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

Biomolim

Département de BIOLOGIE

MÉMOIRE

Présenté par

MOUZOUNA Nassima et MESTARI Ahelm Amina

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER
En immunologie

Thème :

Identification des polymorphismes codants modulants la stabilité et l'affinité du CD47

Soutenu le **23 juin 2026**, devant le jury composé de :

Présidente	Dr. TRIQUI Chahinez	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	Dr. HADJIDJ Zeyneb	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr. DJELTI Farah	MCA	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2025/2026

Résumé

Introduction : La protéine de surface ubiquitaire CD47 agit comme un signal d'inhibition immunitaire, dit «Don't eat me » : en se liant aux récepteurs des macrophages, elle bloque la phagocytose et protège ainsi les cellules saines de la destruction. De nombreuses cellules cancéreuses détournent ce mécanisme en surexprimant CD47 pour échapper au système immunitaire. Cette étude vise à identifier, par des méthodes bioinformatiques, les polymorphismes nucléotidiques simples non synonymes (nsSNPs) exerçant un effet stabilisateur sur la conformation et la fonction de CD47, afin de mettre en évidence les variants susceptibles de renforcer ou de maintenir la stabilité de son interaction avec SIRPα.

Matériels et méthodes : Le criblage initial a combiné SIFT, PolyPhen-2 et PROVEAN pour distinguer les variants tolérés et délétères, et InterPro pour cartographier les domaines fonctionnels de CD47. Missense3D et SignalP 6.0 ont évalué l'impact structural et l'effet sur la séquence signal, puis I-Mutant 2.0, DUET et MutPred2 ont analysé la stabilité thermodynamique et les mécanismes moléculaires. Les variants extracellulaires « bénins » selon Missense3D ont été soumis à FoldX (ΔΔG), puis au docking HDOCK et à la visualisation PyMOL.

Résultats : L'analyse énergétique révèle deux profils : D80G augmente potentiellement l'affinité du complexe CD47/SIRPα, tandis que les autres variants conservent la stabilité native. L'amarrage moléculaire (HDOCK, PyMOL) confirme ce profil à l'échelle atomique, D80G et F32Y affichant les interfaces les plus étendues (respectivement 22 et 21 liaisons hydrogène contre 17 pour le sauvage).

Conclusion : Cette approche *in silico* révèle deux profils majeurs de nsSNPs de CD47 affectant le point de contrôle CD47/SIRPα : deux variants hyper-stabilisants (D80G et F32Y) amplifiant l'interaction. Ces variations constituent des facteurs critiques pour l'efficacité thérapeutique et la progression tumorale.

Mots-clés : Axe CD47/SIRPα, CD47, Criblage des SNPs, Énergie d'interaction, Gain de fonction, Modélisation structurale, Prédiction *in silico*, Signal « don't eat me », Stabilité protéique.

Abstract

Introduction: The ubiquitous surface protein CD47 acts as an immune inhibition signal, known as a "don't eat me" signal: by binding to macrophage receptors, it blocks phagocytosis and thus protects healthy cells from destruction. Many cancer cells hijack this mechanism by overexpressing CD47 to escape the immune system. This study aims to identify, through bioinformatic methods, non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) exerting a stabilizing effect on the conformation and function of CD47, in order to highlight variants capable of reinforcing or maintaining the stability of its interaction with SIRPα.

Materials and Methods: Initial screening combined SIFT, PolyPhen-2, and PROVEAN to distinguish tolerated and deleterious variants, and InterPro to map the functional domains of CD47. Missense3D and SignalP 6.0 assessed the structural impact and effect on the signal sequence, then I-Mutant 2.0, DUET, and MutPred2 analyzed thermodynamic stability and molecular mechanisms. Extracellular variants classified as "benign" according to Missense3D were submitted to FoldX (ΔΔG), followed by HDOCK molecular docking and PyMOL visualization.

