

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

Benmokhtari Douaa et Kara Terki Manel

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En immunologie

Thème :

**Caractérisation des variants hyperactifs de
SIRP α modulant la résistance à la
phagocytose.**

Soutenu le, devant le jury composé de :

Président :	TRIQUI CHahinez	MCB	
Encadrant :	Hadjadj Zeyneb	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice :	DJELTI Farah	MCA	

Année universitaire 2025/2026

Remerciements

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

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante, **Zyneb Hadjij**, pour son accompagnement précieux, sa disponibilité, ses conseils avisés et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire. Sa rigueur scientifique et son engagement ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.

Nous tenons également à adresser nos sincères remerciements au directeur du laboratoire, **Mourad Aribi**, pour son accueil, son encadrement scientifique et les conditions de travail qu'il a mises à notre disposition.

Nous remercions les plus chaleureux vont également à notre co-encadrante, **Nour Houda Bendjefal**, pour son aide précieuse, sa disponibilité, ses encouragements constants et les connaissances qu'elle a partagées avec moi tout au long de ce projet.

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 DJELTI Farah**, pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire, ainsi que pour le temps consacré à son examen et les remarques constructives qu'elle apportera.

Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdoulilah. Louange, gratitude et reconnaissance à Allah, le Tout-Puissant, qui m'a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail et transformer un rêve en une réalité dont je suis aujourd'hui profondément fière.

À ma très chère mère, **Rebiai Chahida,**

Mon ange pur, ma force après Dieu et ma première source de soutien. Cette réussite est avant tout la tienne, car sans tes sacrifices, ton amour inconditionnel et tes efforts inlassables, je n'aurais jamais pu atteindre cet objectif. Tu as toujours été mon refuge, mon pilier et ma plus grande bénédiction. Que Dieu te préserve et te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi.

À mon cher père, **Benmokhtari Lakhdar,**

Pour son soutien constant, sa confiance en moi, ses précieux conseils et les valeurs qu'il m'a transmises. Merci pour ta bienveillance et ton dévouement. Que Dieu te protège et t'accorde une longue vie remplie de santé et de bonheur.

À mon tendre époux, **Houssine,**

Pour son amour, sa patience, sa compréhension et son soutien indéfectible tout au long de ce parcours. Merci d'avoir partagé avec moi les moments de doute comme ceux de réussite. Ta présence a été une source de force, de sérénité et d'encouragement.

À ma merveilleuse grand-mère,

Pour sa tendresse infinie, ses prières sincères et son affection inestimable. Ton amour a toujours été pour moi une source de réconfort et de courage.

À mes chères tantes, **Rebiai Khadija et Rebiai Aïcha,**

Pour leur affection, leurs encouragements et leur bienveillance. Merci pour votre soutien moral et vos prières qui m'ont accompagnée tout au long de ce chemin.

À mes chers frères, **Seraj Eddin et Abd Samed,**

Pour leur amour fraternel, leur présence et leur soutien. Vous avez toujours été une source de motivation et d'inspiration dans ma vie.

À mon chère binôme, **Manel,**

Avec qui j'ai partagé cette aventure universitaire faite de travail, de défis, de persévérance et de souvenirs inoubliables. Merci pour ta collaboration, ta patience et ton amitié sincère.

À mes fidèles amies, **Meriem et Wafaa, ainsi qu'à Oussama,**

Pour leur présence, leurs encouragements, leur confiance et leur aide précieuse. Merci d'avoir été à mes côtés tout au long de ce parcours.

Enfin,

À toutes les personnes qui m'ont soutenue, de près ou de loin, et qui ont contribué à ma réussite, je dédie humblement ce travail avec toute ma gratitude, mon respect et mon affection.

Douaa Benmoukhtari ✨

Dédicace

Je souhaite dédier ce travail à ceux qui ont éclairé mon chemin,

À maman et papa, mes piliers et mes guides. Votre amour et votre sagesse m'ont façonnée et m'ont donné la force de surmonter les défis. Chaque pas que je fais est le reflet de votre dévouement et de votre soutien. Merci d'être mes plus grands fans et mes plus précieux alliés. Je vous dédie ce mémoire avec tout mon amour.

À mon frère, mes sœurs, le mari de ma sœur et mon fiancé, votre soutien m'inspire chaque jour. Je vous dédie ce mémoire avec toute ma gratitude.

À ma binôme Douaa, merci pour ton soutien, ton sérieux, ton humour face au stress et ta patience infinie. Ce travail est le reflet de notre complicité et de notre belle complémentarité. C'était une chance et un immense plaisir de partager cette aventure avec toi. Merci pour nos échanges constructifs et notre capacité à avancer ensemble.

Je dédie également ce mémoire à **mes amies meriem et wafaa et aussi oussama** celles avec qui j'ai partagé les joies, les doutes et les petites victoires de ces années. Votre amitié est un trésor.

Manel kara terki

Résumé

La protéine SIRP α (Signal Regulatory Protein Alpha) joue un rôle essentiel dans la régulation de la réponse immunitaire innée grâce à son interaction avec CD47. Les polymorphismes nucléotidiques simples non synonymes (nsSNP) peuvent influencer les propriétés structurales et fonctionnelles de cette protéine.

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer l'impact potentiel des nsSNP de SIRP α à l'aide de différentes approches bioinformatiques. Un total de 150 nsSNP a été collecté puis analysé par les outils SIFT, PolyPhen-2 et PROVEAN. Les variants prédits comme tolérés ou non délétères ont été retenus pour des analyses complémentaires. Leur effet sur la stabilité protéique a été évalué à l'aide d'I-Mutant 2.0 et DUET, tandis que Missense3D a été utilisé pour étudier les modifications structurales potentielles. Les conséquences moléculaires des mutations ont également été examinées à l'aide de MutPred2 et l'impact éventuel sur le peptide signal a été analysé par SignalP.

À l'issue des différentes étapes de filtrage, cinq variants ont été sélectionnés pour des analyses approfondies. Ces derniers ont fait l'objet d'une modélisation tridimensionnelle suivie d'études de docking moléculaire afin d'évaluer leur influence sur la structure de SIRP α et sur ses interactions protéiques.

Les résultats obtenus suggèrent que certains variants, bien que prédits comme tolérés par les outils de prédiction fonctionnelle, peuvent induire des modifications de stabilité, de structure ou d'interactions moléculaires. Ces observations soulignent l'intérêt de combiner plusieurs approches bioinformatiques pour mieux comprendre les effets potentiels des variations génétiques de SIRP α .

Mots-clés: Axe cd47/SIRP α , criblage des SNP, énergie d'interaction, gain de fonction, modélisation structurale, prédiction *in silico*, SIRP α , stabilité protéique.

Abstract

The signal regulatory protein SIRP α plays a crucial role in regulating the innate immune response through its interaction with CD47. Non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) can influence the structural and functional properties of this protein.

This study aimed to evaluate the potential impact of SIRP α nsSNPs using various bioinformatics approaches. A total of 150 nsSNPs were collected and analyzed using SIFT, PolyPhen-2, and PROVEAN. Variants predicted to be tolerated or non-deleterious were selected for further analysis. Their effect on protein stability was assessed using I-Mutant 2.0 and DUET, while Missense3D was used to investigate potential structural changes. The molecular consequences of the mutations were also examined using MutPred2, and the potential impact on the signal peptide was analyzed using SignalP. Following the various filtering steps, five variants were selected for in-depth analyses. These variants underwent three-dimensional modeling followed by molecular docking studies to assess their influence on SIRP α structure and its protein interactions.

The results suggest that some variants, although predicted as tolerated by functional prediction tools, can induce changes in stability, structure, or molecular interactions. These observations highlight the value of combining several bioinformatics approaches to better understand the potential effects of SIRP α genetic variations.

Keywords:cd47/SIRP α axis, SNP screening, interaction energy, gain of function, structural modeling, in silico prediction, SIRP α , protein stability

المخلص

يلعب البروتين المنظم للإشارات $SIRP\alpha$ دورًا محوريًا في تنظيم الاستجابة المناعية الفطرية من خلال تفاعله مع CD47. ويمكن أن تؤثر تعددات أشكال النوكليوتيدات المفردة غير المترادفة (nsSNPs) على الخصائص البنيوية والوظيفية لهذا البروتين.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التأثير المحتمل لتعددات أشكال النوكليوتيدات المفردة غير المترادفة في $SIRP\alpha$ باستخدام مناهج معلوماتية حيوية متنوعة. جُمع ما مجموعه 150 تعددًا من أشكال النوكليوتيدات المفردة غير المترادفة وحُللت باستخدام SIFT و PolyPhen-2 و PROVEAN. واختبرت المتغيرات التي يُتوقع أن تكون مقبولة أو غير ضارة لمزيد من التحليل. وقُيِّم تأثيرها على استقرار البروتين باستخدام I-Mutant 2.0 و DUET، بينما استُخدم Missense3D لدراسة التغيرات البنيوية المحتملة. كما فُحصت العواقب الجزيئية للطفرات باستخدام MutPred2، وحُلِّل التأثير المحتمل على ببتيد الإشارة باستخدام SignalP. وبعد خطوات الترشيح المختلفة، اختبرت خمسة متغيرات لإجراء تحليلات معمقة. خضعت هذه المتغيرات لنمذجة ثلاثية الأبعاد، تلتها دراسات الالتحام الجزيئي لتقييم تأثيرها على بنية $SIRP\alpha$ وتفاعلاتها البروتينية.

تشير النتائج إلى أن بعض المتغيرات، على الرغم من توقع أدوات التنبؤ الوظيفي أنها مقبولة، قد تُحدث تغييرات في الاستقرار أو البنية أو التفاعلات الجزيئية. تُبرز هذه الملاحظات أهمية الجمع بين عدة مناهج معلوماتية حيوية لفهم التأثيرات المحتملة للتغيرات الجينية في $SIRP\alpha$ بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: محور $cd47/SIRP\alpha$ ، فحص تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة، طاقة التفاعل، اكتساب الوظيفة، النمذجة الهيكلية، التنبؤ الحاسوبي، $SIRP\alpha$ ، استقرار البروتين

Liste des abréviations

SIRP α : Protéine alpha régulatrice du signal.

SHP-1: La protéine tyrosine phosphatase possédant un domaine d'homologie à SH2 1 .

SHP-2 : La protéine tyrosine phosphatase possédant un domaine d'homologie à SH2 2.

ITIM: Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif.

CD47 : Cluster of Differentiation 47 / Un marqueur du « soi » ubiquitaire.

ITSM : Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif.

SHPS-1 : Substrat de la phosphatase tyrosine contenant le domaine SH2 1.

Src : référence à une famille de protéines kinases tyrosine.

NK :Naturel Killer(cellule tueuse naturelle) .

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase.

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase.

LAM : Leucémie Aiguë Myéloïde.

LMC : Leucémie Myéloïde Chronique.

ERK : Extracellular Signal-Regulated Kinase.

AKT : Protein Kinase B.

GSK-3 β : Glycogen Synthase Kinase 3 Beta.

β -caténine : Beta-catenin.

EGF : Epidermal Growth Factor.

HGF : Hepatocyte Growth Factor.

ERK1 : Extracellular Signal-Regulated Kinase 1 (MAPK3).

LN : néphrite lupus.

IFN- γ : l'interféron gamma.

IFN- α : l'interféron alpha.

IL-17 : l'interleukine-17.

GS-9973 : Inhibiteur sélectif de Syk kinase (Spleen Tyrosine Kinas.

IL-1 β : Interleukin-1 beta (Interleukine 1 bêta) .

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha (Facteur de nécrose tumorale alpha).

IL-6 : Interleukin-6 .

Th17: Cellules T Helper 17.

FC : fragment constant des immunoglobulines.

ADCC : la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps.

ADCP : la phagocytose cellulaire dépendante des anticorps.

CDC : la cytotoxicité dépendante du complément.

LT CD4 : Lymphocyte T CD4+ (lymphocyte T auxiliaire, T helper).

LT CD8 : Lymphocyte T CD8+ (lymphocyte T cytotoxique).

M1 : Macrophage de type 1 (macrophage pro-inflammatoire, activation classique).

M2 : Macrophage de type 2 (macrophage anti-inflammatoire, activation alternative, réparation tissulaire).

l'IL-10 : Interleukin-10.

SNP : polymorphisme mono nucléotidique.

nsSNP : Non synonyme polymorphisme nucléotidique simple.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ARN : Acide Ribonucléique.

ARNm : Acide Ribonucléique messenger.

Liste des abréviations

GWAS : Genome-Wide Association Study (étude d'association pangénomique)

SIFT : Sorting Intolerant From Tolerant (outil de prédiction d'impact des variants).

PolyPhen : Polymorphism Phenotyping.

PROVEAN : Protein Variation Effect Analyzer.

SIRP α v1 : SIRP alpha variant 1 (variant 1 de SIRP α).

SIRP α v2 : SIRP alpha variant 2 (variant 2 de SIRP α).

ADMET : Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity.

dbSNP : Database of Single Nucleotide Polymorphisms.

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

CONDEL : Consensus Deleteriousness score.

ATP : Adenosine Triphosphate.

CpG : Cytosine-phosphate-Guanine site.

Gène MTHFR : Methylenetetrahydrofolate Reductase gene

RCC : Renal Cell Carcinoma (carcinome à cellules rénales)

NO : Nitric Oxide (monoxyde d'azote).

NO₂ : Nitrogen Dioxide (dioxyde d'azote).

nTyr : nitrotyrosine (tyrosine nitrée).

PKA : Protein Kinase A.

SIRP α -GST : SIRP alpha fused with GST tag (Glutathione S-Transferase tag fusion protein).

VDM : Very Dangerous Mutation (souvent utilisé de manière informelle en bioinformatique pour variants fortement délétères).

FASTA format : Fast Alignment format (format de séquence biologique).

Liste des abréviations

$\Delta\Delta G$ (Delta Delta G) : Change in Gibbs free energy (variation d'énergie libre de Gibbs).

PDB : Protein Data Bank.

AlphaFold : Artificial Intelligence system for protein structure prediction (DeepMind).

mCSM : Mutation Cutoff Scanning Matrix (predictor of mutation effects).

SDM : Site-Directed Mutator (stability prediction tool).

SVM : Support Vector Machine (algorithme d'apprentissage automatique).

Liste des tableaux

Tableau1.1. Le rôle de SIRP α dans différents types de cancer :(Takahashi, 2018b)	10
Tableau2.1. Propriétés fonctionnelles évolutives des sites de modifications post-traductionnelles (PTM) de la protéine SIRP α analysées par MutPred2.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau3.1. résultats de filtration des outils SIFT, Polyphen2, PROVEAN	Erreur ! Signet non défini.
Tableau3.2. les nsSNPs dans les domaines conservés du SIRP alpha via InterPro	Erreur ! Signet non défini.
Tableau3.3 Filtration de trois outils DUET IMutant Mutpred2	Erreur ! Signet non défini.
Tableau3.4 résultats positifs du Missence3D.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau3.5 Estimation de qualités des protéines modélisé par SUISS-MODEL	Erreur ! Signet non défini.
Tableau3.6 Visualisation et superposition des protéines par SUISS-MODEL..	Erreur ! Signet non défini.
Tableau3.7 Les résultats obtenus par Phyr-2.....	72
Tableau 3.8. analyse de Foldx.....	73
Tableau3.9 Les interactions intermoléculaires issues du docking moléculaire .	Erreur ! Signet non défini.

LISTE DES FIGURES

Figure1. 1 Structure cristalline du SIRP α domaine N-terminal (SIRP α d1).	5
Figure1. 2 La localisation de gène SIRP α (Gene Cardes).....	6
Figure1. 3 La structure de SIRP α	7
Figure1. 4 Manifestation de peau des patients atteints lupus néphrite	11
Figure1. 5 Rôle de l'axe CD47- SIRP α dans la maladie de Crohn	12
Figure1. 6 Représentation schématique des variantes de SIRP α (V1 et V2), de leur interaction avec CD47 et de leurs effets sur la phagocytose des cellules tumorales et la réponse immunitaire.	18
Figure1. 7 Pipeline d'analyse des polymorphismes in silico	21
Figure1. 8 Schéma illustratif de la phosphorylation comme modification post-traductionnelle.	23
Figure2.1 Conception de l'étud	28
Figure2.2 Base de données gène de NCBI.....	29
Figure2.3 Base de données UniProtKB	29
Figure2.4 Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT).	31
Figure2.5 Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen-2).	32
Figure2.6: PROVEAN (Protein variation effect analyzer)	33
Figure2.7 l'outil InterPro	34
Figure2.8. I-Mutant2.0	35
Figure2.9. l'outil DUET	36
Figure2.10. L'outil MutPred2.....	37
Figure2.11. L'outil Missense3D.....	39
Figure2.12. L'outil SignalP 6.0	40
Figure2.13. Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par Phyre2	41
Figure2.14. Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par SWISS-Model	42
Figure2.15. Visualisation tridimensionnelle de la structure protéique obtenue à l'aide du logiciel YASARA View.....	44
Figure2.16. Configuration du Docking sur ClusPro.	45
Figure2.17. La visualisation par PyMOL	46
Figure3.1 schéma de répartition des résultats d'analyse.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure3.2 pourcentages représentant les résultats de SIFT, Polyphen2, PROVEAN.	Erreur ! Signet non défini.

Figure 3.3 pourcentages représentant les résultats d'I-Mutant, DUET et **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 3.4 pourcentages représentant les résultats de Missence3D **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 3.5 Diagramme des interaction des mutants de SIRP α 76

Table des matières

<i>Remerciements</i>	I
<i>Dédicace</i>	II
Résumé.....	V
Abstract.....	VI
الملخص.....	VII
Liste des abréviations	IX
Liste des tableaux	XIII
LISTE DES FIGURES	XIV
Introduction.....	1
I. REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
1.1. Caractéristiques moléculaires et génétiques du récepteur SIRP α	4
1.1.1. Définition	4
1.1.2. Gène SIRP α	5
1.1.3. Structure SIRP α	6
1.2. L'interrupteur immunitaire CD47-SIRP α : Mécanismes de signalisation	7
1.2.1 Rôle de CD47 / SIRP α dans l'immunité	7
1.2.2. Signalisation CD47-SIRP α dans les cellules myéloïdes	8
1.2.3. Le rôle de CD47-SIRP α dans l'homéostasie tissulaire	8
1.3. Implications physiopathologiques : Du microenvironnement tumoral à l'auto-immunité.....	9
1.3.1. Implication de SIRP α dans le développement et la progression tumorale.....	9
1.3.2. Rôle SIRP α dans les maladies auto-immunes.....	10
1.3.2.1. SIRP α dans la maladie de néphrite lupus	10
1.3.2.2. SIRP α dans la maladie de Crohn	11
1.4. Intérêt thérapeutique de la voie SIRP α /CD47.....	12
1.5. Variations ponctuelles de type (SNPs)	14
1.5.1. Généralités sur les SNPs.....	14
1.5.2. Catégories des polymorphismes mono nucléotide	14
1.5.2.1. Les SNP non synonymes	14
1.5.2.2. Les SNP synonymes :	15
1.5.3. Influence des SNP sur la régulation de l'expression génique	15
1.5.5. Evolution récentes et limites de la biodétection des SNPs.....	15
1.5.6 Analyse prédictive des effets fonctionnels des SNPs non synonymes	16
1.5.7. Polymorphisme génétiques de SIRP α	16

1.6. Approches bioinformatiques pour la prédiction phénotypique et structurale des variants	18
1.6.1. Définition	18
1.6.2. Etude de polymorphisme <i>in silico</i>	19
1.7. Modification post traductionnelle	21
1.7.1. Généralités.....	21
1.7.2. Phosphorylation.....	22
1.8. Modélisation moléculaire	23
1.8.1. Définition	23
1.8.2. Modélisation moléculaire du complexe SIRPα/CD47	24
1.9 Stabilité et densité protéique et leur effet sur la fonction des protéines : gain ou perte de fonction	24
1.10. Problématique	25
1.11. Objectif.....	26
1.12. But.....	26
2.1 Exploration et analyse des données	28
2.2 Analyse prédictive des SNPs tolérés à l'aide de différents outils bioinformatique	29
❖ SIFT	30
❖ PolyPhen-2 :	31
❖ PROVEAN :	32
2.3 Détection des nsSNP dans les régions conservées des gènes :	33
2.4 Confirmation des nsSNP à forte impact fonctionnel.....	34
❖ I-Mutant2.0.....	34
❖ DUET	35
2.5 Impact des nsSNPs sur la stabilité structurale des protéines	36
❖ MutPred2.....	36
❖ Missence3D	38
2.6. Détection des peptides signal via SignalP 6.0.....	39
2.7. Modélisation moléculaire	40
❖ Modélisation par Phyre2.....	40
❖ Modélisation par SWISS-MODEL	41
2.8 : Analyse de la stabilité structurale et thermodynamique des variants protéiques à l'aide de FoldX	42
2.9. Docking Moléculaire	44
❖ clusPro :	44
2.10. Visualisation Moléculaire	45
❖ PyMOL.....	45

Table des matière

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	48
VI. BIBLIOGRAPHIE	51

INTRODUCTION

Introduction

Le cancer est une maladie complexe et multifactorielle qui représente une menace majeure pour la santé humaine à l'échelle mondiale. Il regroupe un ensemble de pathologies résultant de la transformation de cellules normales en cellules anormales à la suite d'altérations génétiques et épigénétiques. Ces cellules acquièrent des capacités de prolifération incontrôlée (**Hajdu, 2011**), d'échappement aux mécanismes de régulation cellulaire et de surveillance immunitaire (**Brown et al., 2023**), ainsi qu'un pouvoir d'invasion des tissus environnants et de dissémination à distance sous forme de métastases. Parmi les stratégies d'échappement les plus sophistiquées figurent le détournement des points de contrôle immunitaires innés, en particulier l'axe CD47-SIRP α qui joue un rôle central dans la régulation de l'activité des cellules myéloïdes, notamment des macrophages (**Takahashi, 2018a**). L'interaction du CD47 surexprimé à la surface des cellules tumorales et du SIRP α exprimé par les macrophages initie une cascade de signalisation qui induit l'échappement à la phagocytose par les macrophages, ce qui est essentiel à la croissance et à la métastase des tumeurs (**Jia et al., 2021a**).

