Combined with Machine Learning.** *Molecules*, 30(1), 14.
<https://doi.org/10.3390/molecules30010014>
72. Yang, W., & Lefebvre, V. (2025). **PTPN11 in cartilage development, adult homeostasis, and diseases.** *Bone Research*, 13(1), 53. <https://doi.org/10.1038/s41413-025-00425-0>
73. Yu, Z.-H., Zhang, R.-Y., Walls, C. D., Chen, L., Zhang, S., Wu, L., Liu, S., & Zhang, Z.-Y. (2014). **Molecular Basis of Gain-of-Function LEOPARD Syndrome-Associated SHP2 Mutations.** *Biochemistry*, 53(25), 4136-4151.
<https://doi.org/10.1021/bi5002695>
74. Yuan, X., Bu, H., Zhou, J., Yang, C.-Y., & Zhang, H. (2020). **Recent Advances of SHP2 Inhibitors in Cancer Therapy : Current Development and Clinical Application.** *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(20), 11368-11396.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00249>
75. Zhang, J., Zhang, F., & Niu, R. (2015). **Functions of Shp2 in cancer.** *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 19(9), 2075-2083.
<https://doi.org/10.1111/jcmm.12618>
76. Zhong, Q., Xiao, X., Qiu, Y., Xu, Z., Chen, C., Chong, B., Zhao, X., Hai, S., Li, S., An, Z., & Dai, L. (2023). **Protein posttranslational modifications in health and**

Bibliographie

diseases : Functions, regulatory mechanisms, and therapeutic implications.
MedComm, 4(3), e261. <https://doi.org/10.1002/mco2.261>