Results: Energy analysis reveals two distinct profiles: D80G potentially increases the affinity of the CD47/SIRPα complex, while the other variants maintain native stability. Molecular docking (HDOCK, PyMOL) confirms this profile at the atomic level, with D80G and F32Y displaying the most extensive interfaces (22 and 21 hydrogen bonds, respectively, compared to 17 for the wild-type).

Conclusion: This *in silico* approach reveals two major profiles of CD47 nsSNPs affecting the CD47/SIRPα checkpoint: two hyper-stabilizing variants (D80G and F32Y) that amplify the interaction, while the remaining variants preserve the native interaction. These variations constitute critical factors for therapeutic efficacy and tumor progression.

Keywords: CD47/SIRPα axis, CD47, SNP screening, Interaction energy, gain of function, Structural modeling, *in silico* prediction, “Don't eat me” signal, Protein stability.

ملخص

المقدمة : يعمل بروتين السطح واسع الانتشار CD47 كإشارة تثبيط مناعية تُعرف بإشارة "لا تأكلني« don't eat me »؛ حيث يرتبط بمستقبلات الخلايا البلعومية (الماكروفاج) ليحجب عملية البلعمة، وبالتالي يحمي الخلايا السليمة من التدمير. وتعمل العديد من الخلايا السرطانية على اختطاف هذه الآلية عبر الإفراط في التعبير عن بروتين CD47 للإفلات من الجهاز المناعي. تهدف هذه الدراسة، باستعمال طرق المعلوماتية الحيوية، إلى تحديد تعدد الأشكال النيوكليوتيدية المفردة غير المترادفة (nsSNPs) التي تمارس تأثيراً مثبتًا على بنية ووظيفةCD47 ، وذلك لتسليط الضوء على المتغيرات القادرة على تعزيز أو الحفاظ على استقرار تفاعله مع بروتين.SIRPα

المواد والطرق : دمج الفرز الأولي أدوات SIFT و PolyPhen-2وPROVEANللتمييز بين المتغيرات المقبولة والممرضة، وأداة InterPro لرسم خرائط النطاقات الوظيفية لـ .CD47. وقام البرنامجان Missense3D و SignalP 6.0بتقييم التأثير البنيوي والفعالية على التتابع الإشاري، تلا ذلك تحليل الاستقرار الديناميكي الحراري والآليات الجزيئية بواسطة I-Mutant2.0 و DUETو .MutPred2ثم خضعت المتغيرات خارج الخلوية المصنفة كـ "حميدة "وفقًا لـ Missense3Dلبرنامج FoldX لحساب طاقة الارتباط الحرة(ΔΔG) ، متبوعًا بالالتحام الجزيئي عبر خادم HDOCK والتحليل البصري بواسطة PyMOL.

النتائج : يكشف التحليل الطاقي عن وجود نمطين متميزين؛ إذ يُحتمل أن يؤدي المتغير D80G إلى زيادة ألفة معقد CD47/SIRPα، في حين تحافظ المتغيرات الأخرى على الاستقرار الأصلي للمعقد. كما يؤكد الإرساء الجزيئي HDOCK)و (PyMOL هذا النمط على المستوى الذري، حيث أظهر المتغيران D80G و F32Y أكبر واجهات تفاعل، مع تكوين 22 و21 رابطة هيدروجينية على التوالي، مقارنةً بـ 17 رابطة هيدروجينية في النوع الأصلي.(Wild Type)

الخلاصة : تكشف هذه المقاربة الحاسوبية (in silico) عن وجود نمطين رئيسيين من المتغيرات غير المترادفة (nsSNPs) في البروتين CD47 تؤثر على نقطة التفتيش المناعيةCD47/SIRPα ؛ إذ يُظهر المتغيران D80G و F32Y تأثيرًا فائق الاستقرار يعزز التفاعل بين البروتينين، في حين تحافظ بقية المتغيرات على التفاعل الأصلي دون تغييرات جوهرية. وتمثل هذه الاختلافات عوامل حاسمة تؤثر في فعالية العلاجات وفي تطور الأورام.