Ce signal d'inhibition de la phagocytose est transmis par phosphorylation des motifs d'inhibition ITIM et ITSM présents dans le domaine cytoplasmique de SIRP α , entraînant le recrutement des phosphatases SHP-1 et SHP-2 (**Takahashi, 2018b**). Ainsi, l'axe CD47-SIRP α agit comme un signal de reconnaissance du « soi » appelé « don't eat me », permettant aux cellules normales d'échapper à l'élimination immunitaire. Son exploitation par les cellules tumorales favorise l'évasion immunitaire et la résistance à la phagocytose, faisant de cet axe une cible importante en immunothérapie anticancéreuse.

Par ailleurs, l'axe CD47-SIRP α constitue une cible stratégique en immunothérapie anticancéreuse en raison de son rôle central dans l'inhibition de la phagocytose. Le blocage de cette interaction permet de restaurer l'activité phagocytaire des macrophages, de stimuler la présentation antigénique et de renforcer la réponse immunitaire anti tumorale adaptative. Plusieurs approches thérapeutiques sont en cours de développement, notamment les anticorps anti-CD47, les anticorps anti-SIRP α , ainsi que les protéines de fusion et les anticorps

bispécifiques (**Andrejeva et al., 2021**). Toutefois, l'expression ubiquitaire de CD47 sur les cellules normales, en particulier les globules rouges, peut induire des toxicités rendant nécessaires des stratégies plus spécifiques. Les anticorps bispécifiques ciblant simultanément CD47 et des antigènes associés aux tumeurs permettent une neutralisation sélective de CD47 sur les cellules cancéreuses, tout en limitant les effets indésirables (**Masternak et al., 2015**).

Malgré les effets bénéfiques observés avec les thérapies ciblant l'axe CD47–SIRP α , tous les patients ne répondent pas de la même manière au traitement. Certains patients présentent une réponse clinique satisfaisante, tandis que d'autres développent une résistance, limitant l'efficacité de ces approches thérapeutiques. Cette variabilité pourrait être liée à des différences moléculaires au niveau de SIRP α . En effet, certaines variantes de SIRP α peuvent modifier l'intensité du signal inhibiteur transmis aux macrophages, conduisant à une inhibition plus forte de la phagocytose des cellules tumorales. Ces variantes dits hyperactifs pourraient ainsi maintenir un signal « don't eat me » efficace, même en présence d'un blocage de CD47, contribuant à la résistance observée chez une partie des patients (**Xiao & Akilov, 2022**).

Enfin, les approches expérimentales permettant l'identification et la caractérisation fonctionnelle de ces variantes sont longues, coûteuses et techniquement complexes. Dans ce contexte, les méthodes *in silico* — telles que la modélisation structurale, le docking moléculaire et la prédiction de l'impact fonctionnel des mutations (**Huang et al., 2023**) — représentent une alternative puissante pour explorer les conséquences structurales et fonctionnelles des variantes de SIRP α , prédire leur influence sur l'interaction CD47–SIRP α et identifier ceux susceptibles de conférer une résistance accrue à la phagocytose. Dans le cadre de notre étude, nous nous intéressons aux caractéristiques des variantes hyperactives de SIRP α pouvant moduler la résistance à la phagocytose, ainsi qu'à la manière dont les analyses *in silico* de ces variantes permettent de comprendre comment ils modulent la résistance à la phagocytose et quelles sont les conséquences de ces mutations sur l'efficacité de l'élimination des cellules tumorales par les macrophages.

I. REVUE DE LA LITTERATURE

I. REVUE DE LA LITTERATURE

1.1. Caractéristiques moléculaires et génétiques du récepteur SIRP α

1.1.1. Définition

SIRP α est une glycoprotéine transmembranaire qui se trouve principalement dans les cellules myéloïdes et neuronales (**Dietrich et al. 2000**). Parmi les protéines SIRP, elle se caractérise par sa capacité à interagir avec la protéine CD47 (**Logtenberg, Scheeren, et Schumacher 2020**).

D'un point de vue fonctionnel, SIRP α est une protéine immunorégulatrice appartenant à la superfamille des immunoglobulines. Son domaine cytoplasmique renferme deux motifs ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs), responsables de la transmission de signaux inhibiteurs. Grâce à cette organisation structurale, SIRP α intervient dans le contrôle de plusieurs activités des leucocytes, notamment leur adhésion aux tissus, leur migration ainsi que leur capacité phagocytaire, contribuant ainsi à l'équilibre et à la régulation des réponses immunitaires (**Barclay et Van Den Berg 2014**).

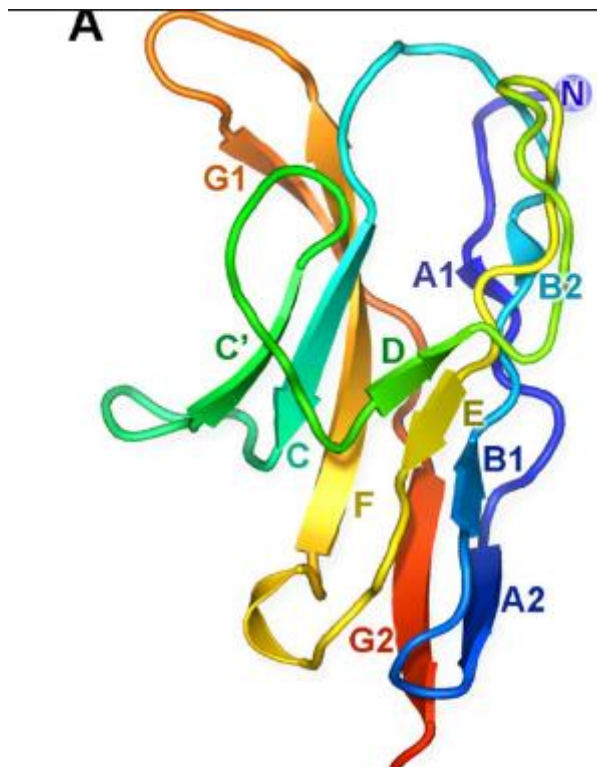


Figure1. 1 Structure cristalline du SIRPα domaine N-terminal (SIRPα d1).



1.1.2. Gène SIRPα

Le SIRPα humain est codé par le gène *SHPS-1*, qui se situe sur le chromosome 20, plus précisément sur le bras court (20p13) (Figure 1.2). Ce locus génétique, bien caractérisé, comprend 12 exons. Il a été démontré que la protéine réceptrice SIRPα reconnaît spécifiquement CD47 comme ligand. Cette interaction joue un rôle fondamental dans la régulation inhibitrice du système immunitaire inné, en modulant notamment la phagocytose par les macrophages et contribuant ainsi au maintien de l'homéostasie cellulaire.

vue génomique pour SIRPA Gene

Gènes autour de SIRPA sur UCSC Golden Path avec des pistes personnalisées GeneCards (GRCh38/hg38, GRCh37/hg19)

Bande 20p13 par [HGNC](#) 20p13 par [NCBI Gene](#) 20p13 par [Ensembl](#)

cytogénétique: SIRPA Gene en emplacement génomique: bandes selon Ensembl, emplacements selon GeneLoc (et/

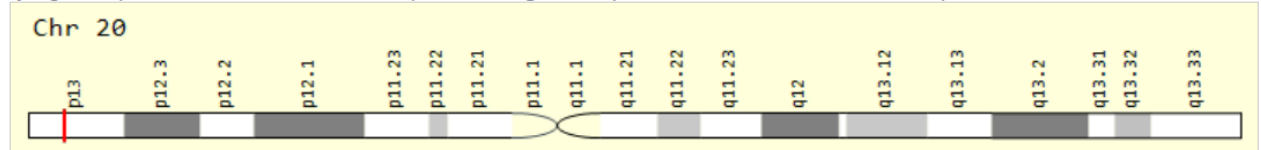
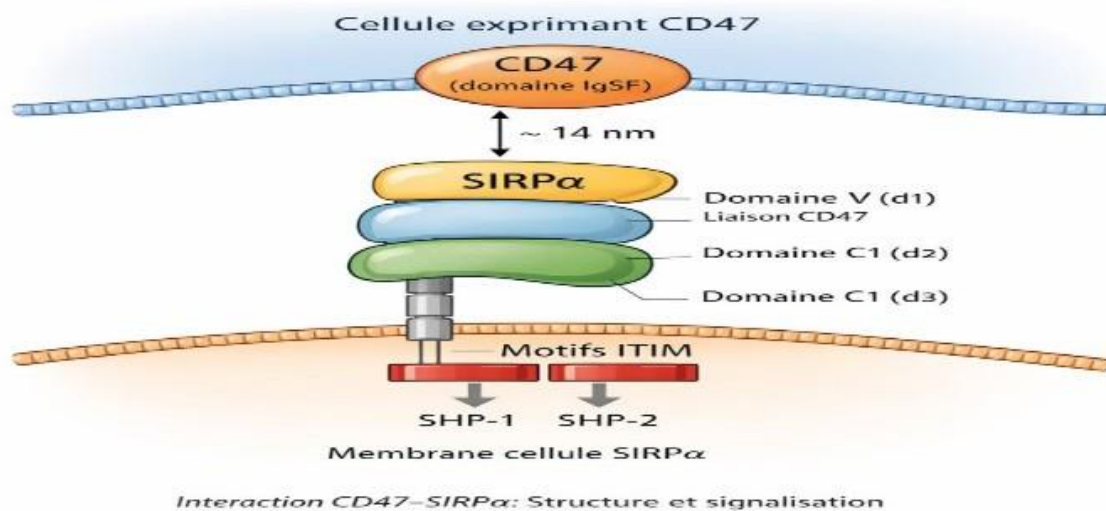


Figure1. 2 La localisation de gène SIRPα (Gene Cardes)

1.1.3. Structure SIRPα

SIRPα (Signal Regulatory Protein alpha) est une protéine membranaire principalement exprimée sur les cellules myéloïdes et joue un rôle clé dans la régulation des interactions cellulaires. Sa portion extracellulaire comporte trois domaines de la superfamille des immunoglobulines : un domaine N-terminal de type V, qui assure la liaison au ligand CD47, et deux domaines proches de la membrane de type C1, dont la structure rappelle celle des protéines de reconnaissance antigénique du système immunitaire adaptatif. L'interaction CD47–SIRPα, qui s'étend sur environ 14 nm, permet un contact cellulaire spécifique comparable à une synapse immunologique et déclenche un signal inhibiteur via les motifs ITIM situés dans la région intracellulaire, recrutant les phosphatases SHP-1 et SHP-2. Cette organisation suggère que SIRPα pourrait dériver d'un précurseur des récepteurs d'antigènes (**Hatherley et al. 2009**)



Created in BioRender.com bio

Figure1. 3 La structure de SIRPα

1.2. L'interrupteur immunitaire CD47-SIRPα : Mécanismes de signalisation

1.2.1 Rôle de CD47 / SIRPα dans l'immunité

Le récepteur SIRPα est exprimé sur les cellules myéloïdes et est un récepteur immunitaire inhibiteur qui, en se liant à la protéine CD47, transmet un signal « ne me mange pas » (**Van Duijn et al. 2022**) aux cellules myéloïdes phagocytaires (monocytes, macrophages et cellules dendritiques) qui contrôlent la réponse immunitaire innée (**Oldenborg et al. 2000; Seidakhmetov et al. 2025**).

Dans le microenvironnement tumoral, les cellules cancéreuses surexpriment fréquemment CD47, ce qui leur permet d'échapper à la phagocytose par les cellules myéloïdes. L'activation de l'axe CD47/SIRPα inhibe donc les fonctions anti tumorales des cellules myéloïdes et contribue à la suppression de la réponse immunitaire anticancéreuse (**Van Duijn et al. 2022**). La phagocytose repose sur un équilibre entre des signaux pro phagocytaires « mange-moi » et des signaux inhibiteurs « ne me mange pas », parmi lesquels l'axe CD47/SIRPα occupe une place centrale. Toutefois, la simple inhibition de ce signal ne suffit pas toujours à induire

efficacement la phagocytose de la cellule cible (**Willingham et al. 2012**), ce qui souligne l'importance de l'interaction entre les différents signaux régulateurs. Au-delà de son rôle dans l'immunité innée, l'axe CD47/SIRP α influence également l'immunité adaptative en modulant les réponses des lymphocytes T au sein du cycle d'immunité anti tumorale (**Seiffert et al. 2001**). Enfin, cet axe participe à des processus homéostatiques essentiels, notamment le maintien des érythrocytes, des cellules immunitaires innées et des lymphocytes T (**Van Duijn et al. 2022**).

1.2.2. Signalisation CD47-SIRP α dans les cellules myéloïdes

La signalisation entre CD47 et SIRP α dans les cellules myéloïdes constitue un mécanisme inhibiteur essentiel au maintien de la tolérance du soi. SIRP α est un récepteur transmembranaire exprimé principalement à la surface des macrophages, neutrophiles et cellules dendritiques, tandis que CD47 est largement exprimé par la plupart des cellules de l'organisme (**Murata et al., 2018a**). Lorsque CD47 se lie à SIRP α , les motifs ITIM présents dans la région cytoplasmique de SIRP α sont phosphorylés par des kinases de la famille Src. Cette phosphorylation permet le recrutement des phosphatases à domaine SH2, notamment SHP-1 et SHP-2, qui déphosphorylent des molécules clés impliquées dans les voies d'activation cellulaire (**Barclay & Van Den Berg, 2014**). La liaison de SIRP α à CD47 induit ainsi une cascade inhibitrice conduisant à l'inactivation de la myosine IIA, étape cruciale pour bloquer la phagocytose. En conséquence (**Barclay & Van Den Berg, 2014; Jia et al., 2021**), le réarrangement du cytosquelette d'actine et la formation de la cupule phagocytaire sont inhibés, ce qui empêche l'ingestion de la cellule cible (Barclay, 2009). L'axe CD47–SIRP α transmet donc un signal inhibiteur puissant qui protège les cellules exprimant CD47 contre la phagocytose par les cellules myéloïdes (**Okazaki et al., 2013**).

1.2.3. Le rôle de CD47-SIRP α dans l'homéostasie tissulaire

Dans le cadre de la communication cellulaire soit crucial pour assurer le bon fonctionnement et le maintien de l'homéostasie, car les échanges extracellulaires sont assurés par des récepteurs de surface qui transmettent des signaux participant à différentes fonctions cellulaires. CD47 interagit avec la protéine régulatrice de signal α (SIRP α) et contrôle l'adhérence, l'apoptose, la phagocytose, la prolifération, le métabolisme, l'activation, la migration des cellules souches hématopoïétiques et les tumeurs malignes et assurer l'échappement à la phagocytose par les macrophages (**Bhardwaj et al. 2025**).

D cette façon, cette voie est essentielle pour la défense immunitaire, l'équilibre lymphocytaire, le remodelage osseux, la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), l'athérosclérose

et la surveillance immunitaire des tumeurs, en activant la réponse phagocytaire des macrophages et des cellules du système immunitaire **(Oronsky et al. 2020)**.

Dans le cadre du remodelage osseux, L'homéostasie osseuse est régulée grâce à l'interaction CD47/SIRP α , qui génère des ostéoclastes **(Uluçkan et al. 2009)**. La densité minérale osseuse, la croissance osseuse et l'épaisseur de l'os trabéculaire sont influencées par cette voie. L'ostéoclastogenèse est provoquée par la signalisation CD47/SIRP α qui implique la déphosphorylation de la myosine. De plus, SIRP α joue un rôle défavorable dans le fonctionnement des ostéoclastes. Dans le cas des fractures, on a également examiné le rôle de CD47 dans les lésions osseuses, avec une diminution de la formation la cal osseuse et une diminution de la prolifération des progéniteurs mésenchymateux en cas d'altération de cette voie **(Bhardwaj et al. 2025)**.

Et dans la situation de la transplantation de greffons par macrophages l'interaction CD47/SIRP α est essentielle. Lors de la transplantation cellulaire, la surexpression de CD47 diminue la réponse des cellules NK et la phagocytose à travers les macrophages **(Bhardwaj et al. 2025)**.

1.3. Implications physiopathologiques : Du microenvironnement tumoral à l'auto-immunité

1.3.1. Implication de SIRP α dans le développement et la progression tumorale

La protéine régulatrice du signal α (SIRP α), également connue sous le nom de CD172a, est un récepteur de surface essentiel qui se manifeste principalement sur les cellules myéloïdes et neurologiques. SIRP α , en tant que régulateur négatif des voies de signalisation PI3K et MAPK, assure une protection contre la prolifération cellulaire incontrôlée **(Takahashi, 2018a)**. Toutefois, dans plusieurs cancers (prostate, sein, foie), la régulation descendante de SIRP α est observée, ce qui active les voies oncogéniques en aval et favorise l'invasion tumorale. En même temps, l'interaction entre SIRP α et son ligand CD47 permet aux cellules cancéreuses d'échapper à la phagocytose **(McCracken et al., 2015)**. Grâce à cette double fonction - régulateur de signalisation et point de contrôle immunitaire - le blocage de l'axe CD47/SIRP α représente une stratégie thérapeutique prometteuse, notamment pour le traitement des tumeurs malignes telles que la leucémie myéloïde active **(Murata et al., 2014)**.

Tableau1.1.Le rôle de SIRP α dans différents types de cancer :(Takahashi, 2018b)

Type de Cancer	État de l'Expression	Mécanismes Moléculaires (Signalisation)	Conséquences Biologiques
Cancer du Sein	Altérée (diminuée dans les tissus tumoraux)	Suppression de la croissance indépendante de l'ancrage (observée dans les lignées Hs578T, MCF7).	Inhibition de la prolifération en milieu non solide.
Tumeurs Myéloïdes (ex: LAM, LMC)	Suppression importante (Downrégulation)	• Phosphorylation de ERK et Akt. - Inactivation de GSK-3β (par phosphorylation sur Ser9). - Induction de la β-caténine.	• Survie cellulaire aberrante. - Prolifération incontrôlée • Résistance accrue aux médicaments.
Carcinome Hépatocellulaire	Diminuée (SIRP α 1)	• Phosphorylation tyrosine de SIRPα1 (via EGF/HGF). - Association avec SHP-2. - Diminution de la phosphorylation d'ERK1.	• Réduction significative de la croissance cellulaire. • Diminution de la migration et de l'invasion.