الكلمات المفتاحية: محورCD47/SIRPα ، CD47، فحص تعدد أشكال النوكليوتيد المفرد(SNPs) ، طاقة التفاعل، اكتساب الوظيفة، النمذجة البنيوية، التنبؤ الحاسوبي، إشارة «لا تلتهمني»، استقرار البروتين.

Remerciements

Avant tout, toutes les louanges et notre profonde gratitude reviennent à Allah (SWT), dont la sagesse et la miséricorde nous ont guidées à chaque étape de ce travail. Sans Ses infinies bénédictions, cette étude n'aurait pu voir le jour.

Nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance à notre encadrante, **Mme HADJIDJ Zeyneb**, Docteure en Immunologie à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Nous lui sommes sincèrement redevables pour son encadrement exemplaire, son soutien constant et sa précieuse expertise, qui ont constitué les fondements de la réussite de cette recherche.

Nous adressons également nos plus sincères remerciements au **Professeur ARIBI Mourad**, directeur du laboratoire BIOMOLIM, en reconnaissance de son engagement remarquable en faveur de la formation universitaire et du développement de la recherche scientifique. Sa rigueur académique ainsi que ses interventions éclairées ont été d'un apport inestimable à la réalisation de ce travail.

Nos chaleureux remerciements vont également à **Mme Houda Bendjeffal**, doctorante au sein du laboratoire, pour ses conseils avisés, sa disponibilité et son accompagnement constant, qui nous ont grandement aidées à surmonter les différentes difficultés rencontrées au cours de cette étude.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à nos chères collègues et amies, **Rihane, Wafaa, Meriem, Manel et Douaa**, pour leur soutien indéfectible, leur bienveillance et les précieux moments de partage qui ont rendu ce parcours plus enrichissant et agréable.

Un merci tout particulier et infini s'adresse à **Oussama**, dont la présence, les encouragements constants et l'aide précieuse ont été un véritable soutien tout au long de ce parcours. Plus qu'un collègue, tu as été un compagnon de route précieux. Ta disponibilité, ta générosité et ton soutien ont largement contribué à l'aboutissement de ce travail. Nous te témoignons notre profonde reconnaissance et notre plus grand respect.

Nous remercions chaleureusement **Dr. TRIQUI Chahinez** et **Dr. DJELTI Farah**, membres de notre jury, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Leurs conseils avisés et leur guidance bienveillante ont grandement contribué à l'amélioration de ce mémoire. Qu'elles trouvent ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

Dédicace

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH de m'avoir donné la force et la patience de mener ce travail jusqu'à son terme.

Je dédie ce travail :

Avant tout, à mes **chers parents**, qui m'ont soutenue par tous les moyens possibles tout au long de ces cinq années, et même bien avant. Vous m'avez toujours encouragée et poussée à donner le meilleur de moi-même, en m'apprenant que je pouvais tout accomplir à force de travail. Je vous aime plus que tout.

À mes **précieuses sœurs Aicha et Leila**, qui ont toujours été à mes côtés, m'ont aidée et ont cru en moi. Vous êtes les personnes que j'admire le plus et vous avez toujours été mes modèles. Je vous suis infiniment reconnaissante et je vous aime de tout mon cœur.

À **mes cousines les plus proches** et à **mes amies**, qui ont su illuminer les moments les plus sombres. Merci pour vos conseils et votre soutien précieux, je vous aime énormément.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma gratitude à mon binôme **Ahlem** et à la remercier pour son investissement et son soutien. C'est grâce à notre travail d'équipe que nous avons pu mener ce projet à bien, merci infiniment.

MOUZOUNA Nassima

Dédicace

Louange à Dieu seul,

Ce modeste travail est dédié :

À **mes parents bien-aimés**, en témoignage de ma profonde gratitude pour votre amour inconditionnel, vos nobles sacrifices et vos précieuses prières qui ont éclairé mon chemin.

À ma chère sœur **Fatima** ainsi qu'à mes chers frères **Sofiane, Abdou** et **Zaki**, pour leur présence rassurante, leur soutien moral sans faille et leurs conseils avisés durant toutes ces années d'études.