1.3.2. Rôle SIRP α dans les maladies auto-immunes

Le rôle essentiel de SIRP α se manifeste dans différents domaines de la santé et de la maladie. On a prouvé qu'il contrôle des processus cruciaux dans diverses maladies auto-immunes (**Feng et al. 2023**).

1. 3.2.1. SIRP α dans la maladie de néphrite lupus

On a récemment observé que la protéine alpha régulatrice du signal (SIRP α) est très présente dans les podocytes et est cruciale pour maintenir sa fonction immunorégulatrice. Cependant, elle reste insaisissable et est l'une des principales cibles des complexes immunitaires dans la LN, qui partagent de nombreux éléments provenant des cellules immunitaires innées et des cellules immunitaires adaptatives. Dans cet article, nous mentionnons que SIRP α régule la sécrétion de l'antigène podocyte lors de l'activation spécifique des lymphocytes T en inhibant la phosphorylation de la tyrosine kinase de la rate (Syk) (**Qian et al. 2024a**).

Chez les podocytes, la protéine SIRP α est essentielle pour la structure et la fonction de filtration glomérulaire du diaphragme fendu (**Kurihara et al. 2010**).

En réponse à IFN- α , IFN- γ et IL-17 impliqués dans cette maladie, nous avons constaté une diminution des niveaux de SIRP α dans les podocytes issus de la LN, ce qui entraîne la

présentation de l'antigène des podocytes et déclenche la réponse immunitaire des lymphocytes T en phosphorylant la tyrosine kinase de la rate (Syk). Le knockout de SIRP α spécifique à la podocyte accentue les dommages rénaux et l'inflammation chez les souris lupus, tandis que l'entosplétinib inhibiteur de Syk (GS-9973) réduit efficacement la progression de la maladie rénale (Qian et al. 2024b).



Figure1. 4 Manifestation de peau des patients atteints lupus néphrite

1.3.2.2. SIRP α dans la maladie de Crohn

La protéine SIRP α (CD172a) joue un rôle important dans la régulation de la réponse immunitaire intestinale dans la maladie de Crohn. Une accumulation marquée de cellules dendritiques exprimant SIRP α a été observée dans la muqueuse intestinale inflammée ainsi que dans les ganglions lymphatiques mésentériques des patients. Ces cellules dendritiques SIRP α^+ présentent un phénotype fortement activé et sont capables de produire spontanément des cytokines pro-inflammatoires, notamment IL-1 β , TNF- α et IL-6, qui contribuent au maintien de l'inflammation chronique caractéristique de la maladie.

L'étude montre également que ces cellules dendritiques jouent un rôle clé dans la polarisation des lymphocytes T vers une réponse Th17, un sous-type de lymphocytes T auxiliaires impliqué dans la physiopathologie des maladies inflammatoires intestinales. En effet, les cellules dendritiques SIRP α^+ favorisent l'activation et l'expansion des lymphocytes T mémoire producteurs d'IL-17, amplifiant ainsi la réponse inflammatoire intestinale. De plus, les résultats expérimentaux indiquent que la modulation de l'interaction CD47–SIRP α par l'utilisation

d'une protéine de fusion CD47- Fc permet d'inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires par ces cellules dendritiques et de réduire leur capacité à induire des réponses Th17. Ces observations suggèrent que l'axe CD47/SIRP α joue un rôle central dans la régulation de l'immunité intestinale et dans la pathogenèse de la maladie de Crohn. Ainsi, le ciblage thérapeutique de cette voie de signalisation pourrait représenter une stratégie innovante pour limiter l'inflammation chronique et moduler les réponses immunitaires pathologiques associées à cette maladie inflammatoire intestinale (Baba et al. 2013).

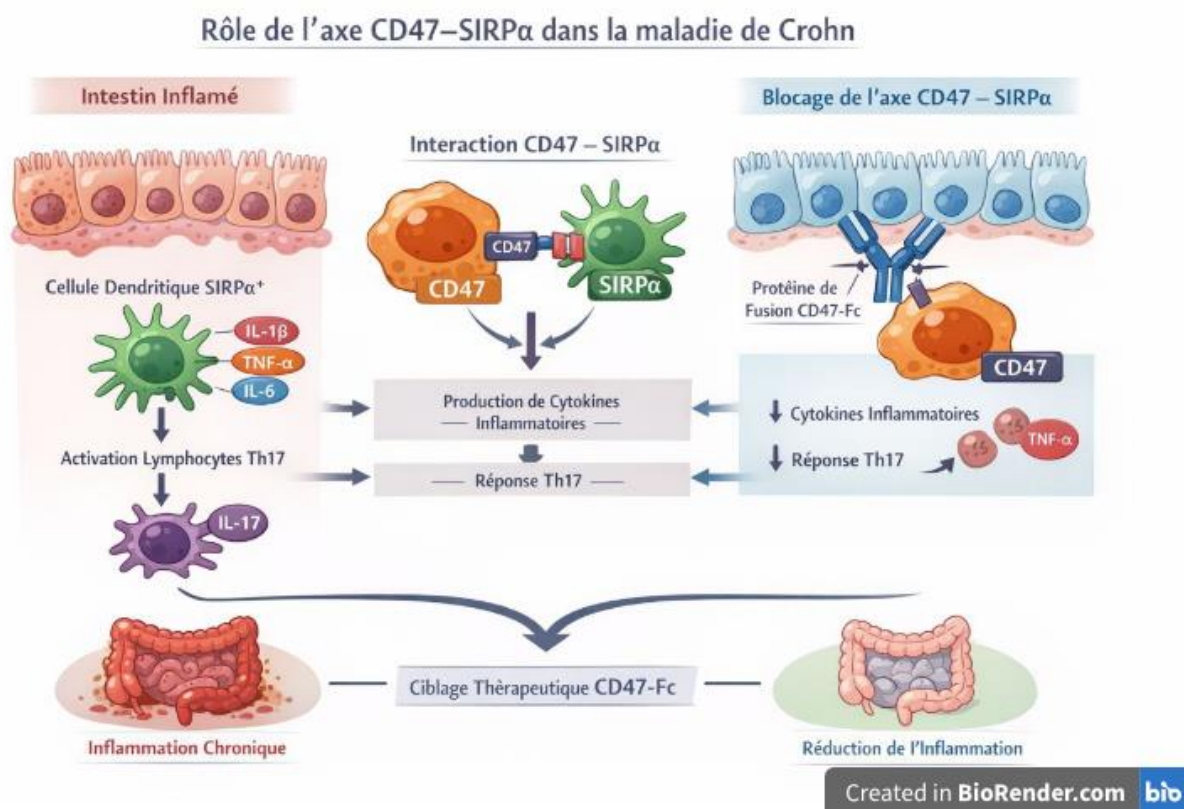


Figure1. 5Rôle de l'axe CD47- SIRP α dans la maladie de Crohn

1.4. Intérêt thérapeutique de la voie SIRP α /CD47

L'immunothérapie constitue aujourd'hui une approche majeure dans le traitement du cancer, car elle vise à mobiliser les mécanismes du système immunitaire afin d'éliminer les cellules tumorales. Parmi les stratégies les plus prometteuses figurent l'inhibition des points de contrôle immunitaire, notamment l'axe CD47/SIRP α , qui joue un rôle important dans l'évasion

immunitaire des cellules cancéreuses. Le blocage de cette interaction permet aux macrophages de reconnaître et de phagocyter les cellules tumorales (Dizman & Buchbinder, 2021, 2021).

Les cellules cancéreuses expriment souvent des niveaux élevés de la protéine CD47 à leur surface. Cette molécule interagit avec le récepteur SIRP α présent sur les cellules immunitaires myéloïdes, notamment les macrophages et les cellules dendritiques. Cette interaction déclenche des signaux inhibiteurs intracellulaires, impliquant notamment les phosphatases SHP-1 et SHP-2, qui réduisent l'activité phagocytaire des macrophages et limitent l'activation de la réponse immunitaire. De plus, elle peut perturber certaines voies essentielles impliquées dans la présentation antigénique et l'activation des lymphocytes T. Ainsi, ce mécanisme contribue à la survie et à la progression des cellules tumorales en empêchant leur élimination par le système immunitaire (Liu et al., 2020).

Le ciblage thérapeutique de l'axe CD47/SIRP α vise à interrompre ce signal inhibiteur connu sous le nom de signal « don't eat me ». Différentes approches ont été développées pour bloquer cette interaction, notamment les anticorps monoclonaux dirigés contre CD47, les anticorps ciblant SIRP α , ainsi que les protéines de fusion dérivées de SIRP α associées au fragment Fc des immunoglobulines. En neutralisant l'interaction entre CD47 et SIRP α , ces agents restaurent la capacité des macrophages à reconnaître et à phagocyter les cellules tumorales (Shin et al., 2025).

En plus de favoriser la phagocytose des cellules cancéreuses par les macrophages, ces traitements peuvent activer plusieurs mécanismes immunitaires anti tumoraux. Les anticorps anti-CD47 peuvent notamment déclencher des réponses dépendantes du fragment Fc, telles que la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), la phagocytose cellulaire dépendante des anticorps (ADCP) et la cytotoxicité dépendante du complément (CDC). Par ailleurs, certains anticorps anti-CD47 sont capables d'induire directement l'apoptose des cellules tumorales par des mécanismes indépendants des caspases. De plus, la phagocytose des cellules tumorales par les cellules dendritiques favorise la présentation des antigènes tumoraux aux lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺, ce qui conduit à l'activation d'une réponse immunitaire adaptative dirigée contre la tumeur (Murata et al., 2018b). Les thérapies ciblant cet axe peuvent également influencer la polarisation des macrophages dans le microenvironnement tumoral. De manière générale, les macrophages peuvent adopter différents phénotypes fonctionnels, dont les macrophages M1, associés à des effets pro-inflammatoires et anti tumoraux, et les macrophages M2, qui présentent des propriétés immunosuppressives favorisant la progression

tumorale. Cette polarisation est modulée par diverses cytokines, telles que l'interféron- γ (IFN- γ), l'interleukine-4 (IL-4) et l'IL-10. Des études récentes indiquent cependant que ces états ne sont pas strictement distincts, les macrophages pouvant adopter des phénotypes intermédiaires en fonction des signaux présents dans le microenvironnement tumoral. Dans ce contexte, le blocage de l'interaction CD47/SIRP α pourrait non seulement améliorer la phagocytose des cellules tumorales, mais aussi favoriser une polarisation des macrophages vers un phénotype M1, renforçant ainsi la réponse immunitaire anti tumorale.

Ainsi, en raison de son rôle central dans l'évasion immunitaire des cellules cancéreuses, l'axe CD47/SIRP α représente une cible thérapeutique particulièrement prometteuse pour le développement de nouvelles stratégies d'immunothérapie anticancéreuse.

1.5. Variations ponctuelles de type (SNPs)

1.5.1. Généralités sur les SNPs

Le polymorphisme simple nucléotidique (SNP) est la variation la plus fréquent de la séquence d'ADN entre les individus. Ces changements occasionnels sont des substitutions nucléotidiques peuvent être des transitions ou des transversions. Elles se trouvent dans tout le génome, avec une fréquence estimée à environ un SNP pour 1 000 paires de bases. Les SNP sont responsables de nombreux phénotypes humain et sont jouer un rôle dans la variabilité génétique entre les individus et dans l'évolution génétique, Certains traits familiaux courants, comme les cheveux frisés, peuvent également expliquer les différences interindividuelles dans réponse aux traitements médicamenteux. En fonction de leur localisation et de leur impact, les SNP peuvent provoquer une modification d'acide aminé dans la protéine (SNP non synonymes), ne pas modifier l'acide aminé codé (SNP synonymes) ou se localiser dans des régions non codantes du génome (Shastry 2009a).

1.5.2. Catégories des polymorphismes mono nucléotide

1.5.2.1. Les SNP non synonymes

Les SNP codants non synonymes (nsSNP) sont un ensemble de polymorphisme qui se trouvent dans les régions codantes des gènes et qui provoquent une modification des acides aminés dans les protéines correspondantes. Ces variations, ainsi que celles des régions régulatrices, sont considérées comme les plus significatives pour le phénotype. D'après plusieurs recherches récentes, il a été démontré que l'influence des variations alléliques d'acides aminés sur la

structure et la fonction des protéines peut être prédictible en analysant les alignements de séquences multiples et les structures 3D des protéines (Ramensky 2002).

1.5.2.2. Les SNP synonymes :

Lorsqu'un changement de nucléotide dans une région codante de l'ADN ne modifie pas les acides aminés codés de la protéine correspondante, on parle de mutation synonyme (Bailey, Alonso Morales, et Kassen 2021).

1.5.3. Influence des SNP sur la régulation de l'expression génique

Les récents exemples démontrent que les polymorphismes nucléotidiques (SNP), des différences au niveau d'un seul nucléotide dans l'ADN d'une personne, sont des facteurs de risque de diverses maladies complexes (Prokunina et Alarcón-Riquelme 2004), et ont un impact sur la réponse immunitaire des individus aux médicaments. Malgré leur absence d'effet sur les fonctions biologiques de la cellule, de nombreux SNP peuvent avoir un impact sur l'activité du promoteur, ce qui peut influencer l'expression génique, la conformation de l'ARN (ARNm) et sa stabilité, ainsi que la localisation subcellulaire des ARNm et/ou des protéines (Abdul Samad et al. 2016; Shastri 2009b).

1.5.5. Evolution récentes et limites de la biodétection des SNPs

Les polymorphismes mono nucléotidiques (SNPs) représentent la forme la plus fréquente de variation génétique dans le génome humain et jouent un rôle important dans la susceptibilité aux maladies, la réponse aux médicaments et la médecine personnalisée. Ces dernières années, des avancées significatives ont été réalisées dans le domaine de la bio détection des SNPs grâce au développement de bios senseurs hautement sensibles et spécifiques, notamment les bios senseurs électrochimiques, optiques et basés sur les nanotechnologies. Ces approches permettent une détection rapide, précise et parfois sans amplification des variations nucléotidiques. L'intégration de nanomatériaux, de stratégies d'amplification du signal et de nouvelles plateformes analytiques a considérablement amélioré les performances des systèmes de détection. Cependant, malgré ces progrès, plusieurs défis persistent, notamment la complexité des méthodes de détection, la nécessité d'une grande spécificité pour distinguer des mutations ponctuelles très proches, le coût élevé de certains dispositifs et les difficultés liées à leur application clinique à grande échelle. Ainsi, l'amélioration de la sensibilité, de la reproductibilité et de la simplicité d'utilisation des bio senseurs reste un objectif majeur pour le développement futur des technologies de bio détection des SNPs (Wu et al., 2023).

1.5.6 Analyse prédictive des effets fonctionnels des SNPs non synonymes

Les polymorphismes mono nucléotidiques non synonymes (nsSNPs) correspondent à des mutations ponctuelles dans la séquence codante d'un gène qui entraînent un changement d'acide aminé dans la protéine produite. Ces variations peuvent modifier la structure, la stabilité ou la fonction de la protéine et sont souvent associées à diverses maladies génétiques. L'identification des nsSNPs ayant un effet délétère constitue donc un objectif important en génétique médicale et en bioinformatique (Tian et al., 2007).

Plusieurs approches computationnelles ont été développées afin de prédire l'impact fonctionnel des nsSNPs. Ces méthodes utilisent généralement différentes sources d'information telles que la conservation évolutive des acides aminés, les propriétés physico-chimiques des résidus et les informations structurales des protéines. L'analyse de ces paramètres permet d'identifier les mutations susceptibles d'altérer la fonction protéique (Tian et al., 2007). Parmi les outils les plus utilisés pour la prédiction des effets fonctionnels des nsSNPs figurent SIFT, PolyPhen et PROVEAN, qui exploitent principalement les informations évolutives et structurales pour déterminer si une substitution d'acide aminé est tolérée ou délétère. Ces méthodes comparent la position mutée avec des séquences homologues afin d'évaluer l'importance fonctionnelle du résidu dans la protéine (Bromberg & Rost, 2007).

De nouvelles approches basées sur l'apprentissage automatique ont également été proposées pour améliorer la précision des prédictions. Par exemple, certains modèles utilisent les machines à vecteurs de support (Support Vector Machines, SVM) pour analyser différents types de caractéristiques liées aux mutations, notamment les différences entre acides aminés, la position de la mutation et l'environnement structural autour du site muté. Ces modèles permettent de classer les nsSNPs en mutations neutres ou délétères avec une précision élevée (Bromberg & Rost, 2007).

1.5.7. Polymorphisme génétiques de SIRP α

Les variations génétiques du récepteur immunitaire inhibiteur SIRP α (Signal Regulatory Protein Alpha) constituent un élément important de la régulation de l'immunité innée, notamment à travers son interaction avec le ligand CD47, qui transmet un signal inhibiteur empêchant la phagocytose des cellules autologues par les macrophages. Le domaine extracellulaire N-terminal de SIRP α , responsable de la reconnaissance de CD47, est caractérisé par un polymorphisme élevé dans la population humaine. Des analyses structurales et biochimiques ont identifié plusieurs variantes alléliques de SIRP α , notamment SIRP α V1 et

SIRP α V2, qui diffèrent par plusieurs substitutions d'acides aminés localisées principalement dans le domaine de type immunoglobuline impliqué dans la liaison au ligand. Toutefois, l'étude structurale réalisée par cristallographie aux rayons X a démontré que ces polymorphismes n'affectent pas significativement l'interface de liaison avec CD47, indiquant que l'interaction SIRP α –CD47 reste globalement conservée malgré la diversité génétique observée(**Hatherley et al., 2014**). Néanmoins, certaines études suggèrent que ces variations peuvent moduler l'intensité des réponses immunitaires. En particulier, il a été rapporté que le variant SIRP α V2 présente une capacité de liaison plus élevée au CD47 et est associé à une stimulation accrue de la prolifération des lymphocytes T CD4+, ce qui pourrait influencer la réponse immunitaire adaptative et contribuer à une augmentation du risque de rejet aigu dans le contexte de la transplantation d'organes(**Seidakhmetov et al., 2025**). Par ailleurs, des approches d'ingénierie protéique ont permis de générer des variantes modifiées de SIRP α présentant une affinité considérablement augmentée pour CD47. Ces variantes, obtenus par évolution dirigée du domaine de liaison, peuvent agir comme antagonistes fonctionnels du signal inhibiteur transmis par CD47 et ainsi favoriser la phagocytose des cellules tumorales par les macrophages, en particulier lorsqu'ils sont utilisés en combinaison avec des anticorps thérapeutiques ciblant les cellules cancéreuses(**Weiskopf et al., 2013**). L'ensemble de ces travaux met en évidence l'importance des variations génétiques de SIRP α dans la modulation des réponses immunitaires et souligne leur potentiel dans le développement de nouvelles stratégies immun thérapeutiques.