À mon fiancé et futur époux **Oussama**, avec toute ma reconnaissance pour ton soutien précieux et ton encouragement continu. Puisse le Tout-Puissant bénir notre union et nous accorder une vie pleine de bonheur, de complicité et de réussite.

À ma précieuse binôme **Nassima**, en souvenir de notre collaboration et de notre amitié, ainsi qu'à sa famille.

À tous mes proches, mes amis et ceux qui me sont chers, je dédie ce mémoire.

MESTARI Ahlem Amina

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
3'-UTR	3' UnTranslated Region
4-1BBL	4-1BB Ligand
5-TM	5 Transmembrane Domains
ADCC	Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity
ADCP	Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis
Akt	Protein Kinase B
AKT2	AKT Serine/Threonine Kinase 2
APA	Alternative Polyadenylation
CAR-T	Chimeric Antigen Receptor T-cell
CD47	Cluster of Differentiation 47
CDC42	Cell Division Cycle 42
CDK4/6	Cyclin-Dependent Kinase 4 and 6
cGAMP	Cyclic Guanosine Monophosphate-Adenosine Monophosphate
cGAS	Cyclic GMP-AMP Synthase
cGMP	cyclic Guanosine Monophosphate
CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte Associated protein 4

Abréviation	**Signification**
CYP24A1	Cytochrome P450 Family 24 Subfamily A Member 1
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
eNOS	endothelial Nitric Oxide Synthase
ERK	Extracellular signal-Regulated Kinase
FAK	Focal Adhesion Kinase
Fas	First apoptosis signal
Fc	Fragment crystallizable
FcγR	Fc gamma Receptor
FoxP3	Forkhead Box P3
Fyn	Fyn tyrosine kinase
Gi protein	G inhibitory protein
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HIF-1α	Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha
IAP-1	Integrin Associated Protein 1
IDH1	Isocitrate Dehydrogenase 1
IFN	Interferon
IgC	Immunoglobulin Constant domain

Abréviation	**Signification**
IgV	Immunoglobulin Variable domain
IL	Interleukins
IL-12R	Interleukin-12 Receptor
ILK	Integrin-Linked Kinase
ITIM	Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif
m6A-SNPs	N^6-methyladenosine Single Nucleotide Polymorphisms
Mac-1	Macrophage-1 antigen
MARCH1	Membrane-Associated RING-CH protein 1
miRNA	micro Ribonucleic Acid
Myc	Myélocytome
NF-κB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NO	Nitric Oxide
NRF-1	Nuclear Respiratory Factor 1
nsSNP	non-synonymous Single Nucleotide Polymorphism
PD-1	Programmed Cell Death protein 1
PD-L1	Programmed Death-Ligand 1
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinase

Abréviation	**Signification**
PTM	Post-Translational Modification
QPCTL	Glutaminyl-Peptide Cyclotransferase-Like
Ras	Rat sarcoma
sGC	soluble Guanylate Cyclase
SH2	Src Homology 2 domain
SHP-1	Src Homology 2 domain-containing Phosphatase-1
SHP-2	Src Homology 2 domain-containing Phosphatase-2
SHPS-1	Src Homology 2 domain-containing Phosphatase Substrate-1
SIRPα	Signal Regulatory Protein alpha
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
Src	Sarcoma tyrosine kinase
STATs	Signal Transducer and Activator of Transcription
STING	Stimulator of Interferon Genes
T-bet	T-box expressed in T-cells
TAA	Tumor-Associated Antigen
TAM	Tumor-Associated Macrophages
TGF-β	Transforming Growth Factor-beta

Abréviation	**Signification**
Th1	T helper 1 cells
TME	Tumor Microenvironment
TNF-α	Tumor Necrosis Factor alpha
Tregs	Regulatory T cells
TSP-1	Thrombospondin-1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2
Wnt	Wingless/Integration-1
αvβ3	Alpha-v beta-3 integrin

Liste des figures :