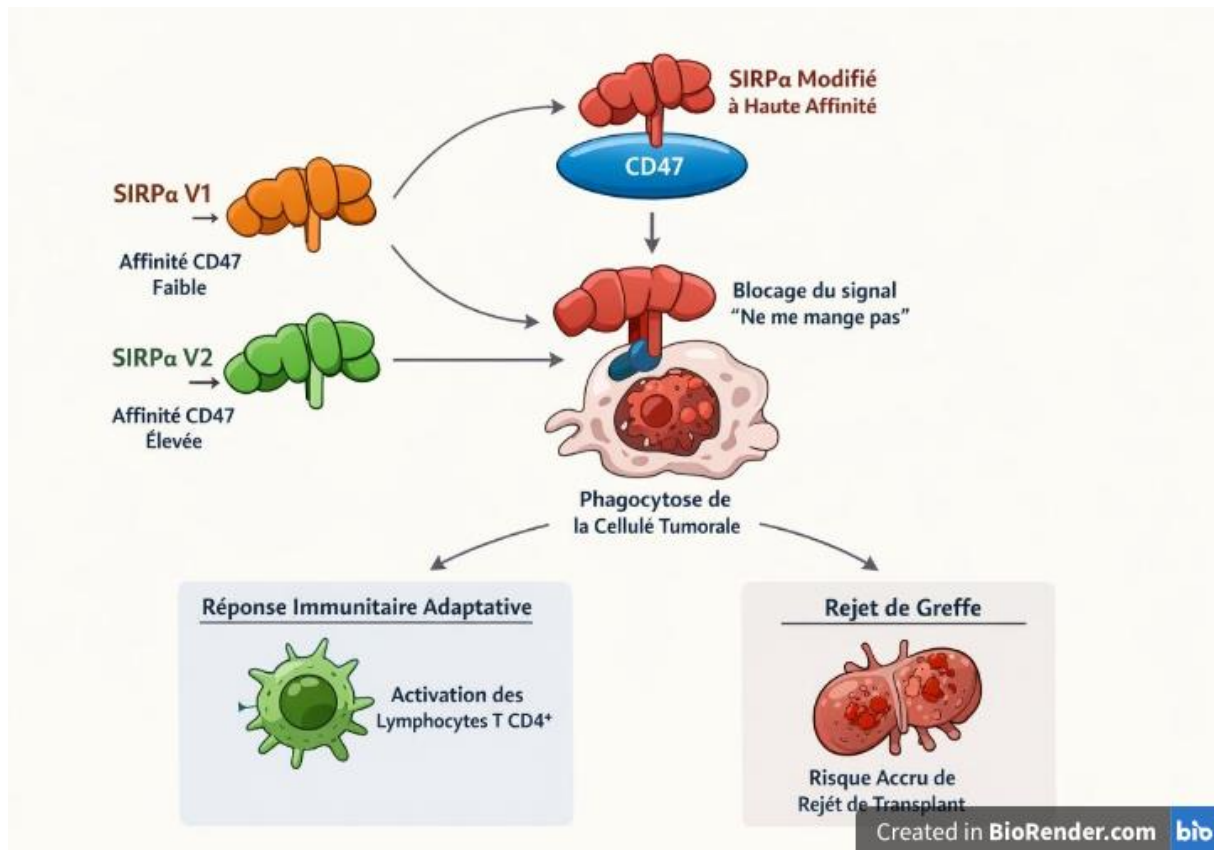


Figure1. 6 Représentation schématique des variantes de SIRPα (V1 et V2), de leur interaction avec CD47 et de leurs effets sur la phagocytose des cellules tumorales et la réponse immunitaire.

1.6. Approches bioinformatiques pour la prédiction phénotypique et structurale des variants

1.6.1. Définition

Les essais *in silico* correspondent à des approches expérimentales réalisées à l'aide de méthodes informatiques et de simulations numériques permettant d'analyser et de prédire le comportement des systèmes biologiques. Ces méthodes reposent sur l'utilisation d'outils de bioinformatique et de modélisation moléculaire pour étudier les interactions entre molécules biologiques, telles que les protéines, les acides nucléiques et les ligands. Grâce à ces approches computationnelles, il est possible d'explorer les mécanismes moléculaires impliqués dans différentes pathologies et d'identifier des cibles thérapeutiques potentielles, tout en réduisant le temps et les coûts associés aux expérimentations traditionnelles *in vitro* et *in vivo* (Nag et al., 2023).

Les approches *in silico* jouent également un rôle central dans la découverte et le développement de nouveaux médicaments. Elles permettent notamment d'effectuer des analyses de docking moléculaire, de modélisation structurale et de simulations de dynamique moléculaire afin d'évaluer l'affinité et la stabilité des interactions entre un ligand et sa cible biologique. Ces analyses permettent de prédire les modes de liaison moléculaire et d'identifier les composés susceptibles de présenter une activité biologique significative. Ainsi, les méthodes *in silico* constituent une étape préliminaire essentielle dans la sélection de candidats thérapeutiques avant leur validation expérimentale (Islam et al., 2024).

Par ailleurs, les études *in silico* permettent également d'évaluer les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques potentielles des composés étudiés. À l'aide d'outils informatiques spécialisés, il est possible de prédire différents paramètres tels que l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET). Ces analyses contribuent à optimiser la sélection des molécules présentant un profil pharmacologique favorable et à réduire les risques d'échec lors des phases ultérieures du développement pharmaceutique. En raison de leur rapidité, de leur faible coût et de leur capacité à traiter de grandes quantités de données biologiques, les approches *in silico* sont aujourd'hui largement utilisées en recherche biomédicale et pharmaceutique (Chang et al., 2022).

1.6.2. Etude de polymorphisme *in silico*

Les polymorphismes nucléotidiques simples (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) représentent la forme la plus fréquente de variation génétique dans le génome humain. Certaines de ces variations peuvent entraîner des substitutions d'acides aminés dans les protéines, appelées SNPs non synonymes, susceptibles d'affecter la structure, la stabilité ou la fonction des protéines. L'analyse de ces polymorphismes est donc essentielle pour comprendre leur implication dans diverses pathologies génétiques. Dans ce contexte, les approches *in silico* offrent une méthode rapide et efficace pour identifier et caractériser les mutations. (Alanazi et al., 2011).

Dans une démarche d'analyse *in silico*, la première étape consiste généralement à collecter les données relatives aux polymorphismes génétiques à partir de bases de données publiques telles que la base de données dbSNP du NCBI, qui regroupe un grand nombre de variantes génétiques identifiées dans différents génomes. Une fois les polymorphismes identifiés, plusieurs outils bioinformatiques peuvent être utilisés afin de prédire l'impact fonctionnel des substitutions d'acides aminés. Des algorithmes tels que SIFT, PolyPhen et Condel permettent notamment

d'évaluer si une mutation est susceptible d'altérer la fonction protéique en se basant sur des paramètres évolutifs et structuraux **(Nimir et al., 2017)**.

Par ailleurs, les approches *in silico* permettent également de prioriser les SNPs en fonction de leur impact potentiel sur la structure et la fonction des protéines. Grâce à différents outils bioinformatiques, il est possible d'analyser plusieurs paramètres biologiques tels que la conservation évolutive des acides aminés, la stabilité protéique et les modifications structurales induites par les mutations. Ces analyses sont particulièrement importantes dans le contexte des données génomiques à grande échelle générées par les technologies modernes de séquençage, car elles facilitent l'identification des variantes les plus susceptibles d'avoir un effet fonctionnel significatif **(Miyano et al., 2024)**.

Ainsi, l'intégration des résultats provenant de plusieurs outils bioinformatiques constitue une étape essentielle pour améliorer la précision des prédictions obtenues lors de l'analyse des polymorphismes *in silico*. Chaque algorithme reposant sur des principes méthodologiques différents, la combinaison de plusieurs approches permet de distinguer plus efficacement les variantes neutres des mutations potentiellement délétères. Cette stratégie contribue à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires associés aux variations génétiques et facilite l'identification des mutations pertinentes pour des études expérimentales ultérieures **(Hidayat et al., 2024)**.

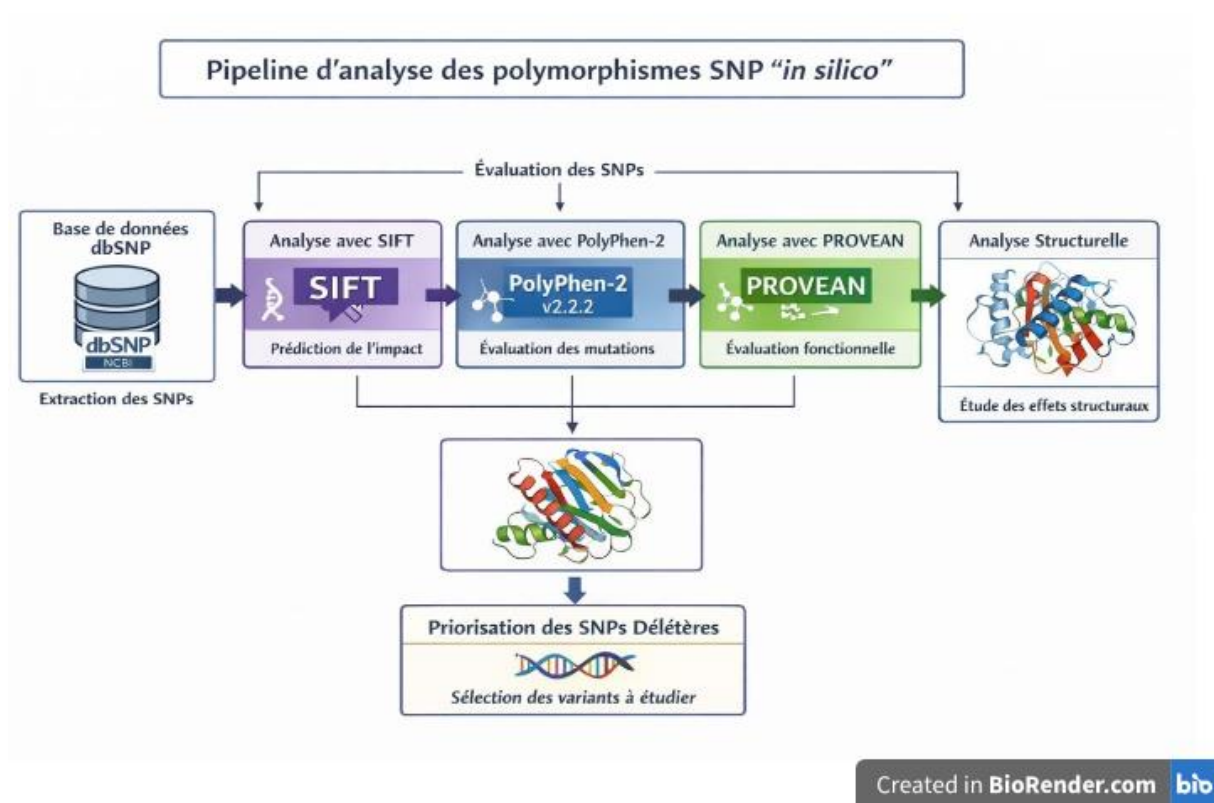


Figure1. 7 Pipeline d'analyse des polymorphismes in silico

1.7. Modification post traductionnelle

1.7.1. Généralités

Les modifications post-traductionnelles (Post-Translational Modifications, PTMs) correspondent à des modifications chimiques qui surviennent au niveau des protéines après leur synthèse au cours du processus de traduction. Ces modifications impliquent généralement la formation ou la rupture de liaisons covalentes au niveau du squelette protéique ou des chaînes latérales des acides aminés, ce qui contribue à augmenter la diversité structurale et fonctionnelle des protéines dans les systèmes biologiques. Plus de 650 types de modifications protéiques ont été identifiés, incluant notamment la phosphorylation, l'ubiquitination, la glycosylation et la méthylation, qui jouent un rôle majeur dans la régulation des fonctions biologiques (Zhong et al., 2023)

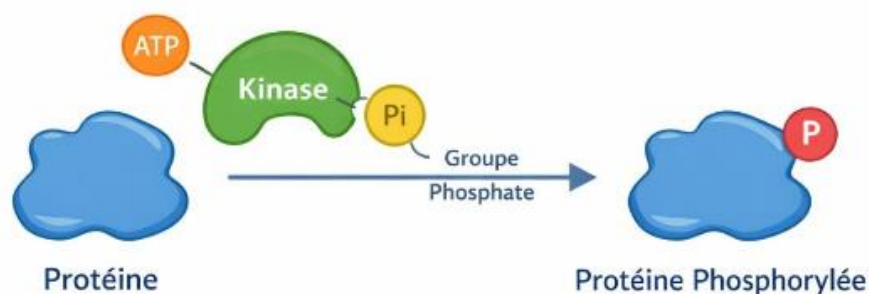
De plus, ces modifications se caractérisent souvent par l'ajout de groupements chimiques spécifiques ou de molécules plus complexes sur certains résidus d'acides aminés. Par exemple,

la phosphorylation implique l'ajout d'un groupement phosphate, tandis que la glycosylation correspond à l'attachement de chaînes glucidiques, et l'ubiquitination à la liaison de petites protéines comme l'ubiquitine. Ces transformations structurales influencent directement la conformation, la stabilité et l'activité fonctionnelle des protéines dans les cellules (**Schofield et al., 2024**) Par ailleurs, les modifications post-traductionnelles constituent un mécanisme essentiel de régulation des protéines dans différents processus cellulaires. Certaines modifications, telles que la phosphorylation, la palmitoylation ou la glutathionylation, peuvent moduler l'activité de protéines spécifiques et participer à la régulation de nombreuses fonctions biologiques. Dans certains tissus, notamment les cellules cardiaques, ces modifications jouent un rôle important dans la régulation des protéines membranaires impliquées dans la signalisation cellulaire et le contrôle de l'activité ionique, soulignant ainsi leur importance dans la régulation physiologique (**Murphy & Patterson, 2012**).

1.7.2. Phosphorylation

La phosphorylation est une modification post-traductionnelle cruciale, qui intervient après la synthèse des protéines. Elle consiste en l'ajout d'un groupe phosphate, provenant de l'ATP, sur certains résidus d'acides aminés, principalement la sérine, la thréonine et la tyrosine. Plus rarement, ce mécanisme peut toucher d'autres acides aminés tels que l'histidine, la cystéine, la lysine ou l'arginine. Cette simple modification entraîne un changement de la charge électrique et de la conformation de la protéine, modifiant ainsi son comportement et son rôle dans les voies de signalisation intracellulaire (**Beltrao et al., 2012**). Les études à grande échelle ont révélé l'existence d'un nombre considérable de sites de phosphorylation dans les protéines de diverses espèces eucaryotes. Certains de ces sites sont conservés dans des régions fonctionnelles spécifiques, appelées « hot spots », ce qui suggère leur rôle dans la régulation de l'activité protéique et dans les interactions protéine-protéine. Toutefois, toutes les phosphorylations ne possèdent pas nécessairement une fonction biologique majeure, et seule une fraction des sites identifiés semble réellement impliquée dans la régulation cellulaire.

Ainsi, la phosphorylation illustre comment les modifications post-traductionnelles permettent aux cellules d'adapter dynamiquement l'activité des protéines en réponse à des stimuli physiologiques ou environnementaux, contribuant au contrôle fin de nombreux processus cellulaires (**Tang et al., 2023**).



Created in BioRender.com 

Figure1. 8 Schéma illustratif de la phosphorylation comme modification post-traductionnelle.

1.8. Modélisation moléculaire

1.8.1. Définition

La modélisation moléculaire représente une approche efficace pour étudier la structure tridimensionnelle des macromolécules biologiques (Forster 2002). Grâce aux avancées de la chimie computationnelle et à la facilité d'accès à des ordinateurs plus performants, la modélisation moléculaire permet aux chercheurs de disposer de données cohérentes et d'expliquer les comportements chimiques ou biologiques découverts. L'utilisation de ces techniques simplifie la création de modèles prédictifs, qui sont indispensables pour la conception assistée par ordinateur de médicaments et de matériaux (Profeta 2016).

Les techniques de modélisation moléculaire, telles que l'infographie, sont devenues essentielles dans les industries chimiques, pharmaceutiques, des polymères et de la biologie

structurale/biotechnologie au début des années 1900, grâce à l'évolution des méthodes empiriques, semi-empiriques et non empiriques (Profeta 2016).

1.8.2. Modélisation moléculaire du complexe SIRP α /CD47

La construction d'un modèle structural de la protéine CD47 de longueur complète en complexe avec la structure SIRP α -GST a été réalisée en utilisant les structures PDB 2JJS, 2WNG pour l'ectodomaine CD47, l'ectodomaine SIRP α et le domaine GST, respectivement. Le domaine transmembranaire de CD47 a été représenté à l'aide d'EVfold et situé dans l'environnement membranaire à l'aide du serveur PPM. La VDM a ensuite permis de localiser les ectodomaines de CD47 et SIRP α , ainsi que le domaine GST, sous la membrane. La structure PDB 2JJS a utilisé l'interface entre CD47 et SIRP α . L'intégration du segment peptidique de liaison dans le modèle structural a été réalisée avec MODELLER. Le modèle structural obtenu a été utilisé comme première confirmation pour les simulations moléculaires, où les principaux domaines protéiques sont traités comme corps rigide et les régions flexibles comme des chaînes de résidus (Steinkühler et al. 2019).

1.9 Stabilité et densité protéique et leur effet sur la fonction des protéines : gain ou perte de fonction

La stabilité et la compacité structurale des protéines constituent des déterminants essentiels du maintien de leur fonction biologique. La stabilité protéique, influencée notamment par les modifications post-traductionnelles, permet de préserver le repliement natif et de limiter la dégradation, tandis que la compacité reflète une organisation tridimensionnelle dense assurée par les interactions intramoléculaires (Lee et al., 2023). Ces deux paramètres sont étroitement interdépendants, une compacité adéquate contribuant directement à la stabilité thermodynamique de la protéine.

Toute altération de la stabilité ou de la compacité, qu'elle soit induite par des mutations ou des variations environnementales, peut perturber la structure tridimensionnelle et affecter la fonction biologique. Une diminution de la stabilité ou une perte de compacité entraîne généralement un mauvais repliement, favorisant la dénaturation, la dégradation protéolytique ou encore l'agrégation sous forme de polymères insolubles. Ces phénomènes sont associés à divers dysfonctionnements cellulaires et à des pathologies, notamment les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, caractérisée par la formation de fibrilles

amyloïdes riches en feuillets β issues de protéines initialement riches en hélices (**Tchiakam et al., 2025**).

Dans le cas des protéines enzymatiques, une stabilité réduite peut provoquer des modifications conformationnelles altérant l'intégrité du site actif, ce qui diminue leur affinité et leur spécificité vis-à-vis des ligands. Des conditions déstabilisantes, telles qu'un pH acide, peuvent accentuer ces changements structuraux et favoriser des transitions vers des états agrégés.

À l'inverse, une augmentation excessive de la stabilité ou une compaction anormale peut limiter la flexibilité structurale nécessaire à l'activité biologique, réduisant ainsi la capacité fonctionnelle de la protéine ou induisant de nouvelles interactions. Cette plasticité structurelle peut conduire soit à une perte de fonction, soit à un gain de fonction. Par ailleurs, une stabilité modérée peut offrir un avantage évolutif en permettant à la protéine d'explorer de nouvelles conformations et d'acquérir potentiellement de nouvelles fonctions (**Manav et al, 2024**).

1.10. Problématique

Comment certaines variations génétiques dans la protéine SIRP α peuvent-elles modifier son activité et influencer la résistance des cellules à la phagocytose ?

Certaines mutations dans le gène codant la protéine SIRP α peuvent influencer la structure et le fonctionnement de cette protéine. En effet, SIRP α est un récepteur exprimé principalement à la surface des macrophages et joue un rôle important dans la régulation de la phagocytose grâce à son interaction avec la protéine CD47 présente sur les cellules cibles. Cette interaction transmet un signal inhibiteur aux macrophages, empêchant ainsi l'élimination de certaines cellules et contribuant au maintien de l'équilibre immunitaire.

Cependant, certaines variations génétiques peuvent entraîner l'apparition de variantes hyperactifs de SIRP α capables de renforcer le signal inhibiteur transmis aux macrophages. Ces modifications pourraient provoquer des changements dans la structure tridimensionnelle ou dans l'activité fonctionnelle de la protéine, ce qui pourrait affecter son interaction avec CD47 et favoriser une résistance accrue à la phagocytose.

L'étude actuelle utilise des approches *in silico* afin d'identifier et de caractériser ces variations génétiques, ainsi que de prédire leur impact potentiel sur la structure et la fonction de SIRP α et sur les modifications post-traductionnelles possibles.

1.11. Objectif

Explorer et prédire *in silico* l'impact des variations génétiques (SNPs) potentiellement tolérées sur la protéine SIRP α , afin de caractériser les variants susceptibles de modifier son activité et d'influencer son interaction avec CD47. Cette étude vise également à analyser comment ces variations peuvent affecter la structure tridimensionnelle de la protéine, ses modifications post-traductionnelles et/ou sa fonction dans la modulation de la résistance à la phagocytose.

1.12. But

Identifier les SNPs tolérés susceptibles d'entraîner l'apparition de variants hyperactifs de SIRP α , capables de modifier son interaction avec CD47 et de moduler la résistance des cellules à la phagocytose, en évaluant leur impact potentiel sur la structure et/ou la fonction de la protéine.