Figure 1:la localisation chromosomiale du gène CD47 **(Kaur et al., 2021).**.....*24*
Figure 2:Structure globale de CD47 **(Fenalti et al., 2021a).**.....*25*
Figure 3: les différents ligands du CD47 **(Yang et al., 2023).**.....*27*
Figure 4:Voie de signalisation de l'axe CD47-SIRPα **(Y. Wang et al., 2022).**.....*28*
Figure 5:L'interaction entre CD47 et TSP-1 inhibe l'angiogenèse **(Yuan et al., 2025b).**.....*30*
Figure 6: schéma illustrant l'interaction entre CD47 sur les cellules cancéreuses et le SIRPα sur les macrophages **(Jia et al., 2021).**.....*32*
Figure 7:Les anticorps bispécifiques ou protéines de fusion à base de CD47 améliorent le ciblage spécifique des cellules cancéreuses **(Ye et al., 2023)**.....*37*
Figure 8: Les stratégies combinatoires régulent la réponse à médiation cellulaire T **(Ye et al., 2023).**.....*38*
Figure 9:Schéma qui illustre l'inhibition de la phagocytose des globules rouges par l'interaction CD47/SIRPα **(Y. Wang et al., 2026).**.....*39*
Figure 10:Schéma illustrant le polymorphisme nucléotidique simple **(Hashiyada, 2011).**....*42*
Figure 11:Illustration montrant la diversité des protéomes grâce aux modifications post traductionnelles **(Dutta & Jain, 2023).**.....*45*
Figure 12:Schématisation des mécanismes de phosphorylation/déphosphorylation **(Vandomme, 2014).**.....*46*
Figure 13: Study design. *51*
Figure 14:Interface de visualisation des variants protéiques à partir de variant viewer.....*51*
Figure 15:interface de consultation de la séquence protéique du CD47 sur la base de données UniProt.....*52*
Figure 16:l'outil bio-informatique polyphen-2. .....*53*
Figure 17:outil bio-informatique SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant).....*54*
Figure 18:Protein Variation Effect Analyzer (PROVEAN). *54*
Figure 19:l'outil bio-informatique InterPro. *55*
Figure 20:l'outil bio-informatique MISSENSE 3D. *56*
Figure 21:l'outil bio-informatique SignalP 6.0. .....*56*
Figure 22:le serveur I-mutant2.0. .....*58*
Figure 23:L'outil bio-informatique DUET. *58*
Figure 24:l'outil bio-informatique MutPred2 .....*59*
Figure 25: Interface graphique du plugin FoldX intégré dans YASARA. *61*

Figure 26:l'outil de modélisation structurale Phyre2.2. .....*62*

Figure 27:plateforme de modélisation SWISS-MODEL.....*62*

Figure 28: soumission de tâche au serveur HDOCK.....*63*

Figure 29: Représentation graphique des résultats de SIFT, Polyphen2, PROVEAN. .... ***Error! Bookmark not defined.***

Figure 30: Représentation graphique des résultats des outils : I-mutant2.0, DUET, Missense 3D. .....***Error! Bookmark not defined.***

Figure 31: Représentation graphique des résultats de Mutpred2. ..... ***Error! Bookmark not defined.***

Figure 32: récapitulatif des résultats d'étude.....***Error! Bookmark not defined.***

Liste des tableaux

Tableau 1:les 5 isoformes humains du CD47.....*26*

Tableau 2:Classification des scores de prédiction fonctionnelle (PolyPhen-2) **(Adzhubei et al., 2010).**.....*53*

Tableau 3:résultats de filtration des outils SIFT, Polyphen2, PROVEAN. ... ***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 4:les nsSNPs dans les domaines conservés du CD47 via InterPro. . ***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 5:Résultats positives de Missense 3D. .....***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 6: les résultats de l'analyse via I-mutant2.0 et DUET. .***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 7:tableau représentant les résultats positives de l'outil Mutpred2. .. ***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 8: Polymorphismes du CD47 localisés dans le domaine extracellulaire et validés par Missense3D.....***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 9: Scores (ΔΔG) d'interaction et leurs effets sur le complexe CD47/SIRPα..... ***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 10: Résultats Docking moléculaire et visualisation .....***Error! Bookmark not defined.***

Tableau 11 : Tableau comparatif des contacts des liaisons hydrogènes à l'interface CD47/SIRPα .....***Error! Bookmark not defined.***

Table des matières

Résumé II

Abstract III

ملخص IV

Remerciements V

Dédicace VI

Dédicace VII

Liste des abréviations VIII

Liste des figures : XIII

Liste des tableaux XV

1 Introduction 20

2 Chapitre I : Revue de la littérature 23

2.1 CD47 23

2.1.1 Généralités 23

2.1.2 Description du gène *CD47* 23

2.1.3 Structure et protéoformes du CD47 24

2.1.4 CD47 : Une plateforme de signalisation moléculaire polyvalente 26

2.1.5 Régulation de l'expression du CD47 31

2.1.6 Rôle du CD47 dans le système immunitaire inné 32

2.1.7 Rôle du CD47 dans le système immunitaire adaptatif 34

2.1.8 Rôle de CD47 dans la modulation du microenvironnement tumoral (TME) 35

2.1.9 Approches combinées basées sur le ciblage de CD47 36

2.1.10 Agents ciblant CD47 avec une thérapie ciblée 36

2.1.11 Rôle du CD47 dans la phagocytose des érythrocytes 38

2.2 Stabilité et son effet sur la fonction de la protéine : gain ou perte de fonction 40

2.2.1 Stabilité protéique 40

2.2.2 Gain ou perte de fonction 41
2.3 Polymorphisme nucléotidique simple (SNP) 42
2.3.1 Généralités 42
2.3.2 Rôle des SNP dans le cancer et la résistance au traitement 43
2.3.3 Défis et limites 43
2.4 Modifications post-traductionnelles 44
2.4.1 Généralités 44
2.4.2 La phosphorylation 45
2.5 Analyse *in silico* 46
2.5.1 Généralités 46
2.5.2 Applications en oncogénétique 47
2.5.3 Avantages et limites de l'analyse *in silico* 47
2.6 Problématique et objectifs 47
2.6.1 Problématique 47
2.6.2 Objectifs 48
2.6.3 But 49
3 Chapitre II : Matériel et méthodes 51
3.1 Prédiction des nsSNP tolérées 52
3.2 Identifications des substitutions dans les domaines conservés du CD47 55
3.3 Analyse de l'impact structural des nsSNP 55
3.4 Analyse de l'effet des nsSNP sur la stabilité de la protéine 57
3.5 Étude de la stabilité thermodynamique et de l'impact des mutations via FoldX 59
3.6 Modélisation Structurale 61
3.7 Préparation des structures et docking moléculaire protéine protéine 62
3.7.1 Préparation des structures tridimensionnelles 62
3.7.2 Simulations de Docking Moléculaire Protéine-Protéine 63
3.8 Visualisation moléculaire 64

3.9 Utilisation d'outils d'intelligence artificielle 64

4 Chapitre III : Résultats et Discussion.....**Error! Bookmark not defined.**

4.1 Interprétation des résultats.....**Error! Bookmark not defined.**

4.1.1 Exploration des données .....**Error! Bookmark not defined.**

4.1.2 Identification des SNPs tolérés .....**Error! Bookmark not defined.**

4.1.3 Identification des nsSNPs dans les domaines conservés .**Error! Bookmark not defined.**

4.1.4 Analyse de l'impact structural des nsSNPs .....**Error! Bookmark not defined.**

4.1.5 Analyse de l'effet des nsSNPs sur la stabilité de la protéine .**Error! Bookmark not defined.**

4.1.6 Sélection finale des variants d'intérêt structural**Error! Bookmark not defined.**

4.1.7 Étude de la stabilité thermodynamique et de l'impact des mutations via FoldX **Error! Bookmark not defined.**