MATERIEL ET METHODE

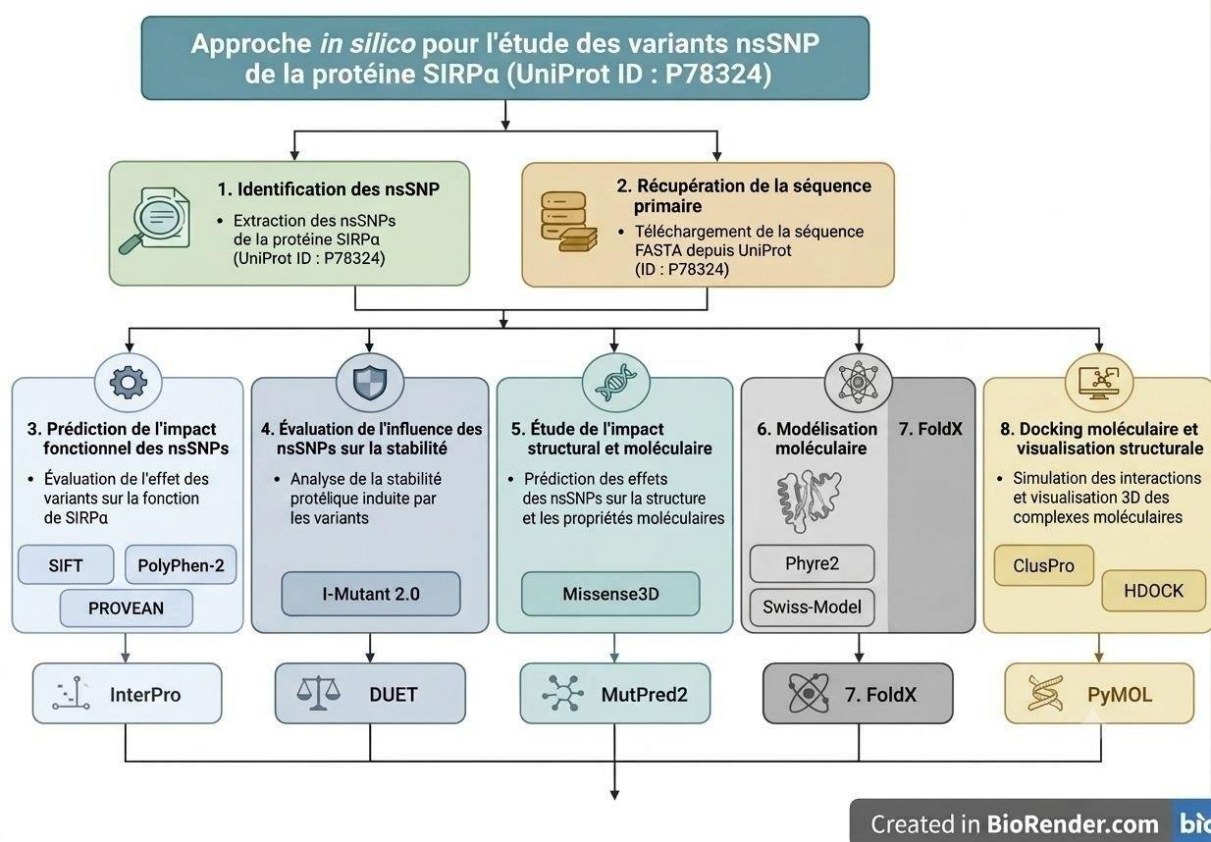


Figure2.1 Conception de l'étude

2.1 Exploration et analyse des données

Dans notre recherche, nous avons sélectionné plusieurs outils afin d'explorer les données. En premier lieu, nous avons utilisé la base de données du National Center For Biotechnology Information (NCBI), dbSNP(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) (Figure 2.2) pour extraire les SNPs associés au gèneSIRPα..

Ensuite, nous avons récupéré les séquences primaires de la protéine SIRPα.au format FASTA depuis la base de données UniProtKB (<https://www.uniprot.org/>), sous le numéro d'accession Uniprot : **P78324**. Après cela, ces informations ont été examinées en utilisant divers outils de bioinformatique.

MATERIEL ET METHODE

The screenshot shows the NCBI Gene database interface. At the top, the NIH logo and 'National Library of Medicine' are visible. A search bar contains 'sirp alpha'. Below the search bar, there are links for 'Create RSS', 'Save search', and 'Advanced'. The left sidebar lists various categories like 'Gene sources', 'Genomic', 'Categories', 'Alternatively spliced', 'Annotated genes', 'Non-coding', 'Protein-coding', 'Sequence content', 'CCDS', 'Ensembl', 'RefSeq', 'RefSeqGene', 'Status', and 'Current'. The main content area displays 'Search results' for 'sirp alpha'. It shows a list of items (1 to 20 of 97) with columns for Name/Gene ID, Description, Location, Aliases, and MIM. The first entry is 'Sirpa' (ID: 19261) for 'signal-regulatory protein alpha [Mus musculus (house mouse)]'. The second entry is 'SIRPA' (ID: 140885) for 'signal regulatory protein alpha [Homo sapiens (human)]'. The third entry is 'Sirpa' (ID: 25528) for 'signal-regulatory protein alpha [Rattus norvegicus (Norway rat)]'. On the right, there are sections for 'Filters: Manage Filters', 'Results by taxon', 'Find related data', and 'Search details'.

Figure2.2 Base de données gène de NCBI

The screenshot shows the UniProtKB database interface. At the top, the UniProt logo and navigation links (BLAST, Align, Peptide search, ID mapping, SPARQL) are visible. A search bar contains 'sirp alpha'. Below the search bar, there are links for 'Advanced', 'List', 'Search', and 'Help'. The left sidebar lists various categories like 'Status', 'Reviewed (Swiss-Prot)', 'Unreviewed (TrEMBL)', 'Popular organisms', 'Taxonomy', and 'Group by'. The main content area displays 'UniProtKB 830 results'. It shows a list of entries with columns for Entry, Entry Name, Protein Names, Gene Names, Organism, and Length. The first entry is 'P78324' for 'SHPS1_HUMAN' (Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1). The second entry is 'O46631' for 'SHPS1_BOVIN' (Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1). The third entry is 'P97797' for 'SHPS1_MOUSE' (Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1). The fourth entry is 'P97710' for 'SHPS1_RAT' (Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1).

Figure2.3 Base de données UniProtKB

2.2 Analyse prédictive des SNPs tolérés à l'aide de différents outils bioinformatique

De nombreux dispositifs numériques ont été employés pour anticiper les nsSNP (polymorphismes nucléotidiques non synonymes) qui pourraient être tolérés dans le gène α SIRP. L'évaluation de ces nsSNP a été effectuée grâce à des outils bioinformatiques

MATERIEL ET METHODE

in silico suivants : SIFT (Sorting Intolerant from Tolerant) (https://sift.bii.aster.edu.sg/www/SIFT_seq_submit2.html) PolyPhen v2 (Polymorphism Phenotyping v2) (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) ainsi que PROVEAN (Protein Variation Effect Analyzer) (http://provean.jcvi.org/provean_seq_report.php?jobid=931403343896935)

❖ SIFT :

Chaque substitution d'acide aminé peut avoir un impact sur la fonction des protéines. L'outil SIFT (Sorting Intolerant from Tolerant) est un logiciel qui s'appuie sur l'homologie des séquences pour prédire si un remplacement d'acides aminés tolérées ou délétères pour la fonction des protéines (Ng & Henikoff, 2001). Cela permet aux utilisateurs de prioriser les remplacements pour des recherches ultérieures. Nous avons démontré que SIFT peut faire la distinction entre les substitutions d'acides aminés neutres sur le plan fonctionnel et celles qui sont nuisibles, que ce soit dans les recherches de mutagenèse ou en ce qui concerne les polymorphismes chez les humains (Ng, 2003).

Lorsqu'une séquence protéique est fournie, SIFT identifie des protéines apparentées et effectue un alignement de ces protéines avec la séquence de référence. Sur la base des acides aminés présents à chaque position dans l'alignement, SIFT détermine la probabilité qu'un acide aminé à un endroit donné soit acceptable, en supposant que l'acide aminé le plus commun à cette position soit toléré (Ng, 2003). Un score SIFT représente une probabilité normalisée pour la présence du nouvel acide aminé à cette position, avec une échelle allant de 0 à 1. Par conséquent, une valeur inférieure à 0,05 est considérée comme délétère, tandis qu'une valeur supérieure à 0,05 est jugée tolérable (Sim et al., 2012). Dans cet outil, nous entrons la séquence de protéines au format « Fasta », puis nous précisons les modifications d'acides aminés, nous appuyons sur soumettre et nous obtenons les résultats.

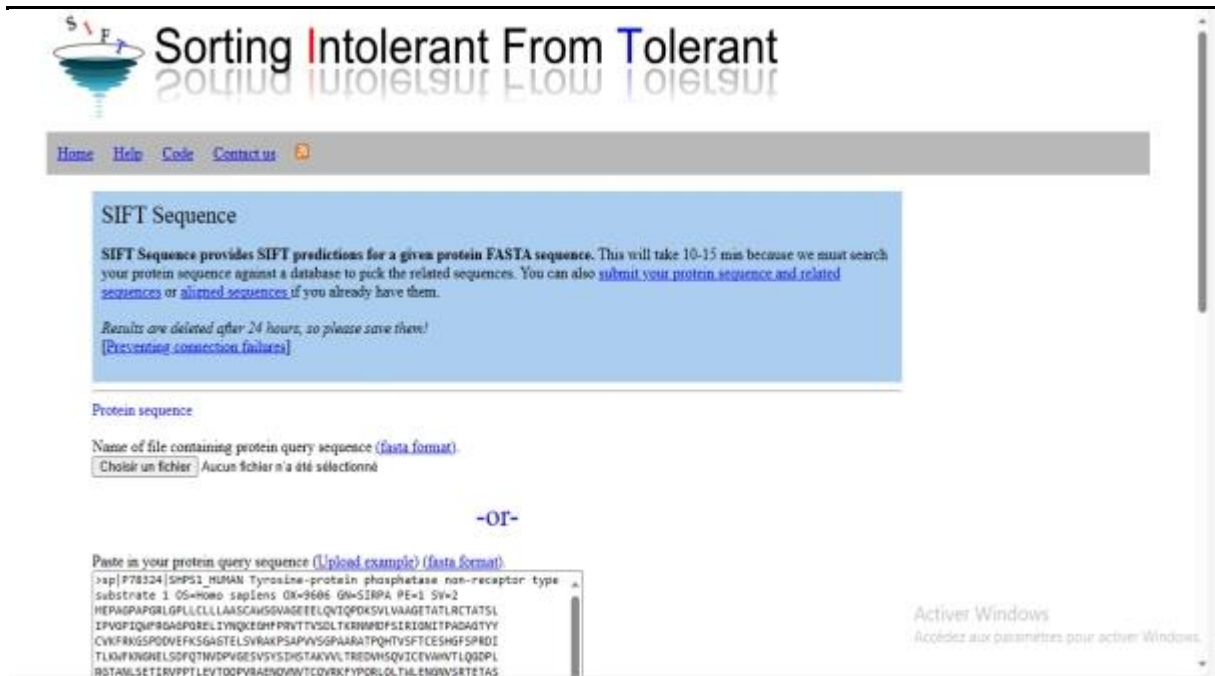


Figure2.4 Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT).

❖ PolyPhen-2 :

(Polymorphism Phenotyping v2), est un outil informatique qui prédit l'impact potentiel des substitutions d'acides aminés sur la stabilité et la fonction des protéines humaines, en se basant sur des éléments structurels et une analyse évolutive comparative. Ces prédictions réalisées de manière automatique revêtent une grande importance pour l'interprétation des larges bases de données de variantes génétiques rares, qui ont plusieurs applications dans la génétique humaine contemporaine (Adzhubei et al., 2013).

Les résultats sont classés comme « **PROBABLEMENT NOCIF** » (avec un score de **0,9 à 1**), « **POSSIBLE NOCIF** » (variant entre **0,4 et 0,8**) ou « **Bénin** » (Ajith & Subbiah, 2023). Pour procéder à une analyse, il convient de fournir la séquence protéique au format FASTA, d'indiquer la position de la substitution, ainsi que les acides aminés normaux et mutés, d'ajouter une option de description si souhaité, puis de cliquer sur "Soumettre" pour obtenir la prédiction et le score. Néanmoins, lorsqu'il s'agit d'examiner un grand nombre de SNP par le biais du service en ligne PolyPhen-2 en mode batch, il faut accéder à la page dédiée aux requêtes par lots, entrer les variantes dans la zone « Requête par lots » selon les formats acceptés ou charger un fichier texte (Adzhubei et al., 2013).

PolyPhen-2 prediction of functional effects of human nsSNPs

Home About Help Downloads Batch query WHESs.db

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.

Query Data

Protein or SNP Identifier

Protein sequence in FASTA format

Position

Substitution

Query description

Submit Query Clear Check Status

Display advanced query options

Software & web support: Ivan Adzhubey Web design & development: PolyPhen-2

Figure2.5 Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen-2).

❖ PROVEAN :

L'effet biologique d'un changement d'acide aminé sur une protéine a été évalué grâce au programme PROVEAN. Ce programme évalue l'impact tolérés des variations protéiques, telles que les insertions, les suppressions et les substitutions multiples d'acides aminés, à l'exception des changements d'acides aminés isolés. Le seuil par défaut des résultats générés par le programme est de **-2,5** ; de ce fait, les variations ayant un score **inférieur ou égal à -2,5** sont jugées comme **«délétère»**, tandis que celles dont le score **dépasse -2,5** sont classées comme **«neutres»**. (Ajith & Subbiah, 2023).

Dans cet outil, nous avons saisi la séquence dans la section " Step1", puis les modifications d'acides aminés dans la section " Step2". Après cela, nous avons sélectionné "soumettre" pour recevoir les résultats.

The screenshot shows the PROVEAN web interface. On the left, there is a sidebar with navigation links: 'About', 'FAQ', 'News', 'Download', 'Help', 'Contact Us', and 'Related Links'. The main content area is divided into two sections: 'Step 1. Enter a protein sequence' and 'Step 2. Enter amino acid variations'.

Step 1. Enter a protein sequence

This tool provides PROVEAN prediction for a protein sequence from any organisms.

- Input: A **protein sequence from any organism** and amino acid variants of interest. [See example.](#)
- Output: PROVEAN scores and predictions. [See example.](#)

Paste in your protein query sequence: [\[FASTA format\]](#)

```

TVTENKDGTYNWMSWLLVNVSAHRDDVKITCOVEHDGQPAVSKSHD
LKVSAHPKEQGSNT
AAENTGSGNERNIYIVGVVCTLLVALLMAALYLVRIOKKAOGSTSSTRL
HEPEKNAREI
TQDTNDITYADLNLPGKKPAPOAAEPNNHTEYASIQTSPOPASEDTLT
YADLDMVHLNR
TPKOPAPKPEPSFEYASVOVPRK
  
```

Example (upload example 1, upload example 2)

```

>p53 isoform a Homo sapiens
MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLEN...
.....
.....
KGQSTSRHKLMFKTEGPDSD
  
```

Or upload a file containing protein query sequence:

[Parcourir...](#) Aucun fichier sélectionné.

Step 2. Enter amino acid variations

Enter the variants of interest: [\[format\]](#)

E2DS

Example

```

P72R
G105C
K370del
H178_H179insPHP
L22_W23delinsQS
  
```

Figure2.6 .PROVEAN (Protein variation effect analyzer)

2.3 Détection des nsSNP dans les régions conservées des gènes :

InterPro est une base de données bioinformatique permettant la classification des protéines en familles ainsi que l'identification des domaines fonctionnels et des sites conservés présents dans les séquences protéiques.. L'utilisation d'InterPro facilite ainsi la prédiction des fonctions biologiques des protéines et l'analyse de leur organisation structurale(**Paysan-Lafosse et al., 2023**) .

Dans cette étude, la séquence protéique de SIRP α a été analysée à l'aide de l'outil InterPro disponible sur la plateforme de l'European Bioinformatics Institute. Cette analyse a permis d'identifier les domaines structuraux présents dans la protéine. SIRP α est une protéine membranaire appartenant à la superfamille des immunoglobulines et impliquée dans la régulation de la phagocytose et des réponses immunitaires. Les résultats obtenus ont permis de détecter les domaines caractéristiques de cette protéine, notamment les domaines de type immunoglobuline(**Blum et al., 2025**).

Pour cela, nous avons soumis notre séquence en format FASTA dans le logiciel, effectué une recherche et obtenu les domaines correspondants <https://www.ebi.ac.uk/interpro/>.

InterPro Classification des familles de protéines

Home Recherche Parcourir Résultats Notes de libération Télécharger Aide

Scannez vos séquences

```
>sp|P78324|SHPS1_HUMAN Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SIRPA PE=1 SV=2
MEPAGPAPGRIGPLLLCLLLAASCANSGVAGEEELQVIQFDKSVLVAAGETATLRCTATSL
IPVGP IQWFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTSVSLTRNNMDFSIRIGNITPADAGTYY
CVKFRKGSDDVEFKSGAGTELSVRAKFSAPVVSFPAAATPQHTVSFTCESHGFSPRDI
TLKWFNGNELSDFQTNVDFVGSVSYSIHSTAKVVLTREDVHSQVICEVAHVTLQGDPL
RGTANLSETIRVPPTLEVTTQQPVRAENQVNTCQVRKFYPQRLQLTWLENGNVSRTETAS
TVTENKDGTYNWMWLLVNVSAHRDDVKLTQVQVHDGQPAVSKSHDLKVSAPKQGSNT
AAENTGSMERNIYIVGVVCTLLVALLMAALYLVRIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREI
TQTDNDITYADLNLPKGGKPAQAAEPNNHTEYASIQTSPPASEDTLTYADLMVHLNR
TPKQPAKPEPSFSEYASVQVPRK
```

✓ Séquence Valable.

Choisissez le fichier Exemple de séquence de protéines

Figure 2.7. l'outil InterPro

2.4 Confirmation des nsSNP à forte impact fonctionnel

❖ I-Mutant2.0

I-Mutant2.0 est un outil bioinformatique utilisé pour prédire l'effet des mutations ponctuelles sur la stabilité des protéines. Il est basé sur des modèles d'apprentissage automatique de type Support Vector Machine (SVM), entraînés à partir de données expérimentales issues de la base ProTherm.

Cet outil permet d'estimer la variation de stabilité induite par une substitution d'acide aminé, soit à partir de la séquence protéique, soit à partir de la structure tridimensionnelle lorsque celle-ci est disponible. Il fournit à la fois une prédiction qualitative (augmentation ou diminution de la stabilité) et une estimation quantitative de la variation d'énergie libre ($\Delta\Delta G$). (Capriotti et al., 2005)

Ainsi, Les études ont été menées en recréant des milieux *in vitro* (pH 7, 25°C) et *in vivo* (pH 7,4, 37°C). D'après les critères de ce modèle, une valeur de $\Delta\Delta G$ supérieure à 0 kcal/mol indique une stabilisation, alors qu'une valeur inférieure à 0 kcal/mol signifie une déstabilisation de la protéine. <https://folding.biofold.org/i-mutant/i-mutant2.0.html>

Figure2.8. I-Mutant2.0

❖ DUET

(<http://biosig.unimelb.edu.au/duet/>)

Dans le cadre de l'analyse des variants de la protéine Signal Regulatory Protein Alpha, l'outil bioinformatique DUET a été utilisé afin de prédire l'impact des mutations ponctuelles sur la stabilité structurale de la protéine. DUET est un serveur web qui permet d'estimer les effets des substitutions d'acides aminés en se basant sur les informations structurales issues des fichiers de la Protein Data Bank (PDB). Cet outil est particulièrement utilisé dans les études de bioinformatique structurale pour évaluer l'influence des variants sur la structure et la fonction des protéines(Pires et al., 2014).

Dans cette étude, DUET a été utilisé pour analyser les différents variants identifiés dans la protéine SIRP α afin de déterminer leur effet potentiel sur la stabilité de la structure tridimensionnelle de la protéine. L'analyse de ces mutations permet d'identifier les variants susceptibles de modifier la conformation de la protéine et par conséquent d'influencer son rôle biologique dans les mécanismes de signalisation cellulaire(Trachtman et al., 2018).

Le fonctionnement de DUET repose sur la combinaison de deux méthodes de prédiction complémentaires, mCSM et SDM, qui analysent les interactions structurales et les propriétés des résidus d'acides aminés au sein de la protéine. Les résultats obtenus par ces deux approches sont ensuite intégrés à l'aide d'un modèle d'apprentissage automatique basé sur les Support Vector Machines (SVM), ce qui permet d'améliorer la précision des prédictions concernant l'effet des mutations sur la stabilité protéique(Pires et al., 2014).

MATERIEL ET METHODE

L'impact des mutations est évalué à travers la variation de l'énergie libre de repliement de la protéine, appelée $\Delta\Delta G$ (Delta Delta G). Ce paramètre correspond à la différence d'énergie libre entre la forme mutée et la forme native de la protéine. Une valeur $\Delta\Delta G$ négative indique généralement que la mutation entraîne une déstabilisation de la structure protéique, tandis qu'une valeur $\Delta\Delta G$ positive suggère une augmentation de la stabilité de la protéine. Ainsi, l'analyse de $\Delta\Delta G$ permet de mieux comprendre comment les mutations peuvent influencer la stabilité structurale et potentiellement la fonction biologique de SIRP α .

En raison de l'absence de certaines structures expérimentales, la plupart des variations ont été analysées à partir de modèles tridimensionnels obtenus via AlphaFold, permettant ainsi d'évaluer l'impact structural des substitutions d'acides aminés.

Figure 2.9. L'outil DUET

2.5 Impact des nsSNPs sur la stabilité structurale des protéines

❖ MutPred2 <http://mutpred.mutdb.org/>

Dans le cadre de cette étude, l'analyse des effets fonctionnels des mutations faux-sens a été réalisée à l'aide de l'outil bioinformatique MutPred2. Cet outil a été choisi pour sa capacité à prédire non seulement la pathogénicité des variants, mais également leurs conséquences moléculaires potentielles (Pejaver et al., 2020).

MATERIEL ET METHODE

Les séquences protéiques ont été récupérées au format FASTA à partir de bases de données de référence. Les mutations étudiées ont ensuite été introduites en spécifiant la position de l'acide aminé ainsi que la substitution correspondante. Ces données ont été soumises à MutPred2 afin de générer les séquences mutées et d'effectuer une analyse comparative avec la forme native de la protéine(Pejaver et al., 2017).

MutPred2 applique un modèle basé sur l'apprentissage automatique qui combine plusieurs réseaux neuronaux afin d'évaluer l'impact des mutations sur différentes caractéristiques structurales et fonctionnelles de la protéine. L'outil calcule un score global de pathogénicité compris entre 0 et 1, permettant de classer les variants comme potentiellement délétères ou bénins. En parallèle, il fournit des scores mécanistiques indiquant les altérations possibles des propriétés biologiques telles que la structure secondaire, les sites de liaison ou les modifications post-traductionnelles(Banerjee et al., 2025).

Enfin, les résultats obtenus ont été interprétés en considérant à la fois le score global et les mécanismes proposés, afin de mieux comprendre l'impact fonctionnel des mutations étudiées et leur implication potentielle dans la pathogénicité des protéines analysées.

Serveur web MutPred2

Le serveur web peut être utilisé pour des ensembles de données à petite échelle (au maximum 100 substitutions, sans séquence d'entrée de longueur > 35 000 résidus). Actuellement, ce site web propose MutPred2.0. Il nécessite des séquences protéiques au format FASTA, une liste de substitutions d'acides aminés dans les en-têtes FASTA correspondantes (séparées uniquement par des espaces), et une adresse e-mail valide. L'ID protéique ne peut pas contenir d'espaces, de points-virgules ou de virgules.

E-mail

Adresse e-mail

Informations sur la séquence et la substitution (format FASTA)

```
>P53_HUMAN R275H V143A
MEEPQSDPSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPLPSQAMDDLSPDIEQWFTEDPGP
DEAPRMPEAAAPPVAPAPAAPTPAAPAPAPAPSWPLSSVPSQKTYQGSYGFRGLHSGTAK
SVTCTYSPALNKMFCQAKTCTPVQLWVSTPPGTRVRAMAIKQSQHMTVEVRRCPHIE
RCSDSGLAPPQHURVEGNLRVEYLDNRNTRFRHSVVVVPYEPPEVGSDCCTIHYNYMNS
SCMGGMNRRPILITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENLRKKGEPHHELP
PGSTKRALPHNTSSSPOPKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPG
GSRHSSHLKSKKGQSTSRHKKLMFKTEGPDSD
```

OU

Télécharger le fichier FASTA

Choisir un fichier Aucun fichier n'a été sélectionné

Seuil de valeur p (optionnel)

0.05

Soumettre

Figure2.10.L'outil MutPred2

Tableau .2.1. Propriétés fonctionnelles évolutives des sites de modifications post-traductionnelles (PTM) de la protéine SIRP α analysées par MutPred2.

Protéine	Propriété MutPred2 (terme exact)	Type de résultat à traquer	Priorité	Justification biologique (vérifiée)	Interprétation gain de fonction
SIRP α	Phosphorylation	Gain of	HAUTE	Les ITIMs de la queue cytoplasmique de SIRP α doivent être phosphorylés pour recruter SHP-1/SHP-2. Mécanisme central documenté	ITIM plus facilement phosphorylé → recrutement SHP-1/SHP-2 plus efficace → renforcement de la cascade inhibitrice
SIRP α	PPI residue	Gain of / Altered	HAUTE	Interface extracellulaire avec CD47 (résidus clés: Gln67, Ala/Val57, Met102) et interface intracellulaire avec SHP-1/SHP-2	Renforcement des interactions aux deux extrémités de la signalisation
SIRP α	PPI hotspot	Gain of / Altered	HAUTE	Résidus critiques aux interfaces documentés par mutagenèse	Création de hotspots d'interaction renforcés
SIRP α	MoRF	Altered	HAUTE	Reconnaissance moléculaire au niveau du domaine IgV	Modification de la reconnaissance avec CD47 ou SHP-1/SHP-2
SIRP α	Ubiquitylation	Loss of	MOYENNE	SIRP α est dégradé par la voie protéasomale après trans-endocytose du complexe CD47-SIRP α	Résistance à la dégradation → persistance accrue de SIRP α à la surface
SIRP α	Intrinsic disorder	Loss of	MOYENNE	Structuration potentielle de la queue cytoplasmique contenant les ITIMs	ITIMs plus structurés → phosphorylation potentiellement facilitée
SIRP α	Cytoplasmic loop	Gain of / Loss of	MOYENNE	Topologie intracellulaire de la queue contenant les ITIMs	Modification de l'accessibilité de la queue cytoplasmique aux kinases
SIRP α	Stability	Gain of	MOYENNE	Stabilité globale de la protéine	Protéine plus stable → signalisation maintenue plus longtemps

❖ **Missence3D :** (<https://missense3d.bc.ic.ac.uk/missense3d/>)

Missense3D est un outil bioinformatique basé sur la structure tridimensionnelle permettant de prédire l'impact des mutations faux-sens sur les protéines en analysant les modifications structurales induites par une substitution d'acide aminé (**Hanna et al., 2024**). Il repose sur la comparaison entre la structure native et mutée à partir de coordonnées expérimentales ou de modèles prédits, tels que ceux d'AlphaFold ou PDB (**Khanna et al., 2021**). L'outil évalue plusieurs caractéristiques structurales, notamment les clashes stériques, la rupture de liaisons ou les modifications de cavités, afin de déterminer si la mutation est délétère ou neutre (**Hanna et al., 2024**). Une mutation classée comme « damaging » indique une altération de la structure tridimensionnelle pouvant affecter la stabilité ou les interactions de la protéine, conduisant

généralement à une perte de fonction. En revanche, une mutation « neutral » suggère une conservation de la structure et de la fonction. Dans le cas de SIRP α , ces prédictions permettent d'évaluer l'impact des variations sur la structure et les interactions protéiques, notamment avec CD47, et ainsi de mieux comprendre les conséquences fonctionnelles des mutations étudiées.

Figure2.11.L'outil Missense3D

2.6. Détection des peptides signal via SignalP 6.0 : <https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/>

SignalP 6.0 est un outil bioinformatique basé sur des modèles d'apprentissage profond permettant de prédire la présence de peptides signaux et leurs sites de clivage à partir de la séquence protéique (Teufel et al., 2022). Les peptides signaux, localisés en N-terminal, jouent un rôle essentiel dans l'adressage des protéines vers les voies de sécrétion ou les membranes cellulaires (Gutierrez Guarnizo et al., 2023). Dans cette étude, SignalP 6.0 a été utilisé afin d'évaluer l'impact des variants de SIRP α sur leur localisation cellulaire. En effet, toute altération du peptide signal peut entraîner une mauvaise localisation de la protéine, affectant ainsi son interaction avec CD47 et modulant la résistance à la phagocytose. L'analyse comparative entre la protéine sauvage et les variants permet ainsi d'identifier si les effets observés sont liés à une perturbation du ciblage cellulaire ou à des modifications structurales. L'interprétation des résultats repose principalement sur la présence ou l'absence du peptide signal (SP yes/no), le type de signal prédit, la position du site de clivage ainsi que les scores de probabilité. Une variation entre la forme sauvage et mutée, telle qu'une perte du signal peptide, un déplacement du site de clivage ou une diminution du score, suggère un effet délétère sur la

localisation et potentiellement sur la fonction de la protéine, tandis qu'une absence de changement indique que l'impact des mutations est plus probablement lié à des altérations structurales ou fonctionnelles plutôt qu'à un défaut d'adressage cellulaire (Camboni et al., 2025).

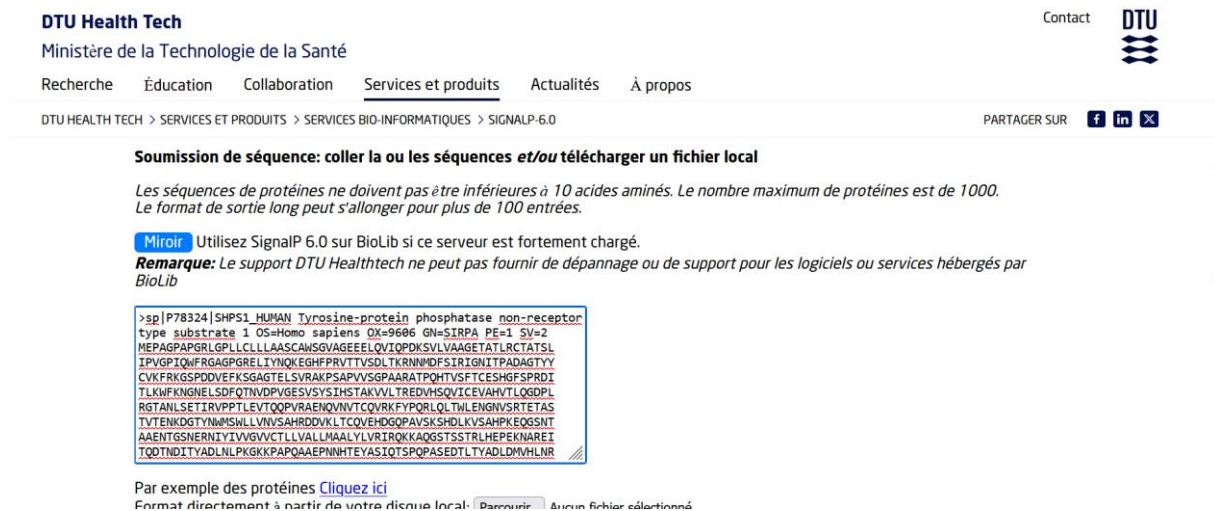


Figure 2.12. L'outil SignalP 6.0

2.7. Modélisation moléculaire

❖ Modélisation par Phyre2

Site web: <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2>

La prédiction de la structure tridimensionnelle de la protéine a été réalisée à l'aide du serveur Phyre2 (Protein Homology/analogy Recognition Engine V 2.0) (De Dios et al., 2022), qui permet la modélisation des protéines à partir de leur séquence en acides aminés.

Ce serveur utilise des méthodes de reconnaissance d'homologie distante basées sur les Hidden Markov Models (HMMs) afin d'identifier des protéines homologues possédant des structures connues dans la Protein Data Bank (PDB) (Kelley et al., 2015).

Après l'identification des structures homologues, celles-ci sont utilisées comme modèles (templates) pour construire la structure tridimensionnelle de la protéine cible par modélisation comparative (homology modeling) (Kelley et al., 2015).

En outre, Phyre2 fournit des informations relatives à la structure secondaire, aux domaines protéiques ainsi qu'à la qualité du modèle obtenu (Kelley et al., 2015;).

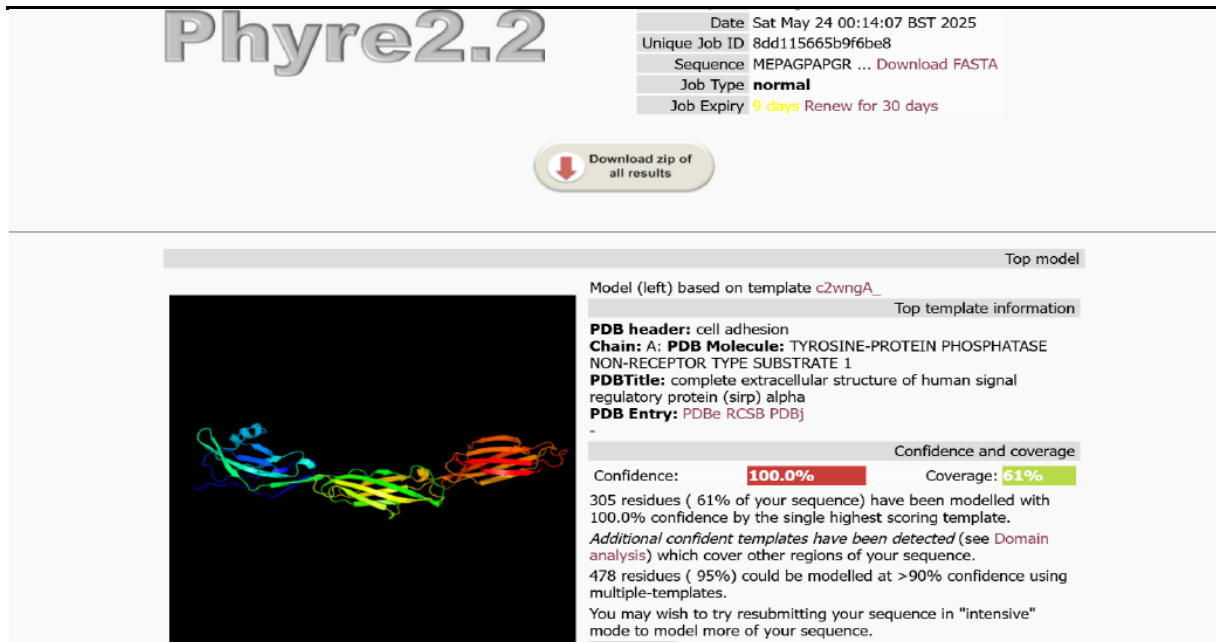


Figure2.13.Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par Phyre2

❖ Modélisation par SWISS-MODEL

SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org>) est une plateforme dédiée à la modélisation automatique et comparative des structures tridimensionnelles des protéines (3D)(Schwede, 2003). Elle a été pionnière en tant que serveur entièrement automatisé pour la modélisation par homologie et a bénéficié d'améliorations continues au cours des 25 dernières années. Récemment, ses capacités de modélisation se sont élargies pour inclure la création de modèles de complexes homo- et hétéromériques, basés sur les séquences d'acides aminés des partenaires impliqués dans l'interaction(Waterhouse et al., 2018). La modélisation de la structure de SIRP α a été réalisée par swiss model en se basant sur le modèle **2wng.1.A** (TYROSINE-PROTEIN PHOSPHATASE NON-RECEPTOR TYPE SUBSTRATE 1)

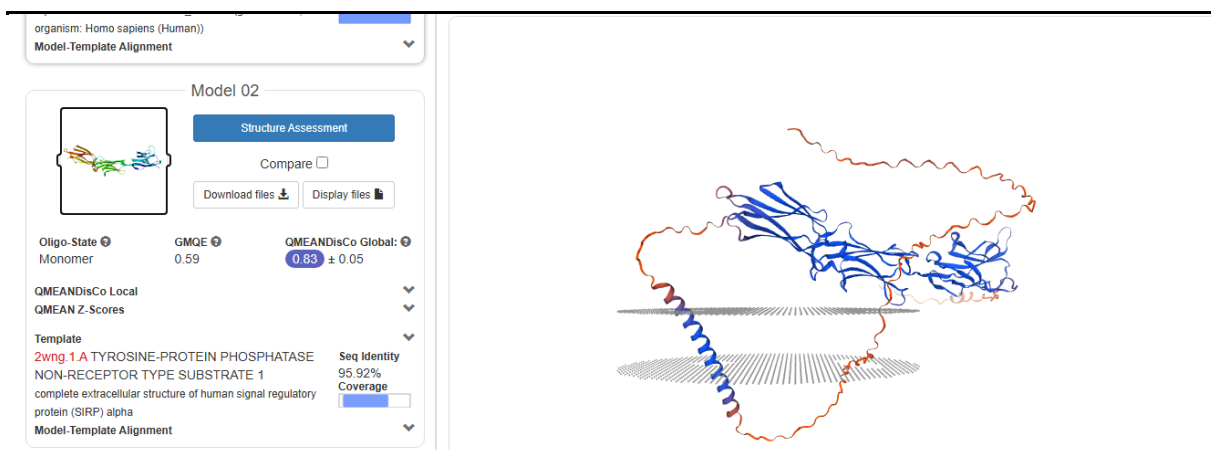


Figure 2.14. Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par SWISS-Model

2.8 : Analyse de la stabilité structurale et thermodynamique des variants protéiques à l'aide de FoldX

FoldX (<http://foldx.embl.de/>) est un logiciel de modélisation moléculaire reposant sur un champ de force empirique, conçu pour prédire rapidement l'impact des mutations sur la stabilité, le repliement et les interactions des protéines. À partir d'une structure tridimensionnelle, il estime l'énergie libre d'une macromolécule et permet d'évaluer les conséquences structurales et énergétiques induites par des substitutions d'acides aminés (Schymkowitz et al., 2005).

Le principe de FoldX consiste à analyser la structure d'une protéine afin de calculer la variation de l'énergie libre de repliement ($\Delta\Delta G$) provoquée par une mutation. Avant toute analyse, la structure native est réparée et optimisée à l'aide de la fonction RepairPDB, puis les mutations d'intérêt sont introduites et comparées à la protéine sauvage. Les valeurs de $\Delta\Delta G$ comprises entre $-0,5$ et $+0,5$ kcal/mol sont considérées comme ayant un effet neutre sur la stabilité de la protéine. Une valeur de $\Delta\Delta G \leq -0,5$ kcal/mol traduit une augmentation de la stabilité, correspondant à un renforcement des interactions intramoléculaires et à une diminution de l'énergie libre. À l'inverse, une valeur de $\Delta\Delta G \geq +0,5$ kcal/mol indique une déstabilisation de la structure protéique, liée à une augmentation de l'énergie libre de repliement (Schymkowitz et al., 2005).

La version FoldX 5.0 apporte plusieurs améliorations, notamment la prise en charge des structures contenant de l'ARN et l'intégration du module ParamX, qui permet la

paramétrisation de nouveaux ligands et de petites molécules non reconnus par les versions antérieures **(Delgado et al., 2019)**.

Cette version dispose également d'une interface graphique améliorée, compatible avec le logiciel YASARA, facilitant la visualisation, la manipulation des structures et l'analyse des effets des mutations. Ces améliorations permettent une étude plus complète des conséquences structurales et énergétiques des variations protéiques dans les analyses in silico **(Delgado et al., 2019)**.