4.2 Discussion.....**Error! Bookmark not defined.**

5 Chapitre V : Conclusion et perspective 66

6 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES. 68

Annexe .....**Error! Bookmark not defined.**

INTRODUCTION

1 Introduction

Le cancer est une pathologie majeure et hétérogène caractérisée par une prolifération incontrôlée de cellules anormales, des définitions récentes insistent qu'il s'agit d'une maladie de prolifération incontrôlée de cellules transformées, soumise à l'évolution par sélection naturelle à l'intérieur de la tumeur **(J. S. Brown et al., 2023).**

Le CD47, ou Cluster de Différenciation 47, est une protéine transmembranaire de la superfamille des immunoglobulines, exprimée de façon ubiquitaire à la surface des cellules saines où elle régule des processus comme la phagocytose et la tolérance, l'adhésion cellulaire et la migration **(T. Zhang et al., 2024a)**et l'homéostasie immunitaire **(Hai et al., 2022a).**

Le CD47 est particulièrement surexprimé dans presque tous les types de tumeurs solides et hématologiques **(Jia et al., 2021a)**. Cette surexpression membranaire confère aux cellules cancéreuses un avantage sélectif pour leur survie, en leur permettant d'échapper au système immunitaire inné, particulièrement aux macrophages. Cet échappement se fait grâce à l'interaction du CD47 avec le signal-regulatory protein alpha (SIRPα) présent sur les cellules myéloïdes, le CD47 suite à cette interaction va émettre un signal « don't eat me » inhibant ainsi la phagocytose des cellules **(Logtenberg et al., 2020).**

Cet axe CD47/SIRPα est donc un checkpoint de phagocytose, en le bloquant on pourrait réactiver les macrophages et ainsi éliminer plus efficacement les cellules cancéreuses par l'immunité inné et par la suite amplifier la réponse adaptative **(Y. Liu et al., 2024a).** Plusieurs traitements sont en cours d'étude tels que des anticorps monoclonaux dirigés contre CD47 et des protéines de fusion avec la structure immunoglobuline SIRPα qui se lient de manière compétitive à CD47 et bloquent l'interaction entre CD47 et SIRPα. Cette classe de thérapies constitue la majorité des données cliniques disponibles chez l'humain testant l'inhibition du CD47/SIRPα dans les tumeurs solides et les malignités hématologiques, bien que les données restent limitées.**(Dizman & Buchbinder, 2021)**.

Bien que l'immunothérapie utilisant des anticorps anti-CD47 ait affiché des résultats prometteurs dans divers essais cliniques précoces (phases I/II), une résistance clinique a été observée chez certains patients, limitant l'efficacité globale du traitement. Cette résistance résulte notamment de l'hétérogénéité tumorale, qui réduit la phagocytose macrophagique, ainsi que d'une surexpression persistante de CD47 ou d'altérations dans le microenvironnement tumoral (TME), favorisant l'évasion immunitaire **(Chen et al., 2023).**

Cette variabilité interindividuelle soulève des questions cruciales sur les facteurs génétiques sous-jacents, en particulier les polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs), qui sont des variations génétiques courantes consistant en un changement d'un seul nucléotide dans la séquence d'ADN, présents chez plus de 1% de la population **(Ali et al., 2022)**. Pour traiter l'ampleur de ces données, ces variations sont désormais étudiées de manière optimisée par le biais de la bio-informatique.

Ce domaine se définit comme un champ de convergence entre la biologie, les mathématiques et l'informatique, reposant sur l'acquisition de données biologiques moléculaires et l'application d'approches computationnelles afin d'organiser et d'interpréter ces informations de manière intelligible. Dans le cadre de la recherche actuelle, les données expérimentales ainsi générées sont centralisées au sein de répertoires spécialisés accessibles en ligne, tels que les bases de données dédiées aux séquences nucléotidiques et protéiques. Ces ressources numériques servent de référentiels indispensables pour la validation et l'évaluation comparative des résultats. À ce jour, le développement d'outils analytiques performants permet une exploration approfondie des différents niveaux d'organisation biologique, incluant la génomique, la transcriptomique, la protéomique, l'épigénomique et la métabolomique **(Bhat et al., 2022).**

Dans ce contexte, la présente étude propose une analyse *in silico* des SNPs présents dans les gènes codants pour CD47, afin d'identifier des variations qui augmentent l'affinité avec SIRPα, stabilisent la structure tridimensionnelle de la protéine et renforcent ainsi la signalisation "don't eat me" via l'axe CD47/SIRPα, contribuant à une résistance accrue contre l'immunothérapie ciblant CD47.