YASARA Model (Yet Another Scientific Artificial Reality Application) est un logiciel de modélisation moléculaire dédié à la visualisation, à la manipulation et à l'analyse des structures biologiques en trois dimensions. Il offre de nombreuses fonctionnalités pour l'étude des interactions moléculaires, la gestion des ligands et l'optimisation structurale des protéines (Ozvoldik, Stockner et Krieger, 2023). Dans YASARA, chaque objet correspond généralement à un fichier PDB contenant un ensemble de molécules. La commande Repair, basée sur l'algorithme RepairPDB de FoldX, réalise une minimisation énergétique en optimisant les chaînes latérales des acides aminés afin de réduire l'énergie libre de la protéine et d'éliminer les contacts défavorables. La structure optimisée est ensuite superposée à la structure initiale. Cette étape est indispensable pour garantir la fiabilité des calculs énergétiques réalisés avec FoldX, en particulier lors de l'évaluation de l'impact des mutations sur la stabilité protéique à travers le calcul du $\Delta\Delta G$ (Van Durme et al., 2011).

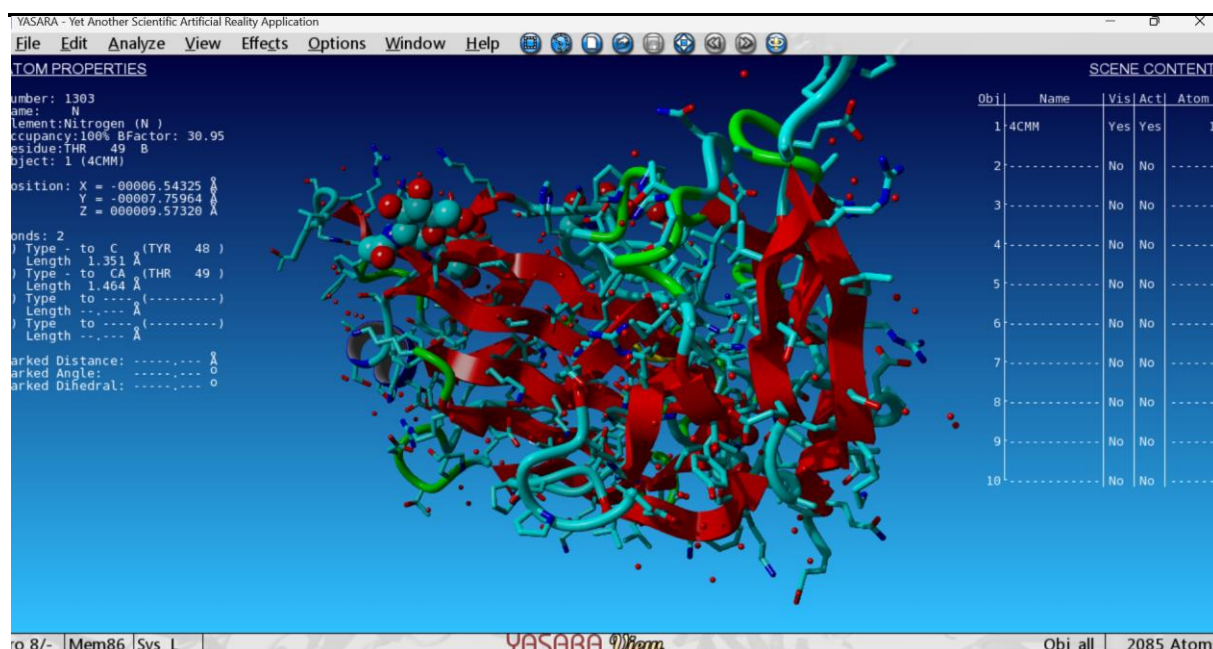


Figure 2.15. Visualisation tridimensionnelle de la structure protéique obtenue à l'aide du logiciel YASARA View.

2.9. Docking Moléculaire

❖ clusPro :

Le serveur ClusPro (<https://cluspro.org/>) est un outil populaire pour le docking entre protéines. Son interface conviviale facilite son utilisation et nécessite uniquement deux fichiers au format Protein Data Bank. ClusPro propose aussi des fonctionnalités avancées pour améliorer les recherches : élimination des zones protéiques sans structure, mise en place de contraintes d'attraction ou de répulsion, considération des distances entre les protéines, création d'homomultimères, analyse des données de diffusion des rayons X à petits angles (SAXS) et détection des sites de liaison à l'héparine. Selon le type de protéine, six fonctions énergétiques variées sont proposées. Le docking avec chaque configuration d'énergie produit dix modèles, caractérisés par les centres de clusters denses de structures dockées à faible énergie. Ce protocole explique comment utiliser les différentes options, construire des fichiers de contraintes auxiliaires, choisir les paramètres énergétiques et analyser les résultats. Même avec un grand nombre d'utilisateurs, les simulations s'achèvent en général en moins de 4 heures. (Kozakov et al., 2017).

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	Ligand
PDB ID: 2WNC	PDB ID: 8ZCA
Upload PDB	Upload PDB
Chains: A B	Chains: E F

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

[Advanced Options](#)

Figure2.16.Configuration du Docking sur ClusPro.

2.10. Visualisation Moléculaire

❖ PyMOL (<http://www.pymol.org>).

PyMOL est un logiciel de visualisation moléculaire largement utilisé en biologie structurale pour l'exploration et l'analyse des complexes protéiques en trois dimensions. Il permet d'examiner les structures obtenues après les études de docking moléculaire, d'identifier les résidus impliqués dans les interactions et d'évaluer les caractéristiques structurales des complexes formés (Molodenskiy et al., 2021).

MATERIEL ET METHODE

Dans cette étude, les fichiers PDB des complexes sélectionnés ont été importés dans PyMOL afin de visualiser les interactions entre SIRP α et CD47. Les structures ont ensuite été représentées sous différents modes d'affichage, notamment en bâtonnets (sticks), pour mettre en évidence les résidus localisés au niveau de l'interface d'interaction. Les acides aminés impliqués dans les liaisons ont été identifiés et annotés, puis les distances interatomiques ont été mesurées afin d'évaluer la proximité des résidus et la nature des interactions observées. Cette analyse a permis de comparer les complexes de type sauvage et mutants et d'apprécier l'impact potentiel des variations sur la stabilité de l'interaction protéine-protéine.

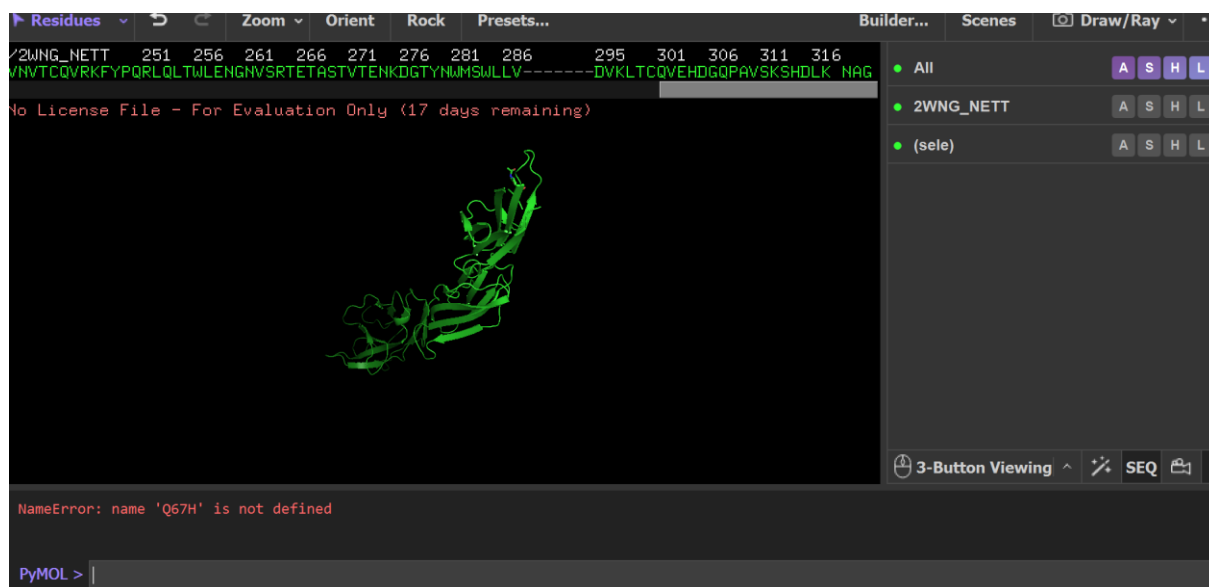


Figure2.17.La visualisation par PyMOL

Remarque :

Dans le cadre de la rédaction de ce mémoire, des outils d'intelligence artificielle générative, notamment ChatGPT, Gemini, Claude et Microsoft Copilot, ont été utilisés exclusivement pour la reformulation linguistique, l'amélioration du style rédactionnel et la correction grammaticale de certains passages. Toutes les informations scientifiques, données, résultats et interprétations présentés dans ce travail proviennent des articles scientifiques, bases de données et références bibliographiques consultés par l'auteure. Les outils d'intelligence artificielle n'ont pas été utilisés pour générer ou interpréter les résultats de l'étude.

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude avait pour objectif de caractériser, par une approche bioinformatique intégrée, les variants de la protéine SIRP α susceptibles de moduler son interaction avec CD47 et d'influencer ainsi la résistance à la phagocytose.

L'exploration des données génétiques a permis d'identifier un ensemble de polymorphismes nucléotidiques non synonymes (nsSNPs) localisés au niveau du gène codant SIRP α . Une série d'analyses prédictives a ensuite été réalisée afin d'évaluer leurs effets potentiels sur les propriétés structurales et fonctionnelles de la protéine. Les différentes approches utilisées ont permis de sélectionner les variants les plus pertinents, présentant un impact potentiel sur la stabilité protéique et sur l'affinité de liaison avec CD47.

La modélisation tridimensionnelle des protéines mutées ainsi que les études de docking moléculaire ont mis en évidence que certaines substitutions d'acides aminés peuvent entraîner des modifications des interactions moléculaires impliquées dans la reconnaissance de CD47. Ces changements pourraient influencer l'intensité du signal inhibiteur transmis aux cellules phagocytaires et contribuer ainsi à une diminution ou à une augmentation de la résistance à la phagocytose.

Parmi les variants étudiés, A57V s'est distingué comme le candidat le plus prometteur. Ce variant présente un effet stabilisant sur la protéine selon les analyses énergétiques, tout en induisant un remodelage des interactions à l'interface de liaison avec CD47, sans empêcher la formation du complexe. Ces résultats suggèrent qu'A57V pourrait moduler la fonction de SIRP α et constitue ainsi un excellent candidat pour des investigations expérimentales complémentaires.

Les résultats obtenus soulignent l'intérêt des approches *in silico* dans l'identification précoce des variants fonctionnels et dans la compréhension des mécanismes moléculaires régissant l'axe CD47–SIRP α . Ils constituent également une base pour de futures études expérimentales visant à valider l'effet biologique réel de ces mutations et leur implication potentielle dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant cette voie de signalisation.

En conclusion, cette étude a permis de mettre en évidence plusieurs variants de SIRP α susceptibles de modifier les caractéristiques structurales et les interactions moléculaires de la protéine. Parmi eux, A57V apparaît comme le SNP candidat le plus prometteur, justifiant la poursuite d'études fonctionnelles *in vitro* et *in vivo* afin de confirmer son impact sur l'interaction SIRP α –CD47 et son rôle potentiel dans la régulation de la phagocytose et le développement de nouvelles approches d'immunothérapie.

Perspectives :

Réaliser des simulations de dynamique moléculaire afin d'évaluer l'effet des mutations sur la flexibilité et la stabilité du complexe CD47–SIRP α dans des conditions plus proches de la réalité biologique.

Effectuer des études expérimentales *in vitro* pour valider l'impact des mutations identifiées sur l'expression, la structure et la fonction de SIRP α .

Évaluer l'effet des variants sélectionnés sur l'affinité de liaison entre CD47 et SIRP α à l'aide de techniques biophysiques appropriées.

Étudier les conséquences des mutations sur les voies de signalisation intracellulaires associées à SIRP α et sur la régulation de la phagocytose.

Explorer l'implication de ces variants dans différents types de cancers afin de mieux comprendre leur rôle potentiel dans les mécanismes d'échappement immunitaire.

Utiliser les données obtenues pour orienter le développement de nouvelles approches thérapeutiques ciblant l'axe CD47–SIRP α dans le cadre de l'immunothérapie anticancéreuse.

VI. BIBLIOGRAPHIE

VI. BIBLIOGRAPHIE

1. Abdul Samad, F., Suliman, B. A., Basha, S. H., Manivasagam, T., & Essa, M. M. (2016). A Comprehensive In Silico Analysis on the Structural and Functional Impact of SNPs in the Congenital Heart Defects Associated with NKX2-5 Gene—A Molecular Dynamic Simulation Approach. *PLOS ONE*, 11(5), e0153999. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153999>
2. Abello, N., Kerstjens, H. A. M., Postma, D. S., & Bischoff, R. (2009). Protein Tyrosine Nitration : Selectivity, Physicochemical and Biological Consequences, Denitration, and Proteomics Methods for the Identification of Tyrosine-Nitrated Proteins. *Journal of Proteome Research*, 8(7), 3222-3238. <https://doi.org/10.1021/pr900039c>
3. Ajith, A., & Subbiah, U. (2023). In silico screening of non-synonymous SNPs in human TUFT1 gene. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00551-4>
4. Alanazi, M., Abduljaleel, Z., Khan, W., Warsy, A. S., Elrobh, M., Khan, Z., Amri, A. A., & Bazzi, M. D. (2011). In Silico Analysis of Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) in Human β -Globin Gene. *PLoS ONE*, 6(10), e25876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025876>
5. Andrejeva, G., Capoccia, B. J., Hiebsch, R. R., Donio, M. J., Darwech, I. M., Puro, R. J., & Pereira, D. S. (2021). Novel SIRP α Antibodies That Induce Single-Agent Phagocytosis of Tumor Cells while Preserving T Cells. *The Journal of Immunology*, 206(4), 712-721. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2001019>
6. Baba, N., Van, V. Q., Wakahara, K., Rubio, M., Fortin, G., Panzini, B., Soucy, G., Wassef, R., Richard, C., Tamaz, R., Lahaie, R., Bernard, E.-J., Caussignac, Y., Leduc, R., Loughnarath, R., Bergeron, C., Racicot, M.-A., Bergeron, F., Panzini, M.-A., ... Sarfati, M. (2013). CD47 fusion protein targets CD172a⁺ cells in Crohn's disease and dampens the production of IL-1 β and TNF. *Journal of Experimental Medicine*, 210(6), 1251-1263. <https://doi.org/10.1084/jem.20122037>
7. Bailey, S. F., Alonso Morales, L. A., & Kassen, R. (2021). Effects of Synonymous Mutations beyond Codon Bias : The Evidence for Adaptive Synonymous Substitutions from Microbial Evolution Experiments. *Genome Biology and Evolution*, 13(9), evab141. <https://doi.org/10.1093/gbe/evab141>

BIBLIOGRAPHIE

8. Banerjee, A., Bogetti, A., & Bahar, I. (2025). *Accurate Identification and Mechanistic Evaluation of Pathogenic Missense Variants with Rhapsody-2*. Bioinformatics. <https://doi.org/10.1101/2025.02.17.638727>
9. Barclay, A. N. (2009). Signal regulatory protein alpha (SIRP α)/CD47 interaction and function. *Current Opinion in Immunology*, 21(1), 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2009.01.008>
10. Barclay, A. N., & Van Den Berg, T. K. (2014a). The Interaction Between Signal Regulatory Protein Alpha (SIRP α) and CD47 : Structure, Function, and Therapeutic Target. *Annual Review of Immunology*, 32(1), 25-50. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120142>
11. Batthyány, C., Bartesaghi, S., Mastrogiovanni, M., Lima, A., Demicheli, V., & Radi, R. (2017). Tyrosine-Nitrated Proteins : Proteomic and Bioanalytical Aspects. *Antioxidants & Redox Signaling*, 26(7), 313-328. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6787>
12. Begara-Morales, J. C., Chaki, M., Sánchez-Calvo, B., Mata-Pérez, C., Leterrier, M., Palma, J. M., Barroso, J. B., & Corpas, F. J. (2013). Protein tyrosine nitration in pea roots during development and senescence. *Journal of Experimental Botany*, 64(4), 1121-1134. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert006>
13. Beltrao, P., Albanèse, V., Kenner, L. R., Swaney, D. L., Burlingame, A., Villén, J., Lim, W. A., Fraser, J. S., Frydman, J., & Krogan, N. J. (2012). Systematic Functional Prioritization of Protein Posttranslational Modifications. *Cell*, 150(2), 413-425. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.036>
14. Bhardwaj, N., Chandra, H., Singh, A., & Babu, R. (2025). CD47/SIRP α pathways : Functional diversity and molecular mechanisms. *World Journal of Biological Chemistry*, 16(3). <https://doi.org/10.4331/wjbc.v16.i3.108045>
15. 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>
16. Bromberg, Y., & Rost, B. (2007). SNAP : Predict effect of non-synonymous polymorphisms on function. *Nucleic Acids Research*, 35(11), 3823-3835. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm238>

BIBLIOGRAPHIE

17. 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>
18. Camboni, G., Cartwright, J., & Grogan, G. (2025). Identification of improved signal peptides for heterologous expression in *Saccharomyces* using a screen that exploits *Gaussia luciferase*. *Scientific Reports*, 15(1), 23962. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-09669-6>
19. 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>
20. Chang, Y., Hawkins, B. A., Du, J. J., Groundwater, P. W., Hibbs, D. E., & Lai, F. (2022). A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010049>
21. De Dios, R., Santero, E., & Reyes- Ramírez, F. (2022). The functional differences between paralogous regulators define the control of the general stress response in *Sphingopyxis granuli* TFA. *Environmental Microbiology*, 24(4), 1918-1931. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15907>
22. De Silva, A. R. I., & Page, R. C. (2023). Ubiquitination detection techniques. *Experimental Biology and Medicine*, 248(15), 1333-1346. <https://doi.org/10.1177/15353702231191186>
23. Delgado, J., Radusky, L. G., Cianferoni, D., & Serrano, L. (2019a). 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>
24. Delgado, J., Radusky, L. G., Cianferoni, D., & Serrano, L. (2019b). 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>
25. Dizman, N., & Buchbinder, E. I. (2021). Cancer Therapy Targeting CD47/SIRP α . *Cancers*, 13(24), 6229. <https://doi.org/10.3390/cancers13246229>
26. Dos Santos Nunes, M. K., Silva, A. S., De Queiroga Evangelista, I. W., Filho, J. M., Gomes, C. N. A. P., Do Nascimento, R. A. F., Luna, R. C. P., De Carvalho Costa, M. J., De Oliveira, N. F. P., & Persuhn, D. C. (2017). Hypermethylation in the promoter of the MTHFR gene is associated with diabetic complications and biochemical indicators. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 9(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s13098-017-0284-3>

BIBLIOGRAPHIE

-
27. Feng, Y., Huang, C., Wang, Y., & Chen, J. (2023). SIRP α : A key player in innate immunity. *European Journal of Immunology*, 53(11), 2350375. <https://doi.org/10.1002/eji.202350375>
28. Forster, M. J. (2002). Molecular modelling in structural biology. *Micron*, 33(4), 365-384. [https://doi.org/10.1016/S0968-4328\(01\)00035-X](https://doi.org/10.1016/S0968-4328(01)00035-X)
29. Fujioka, Y., Matozaki, T., Noguchi, T., Iwamatsu, A., Yamao, T., Takahashi, N., Tsuda, M., Takada, T., & Kasuga, M. (1996). A Novel Membrane Glycoprotein, SHPS-1, That Binds the SH2-Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatase SHP-2 in Response to Mitogens and Cell Adhesion. *Molecular and Cellular Biology*, 16(12), 6887-6899. <https://doi.org/10.1128/MCB.16.12.6887>
30. Gutierrez Guarnizo, S. A., Kellogg, M. K., Miller, S. C., Tikhonova, E. B., Karamysheva, Z. N., & Karamyshev, A. L. (2023). Pathogenic signal peptide variants in the human genome. *NAR Genomics and Bioinformatics*, 5(4), lqad093. <https://doi.org/10.1093/nargab/lqad093>
31. Hajdu, S. I. (2011). A note from history : Landmarks in history of cancer, part 1. *Cancer*, 117(5), 1097-1102. <https://doi.org/10.1002/cncr.25553>
32. Hanna, G., Khanna, T., Islam, S. A., David, A., & Sternberg, M. J. E. (2024). Missense3D-TM: Predicting the Effect of Missense Variants in Helical Transmembrane Protein Regions Using 3D Protein Structures. *Journal of Molecular Biology*, 436(2), 168374. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2023.168374>
33. Hatherley, D., Graham, S. C., Harlos, K., Stuart, D. I., & Barclay, A. N. (2009). Structure of Signal-regulatory Protein α . *Journal of Biological Chemistry*, 284(39), 26613-26619. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.017566>
34. Hatherley, D., Lea, S. M., Johnson, S., & Barclay, A. N. (2014). Polymorphisms in the Human Inhibitory Signal-regulatory Protein α Do Not Affect Binding to Its Ligand CD47. *Journal of Biological Chemistry*, 289(14), 10024-10028. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.550558>
35. Hess, D. T., & Stamler, J. S. (2012). Regulation by S-Nitrosylation of Protein Post-translational Modification. *Journal of Biological Chemistry*, 287(7), 4411-4418. <https://doi.org/10.1074/jbc.R111.285742>
36. Hidayat, T., Irwanto, I., Rohman, A., Muhyiddin, A. A., Putri, S. Na., Kurniawan, D. B., Syaban, M. Fr., Firdaus, T., Rahman, M. A., & Utamayasa, I. Ka. (2024). Comprehensive in silico analysis of single nucleotide polymorphism and molecular

-
- dynamics simulation of human GATA6 protein in ventricular septal defect. *Narra J*, 4(3), e1344. <https://doi.org/10.52225/narra.v4i3.1344>
37. Huang, K., Liu, Y., Wen, S., Zhao, Y., Ding, H., Liu, H., & Kong, D.-X. (2023). Binding Mechanism of CD47 with SIRP α Variants and Its Antibody : Elucidated by Molecular Dynamics Simulations. *Molecules*, 28(12), 4610. <https://doi.org/10.3390/molecules28124610>
38. Ischiropoulos, H. (2024). Protein tyrosine nitration. *Redox Biochemistry and Chemistry*, 8, 100030. <https://doi.org/10.1016/j.rbc.2024.100030>
39. Islam, Md. A., Hossain, Md. S., Hasnat, S., Shuvo, M. H., Akter, S., Maria, M. A., Tahcin, A., Hossain, Md. A., & Hoque, M. N. (2024). In-silico study unveils potential phytocompounds in *Andrographis paniculata* against E6 protein of the high-risk HPV-16 subtype for cervical cancer therapy. *Scientific Reports*, 14(1), 17182. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-65112-2>
40. Jia, X., Yan, B., Tian, X., Liu, Q., Jin, J., Shi, J., & Hou, Y. (2021a). CD47/SIRP α pathway mediates cancer immune escape and immunotherapy. *International Journal of Biological Sciences*, 17(13), 3281-3287. <https://doi.org/10.7150/ijbs.60782>
41. Jia, X., Yan, B., Tian, X., Liu, Q., Jin, J., Shi, J., & Hou, Y. (2021b). CD47/SIRP α pathway mediates cancer immune escape and immunotherapy. *International Journal of Biological Sciences*, 17(13), 3281-3287. <https://doi.org/10.7150/ijbs.60782>
42. Jia, X., Yan, B., Tian, X., Liu, Q., Jin, J., Shi, J., & Hou, Y. (2021c). CD47/SIRP α pathway mediates cancer immune escape and immunotherapy. *International Journal of Biological Sciences*, 17(13), 3281-3287. <https://doi.org/10.7150/ijbs.60782>
43. 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>
44. Kurihara, H., Harita, Y., Ichimura, K., Hattori, S., & Sakai, T. (2010). SIRP- α -CD47 system functions as an intercellular signal in the renal glomerulus. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 299(3), F517-F527. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00571.2009>
45. Lee, J. M., Hammarén, H. M., Savitski, M. M., & Baek, S. H. (2023). Control of protein stability by post-translational modifications. *Nature Communications*, 14(1), 201. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-35795-8>

BIBLIOGRAPHIE

-
46. Li, H., Huang, E., Zhang, Y., Huang, S., & Xiao, Y. (2022a). HDock update for modeling protein- RNA / DNA complex structures. *Protein Science*, 31(11), e4441. <https://doi.org/10.1002/pro.4441>
47. Li, H., Huang, E., Zhang, Y., Huang, S., & Xiao, Y. (2022b). HDock update for modeling protein- RNA / DNA complex structures. *Protein Science*, 31(11), e4441. <https://doi.org/10.1002/pro.4441>
48. Liao, Y., Zhang, W., Liu, Y., Zhu, C., & Zou, Z. (2024). The role of ubiquitination in health and disease. *MedComm*, 5(10), e736. <https://doi.org/10.1002/mco2.736>
49. Liu, J., Xavy, S., Mihardja, S., Chen, S., Sompalli, K., Feng, D., Choi, T., Agoram, B., Majeti, R., Weissman, I. L., & Volkmer, J.-P. (2020). Targeting macrophage checkpoint inhibitor SIRP α for anticancer therapy. *JCI Insight*, 5(12), e134728. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.134728>
50. Liu, R., Wu, J., Guo, H., Yao, W., Li, S., Lu, Y., Jia, Y., Liang, X., Tang, J., & Zhang, H. (2023). Post- translational modifications of histones : Mechanisms, biological functions, and therapeutic targets. *MedComm*, 4(3), e292. <https://doi.org/10.1002/mco2.292>
51. Logtenberg, M. E. W., Scheeren, F. A., & Schumacher, T. N. (2020). The CD47-SIRP α Immune Checkpoint. *Immunity*, 52(5), 742-752. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.011>
52. Manav, N., Jit, B. P., Kataria, B., & Sharma, A. (2024). Cellular and epigenetic perspective of protein stability and its implications in the biological system. *Epigenomics*, 16(11-12), 879-900. <https://doi.org/10.1080/17501911.2024.2351788>
53. Masternak, K., Johnson, Z., Buatois, V., Rousseau, F., Magistrelli, G., Moine, V., Ravn, U., Gueneau, F., Broyer, L., Pires, S. S., Deehan, M., Fischer, N., Ferlin, W., & Kosco-Vilbois, M. (2015a). Abstract B54 : Antagonizing CD47-SIRP alpha interaction with a bispecific antibody: A novel cancer immunotherapy approach. *Cancer Immunology Research*, 3(10_Supplement), B54-B54. <https://doi.org/10.1158/2326-6074.TUMIMM14-B54>
54. 3(10_Supplement), B54-B54. <https://doi.org/10.1158/2326-6074.TUMIMM14-B54>
55. McCracken, M. N., Cha, A. C., & Weissman, I. L. (2015). Molecular Pathways : Activating T Cells after Cancer Cell Phagocytosis from Blockade of CD47 “Don’t Eat Me” Signals. *Clinical Cancer Research*, 21(16), 3597-3601. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2520>

56. Miyano, T., Sugita, K., & Ueda, H. (2024). The Continuous and Reversible Transformation of the Polymorphs of an MGAT2 Inhibitor (S-309309) from the Anhydrate to the Hydrate in Response to Relative Humidity. *Pharmaceutics*, 16(7), 949. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16070949>
57. Molodenskiy, D. S., Svergun, D. I., & Mertens, H. D. T. (2021). MPBuilder : A PyMOL Plugin for Building and Refinement of Solubilized Membrane Proteins Against Small Angle X-ray Scattering Data. *Journal of Molecular Biology*, 433(11), 166888. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2021.166888>
58. Murata, Y., Kotani, T., Ohnishi, H., & Matozaki, T. (2014). The CD47-SIRP signalling system : Its physiological roles and therapeutic application. *Journal of Biochemistry*, 155(6), 335-344. <https://doi.org/10.1093/jb/mvu017>
59. Murphy, E., & Patterson, C. (2012). The expanding world of post-translational modifications. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 52(3), 519. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.01.004>
60. Nag, A., Dasgupta, A., Sengupta, S., Lai, T. K., & Acharya, K. (2023). An in-silico pharmacophore-based molecular docking study to evaluate the inhibitory potentials of novel fungal triterpenoid Astrakurkurone analogues against a hypothetical mutated main protease of SARS-CoV-2 virus. *Computers in Biology and Medicine*, 152, 106433. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2022.106433>
61. Ng, P. C. (2003). SIFT : Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Research*, 31(13), 3812-3814. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg509>
62. Ng, P. C., & Henikoff, S. (2001). Predicting Deleterious Amino Acid Substitutions. *Genome Research*, 11(5), 863-874. <https://doi.org/10.1101/gr.176601>
63. Nimir, M., Abdelrahim, M., Abdelrahim, M., Abdalla, M., Ahmed, W. E., Abdullah, M., & Hamid, M. M. A. (2017). In silico analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in human FOXC2 gene. *F1000Research*, 6, 243. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10937.2>
64. Okazaki, T., Chikuma, S., Iwai, Y., Fagarasan, S., & Honjo, T. (2013). A rheostat for immune responses : The unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. *Nature Immunology*, 14(12), 1212-1218. <https://doi.org/10.1038/ni.2762>
65. Oldenborg, P.-A., Zheleznyak, A., Fang, Y.-F., Lagenaur, C. F., Gresham, H. D., & Lindberg, F. P. (2000). Role of CD47 as a Marker of Self on Red Blood Cells. *Science*, 288(5473), 2051-2054. <https://doi.org/10.1126/science.288.5473.2051>

BIBLIOGRAPHIE

-
66. Oronsky, B., Carter, C., Reid, T., Brinkhaus, F., & Knox, S. J. (2020). Just eat it : A review of CD47 and SIRP- α antagonism. *Seminars in Oncology*, 47(2-3), 117-124. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2020.05.009>
67. Ouznadji, A., & Desmons, A. (2020). Les réactions d'oxydation des protéines et leurs biomarqueurs. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 31-38. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30160-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30160-X)
68. Ozvoldik, K., Stockner, T., & Krieger, E. (2023). YASARA Model–Interactive Molecular Modeling from Two Dimensions to Virtual Realities. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(20), 6177-6182. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c01136>
69. Paysan-Lafosse, T., Blum, M., Chuguransky, S., Grego, T., Pinto, B. L., Salazar, G. A., Bileschi, M. L., Bork, P., Bridge, A., Colwell, L., Gough, J., Haft, D. H., Letunić, I., Marchler-Bauer, A., Mi, H., Natale, D. A., Orengo, C. A., Pandurangan, A. P., Rivoire, C., ... Bateman, A. (2023). InterPro in 2022. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D418-D427. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac993>
70. Pejaver, V., Mooney, S. D., & Radivojac, P. (2017). Missense variant pathogenicity predictors generalize well across a range of function- specific prediction challenges. *Human Mutation*, 38(9), 1092-1108. <https://doi.org/10.1002/humu.23258>
71. 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>
72. 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>
73. Profeta, S. (2016). Molecular Modeling. In Kirk-Othmer (Éd.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (1^{re} éd., p. 1-46). Wiley. <https://doi.org/10.1002/0471238961.1315120516181506.a01.pub3>
74. Prokunina, L., & Alarcón-Riquelme, M. E. (2004). Regulatory SNPs in complex diseases : Their identification and functional validation. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 6(10), 1-15. <https://doi.org/10.1017/S1462399404007690>
75. Qian, B., Lu, R., Mao, S., Chen, Y., Yang, M., Zhang, W., Zhang, M., Zhu, D., Liu, Z., Zen, K., & Li, L. (2024). Podocyte SIRP α reduction aggravates lupus nephritis via

-
- promoting T cell inflammatory responses. *Cell Reports*, 43(5), 114249. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.114249>
76. Ramazi, S., & Zahiri, J. (2021). Post-translational modifications in proteins : Resources, tools and prediction methods. *Database*, 2021, baab012. <https://doi.org/10.1093/database/baab012>
77. Ramensky, V. (2002). Human non-synonymous SNPs : Server and survey. *Nucleic Acids Research*, 30(17), 3894-3900. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf493>
78. Saibu, O. A., Ajayi, T. M., Omoboyowa, D. A., Oladipo, O. O., Hammed, S. O., Odunitan, T. T., Oluwafemi, A. T., Adejuyigbe, A. J., Aloba, G. O., Balogun, T. A., O. Alausa, A., & Bodun, D. S. (2023). Molecular mechanics and dynamics simulation of CD-47/SIRP α blockade study: A computational study on overcoming immunotherapeutic resistance in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(11), 105265. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105265>
79. Schofield, L. C., Dialpuri, J. S., Murshudov, G. N., & Agirre, J. (2024). Post-translational modifications in the Protein Data Bank. *Acta Crystallographica Section D Structural Biology*, 80(9), 647-660. <https://doi.org/10.1107/S2059798324007794>
80. Schwede, T. (2003). SWISS-MODEL : An automated protein homology-modeling server. *Nucleic Acids Research*, 31(13), 3381-3385. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg520>
81. Schymkowitz, J., Borg, J., Stricher, F., Nys, R., Rousseau, F., & Serrano, L. (2005a). The FoldX web server : An online force field. *Nucleic Acids Research*, 33(Web Server), W382-W388. <https://doi.org/10.1093/nar/gki387>
82. Seidakhmetov, A., Tanimine, N., Tanaka, Y., Arata, R., Nakano, R., Sakai, H., Ohira, M., Tahara, H., Ide, K., Kobayashi, T., & Ohdan, H. (2025a). Impact of SIRP α genotype combinations in recipients and donors on alloimmune response in liver transplantation. *PNAS Nexus*, 4(11), pgaf351. <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgaf351>
83. Seiffert, M., Brossart, P., Cant, C., Cella, M., Colonna, M., Brugger, W., Kanz, L., Ullrich, A., & Bühring, H.-J. (2001). Signal-regulatory protein α (SIRP α) but not SIRP β is involved in T-cell activation, binds to CD47 with high affinity, and is expressed on immature CD34+CD38–hematopoietic cells. *Blood*, 97(9), 2741-2749. <https://doi.org/10.1182/blood.V97.9.2741>
84. Shastry, B. S. (2009). SNPs : Impact on Gene Function and Phenotype. In A. A. Komar (Éd.), *Single Nucleotide Polymorphisms* (Vol. 578, p. 3-22). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_1

BIBLIOGRAPHIE

85. Shi, X., & Qiu, H. (2020). Post-Translational S-Nitrosylation of Proteins in Regulating Cardiac Oxidative Stress. *Antioxidants*, 9(11), 1051. <https://doi.org/10.3390/antiox9111051>
86. Shin, S., Baek, D.-S., Mellors, J. W., Dimitrov, D. S., & Li, W. (2025). Development of Fully Human Antibodies Targeting SIRP α and PLA2G7 for Cancer Therapy. *Antibodies*, 14(1), 21. <https://doi.org/10.3390/antib14010021>
87. 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>
88. 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-SIRP α 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>
89. Steinkühler, J., Różycki, B., Alvey, C., Lipowsky, R., Weikl, T. R., Dimova, R., & Discher, D. E. (2019). Membrane fluctuations and acidosis regulate cooperative binding of ‘marker of self’ protein CD47 with the macrophage checkpoint receptor SIRP α . *Journal of Cell Science*, 132(4), jcs216770. <https://doi.org/10.1242/jcs.216770>
90. Takahashi, S. (2018a). Molecular functions of SIRP α and its role in cancer (Review). *Biomedical Reports*. <https://doi.org/10.3892/br.2018.1102>
91. Takahashi, S. (2018b). Molecular functions of SIRP α and its role in cancer (Review). *Biomedical Reports*. <https://doi.org/10.3892/br.2018.1102>
92. Tang, J., Liu, C., Tan, Y., Jiang, J., Chen, F., Xiong, G., & Chen, S. (2023). Five Post-Translational Modification Residues of CmPT2 Play Key Roles in Yeast and Rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2025. <https://doi.org/10.3390/ijms24032025>
93. Tchiakam, S. B., Berger, S. L., Southall, J., Walden, H., & Gabrielsen, M. (2025). Stabilising proteins in solution using affordable and readily available small molecules. *Biophysical Reviews*, 17(4), 1093-1104. <https://doi.org/10.1007/s12551-025-01341-7>
94. Teufel, F., Almagro Armenteros, J. J., Johansen, A. R., Gíslason, M. H., Pihl, S. I., Tsirigos, K. D., Winther, O., Brunak, S., Von Heijne, G., & Nielsen, H. (2022). SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models. *Nature Biotechnology*, 40(7), 1023-1025. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-01156-3>

95. Tian, J., Wu, N., Guo, X., Guo, J., Zhang, J., & Fan, Y. (2007). Predicting the phenotypic effects of non-synonymous single nucleotide polymorphisms based on support vector machines. *BMC Bioinformatics*, 8(1), 450. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-450>
96. Trachtman, H., Nelson, P., Adler, S., Campbell, K. N., Chaudhuri, A., Derebail, V. K., Gambaro, G., Gesualdo, L., Gipson, D. S., Hogan, J., Lieberman, K., Marder, B., Meyers, K. E., Mustafa, E., Radhakrishnan, J., Srivastava, T., Stepanians, M., Tesar, V., Zhdanova, O., ... on behalf of the DUET Study Group. (2018). DUET : A Phase 2 Study Evaluating the Efficacy and Safety of Sparsentan in Patients with FSGS. *Journal of the American Society of Nephrology*, 29(11), 2745-2754. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018010091>
97. Uluçkan, Ö., Becker, S. N., Deng, H., Zou, W., Prior, J. L., Piwnica-Worms, D., Frazier, W. A., & Weilbaecher, K. N. (2009). CD47 Regulates Bone Mass and Tumor Metastasis to Bone. *Cancer Research*, 69(7), 3196-3204. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3358>
98. Van Duijn, A., Van Der Burg, S. H., & Scheeren, F. A. (2022). CD47/SIRPα axis : Bridging innate and adaptive immunity. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 10(7), e004589. <https://doi.org/10.1136/jitc-2022-004589>
99. 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>
100. 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>
101. Weiskopf, K., Ring, A. M., Ho, C. C. M., Volkmer, J.-P., Levin, A. M., Volkmer, A. K., Özkan, E., Fernhoff, N. B., Van De Rijn, M., Weissman, I. L., & Garcia, K. C. (2013). Engineered SIRPα Variants as Immunotherapeutic Adjuvants to Anticancer Antibodies. *Science*, 341(6141), 88-91. <https://doi.org/10.1126/science.1238856>
102. Weng, S.-L., Huang, K.-Y., Kaunang, F. J., Huang, C.-H., Kao, H.-J., Chang, T.-H., Wang, H.-Y., Lu, J.-J., & Lee, T.-Y. (2017). Investigation and identification of protein carbonylation sites based on position-specific amino acid composition and physicochemical features. *BMC Bioinformatics*, 18(S3), 66. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1472-8>

BIBLIOGRAPHIE

103. Willingham, S. B., Volkmer, J.-P., Gentles, A. J., Sahoo, D., Dalerba, P., Mitra, S. S., Wang, J., Contreras-Trujillo, H., Martin, R., Cohen, J. D., Lovelace, P., Scheeren, F. A., Chao, M. P., Weiskopf, K., Tang, C., Volkmer, A. K., Naik, T. J., Storm, T. A., Mosley, A. R., ... Weissman, I. L. (2012). The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRP α) interaction is a therapeutic target for human solid tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(17), 6662-6667. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121623109>
104. Wu, K., Kong, F., Zhang, J., Tang, Y., Chen, Y., Chao, L., Nie, L., & Huang, Z. (2023). Recent Progress in Single-Nucleotide Polymorphism Biosensors. *Biosensors*, 13(9), 864. <https://doi.org/10.3390/bios13090864>
105. Xiao, A., & Akilov, O. E. (2022). Targeting the CD47-SIRP α Axis : Present Therapies and the Future for Cutaneous T-cell Lymphoma. *Cells*, 11(22), 3591. <https://doi.org/10.3390/cells11223591>
106. Yan, Y., Zhang, D., Zhou, P., Li, B., & Huang, S.-Y. (2017). HDock : A web server for protein–protein and protein–DNA/RNA docking based on a hybrid strategy. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W365-W373. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx407>
107. 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 diseases : Functions, regulatory mechanisms, and therapeutic implications. *MedComm*, 4(3), e261. <https://doi.org/10.1002/mco2.261>