Chapitre I :

Revue de littérature

2 Chapitre I : Revue de la littérature

2.1 CD47

2.1.1 Généralités

Le CD47, également connu sous l'appellation IAP-1 (*Integrin Associated Protein 1*), constitue un récepteur cellulaire dont l'expression est généralisée au sein de l'organisme, bien qu'il ait été initialement mis en lumière en tant qu'antigène tumoral dans le cancer de l'ovaire **(Hai et al., 2022).** Ses fonctions de régulation immunitaire sont largement documentées et s'exercent à travers l'interaction avec divers ligands. Parmi eux, la thrombospondine-1 (TSP-1), une glycoprotéine matricielle multifonctionnelle libérée par les plaquettes, les cellules endothéliales et immunitaires, joue un rôle clé dans l'adhésion cellulaire, l'inhibition de l'angiogenèse ainsi que dans les processus d'agrégation plaquettaire et de réponse au stress **(Gutierrez, 2021)**. Le CD47 interagit également avec la protéine régulatrice de signal α (SIRPα), un récepteur inhibiteur transmembranaire principalement localisé sur les cellules myéloïdes telles que les macrophages. De plus, il s'associe aux intégrines, notamment **αvβ3**, **αIIbβ3** sur les plaquettes, **α2β1**, **Mac-1 (αMβ2 ou CD11b/CD18)** et **α4β1** sur les macrophages, formant des complexes moléculaires qui coordonnent la migration, l'adhérence et la signalisation dépendante des protéines G **(E. Brown, 2001).**

Sur le plan fonctionnel, le rôle canonique du CD47 repose sur l'émission d'un signal de type « don't eat me » (ne me mangez pas) qui, par sa liaison au SIRPα, bloque la phagocytose par les macrophages. Ce mécanisme agit comme un bouclier protégeant les cellules contre une élimination immunitaire indue, assurant ainsi l'homéostasie des tissus et la tolérance nécessaire à la prévention des pathologies auto-immunes. Toutefois, des recherches récentes **(Polara et al., 2024)** révèlent des dimensions non canoniques de ce récepteur, impliquant le CD47 dans la modulation de trajectoires cellulaires essentielles. Ces nouvelles perspectives soulignent son influence sur la prolifération, la différenciation, la migration et l'apoptose, tout en jouant un rôle déterminant dans la gestion du métabolisme et des réponses adaptatives au stress cellulaire.

2.1.2 Description du gène *CD47*

Le gène *CD47* code pour le cluster de différenciation 47 également connu sous les alias IAP, MER6 ou OA3 est localisé chez l'humain sur le chromosome 3, à la position cytogénétique 3q13.12. Ses coordonnées précises s'étendent de la base 108 043 094 à la base 108 091 088 à partir du pter. Dans son environnement génomique local, il se situe de manière télomérique par

rapport au gène *BBX* et centromérique par rapport à *IFT57*. D'une taille totale de 48 771 bases, il est structuré en 11 exons et ne possède aucun pseudogène identifié à ce jour **(Kaur et al., 2021).**

Concernant sa transcription, le gène code pour un ARN messager principal de 5 234 bases, mais il génère également cinq autres transcrits via un mécanisme d'épissage alternatif. L'organisation structurelle est telle que les exons 1 à 3 codent pour le domaine extracellulaire (similaire aux immunoglobulines), tandis que les exons 3 à 7 codent pour le domaine transmembranaire **(Kaur et al., 2021).**

.

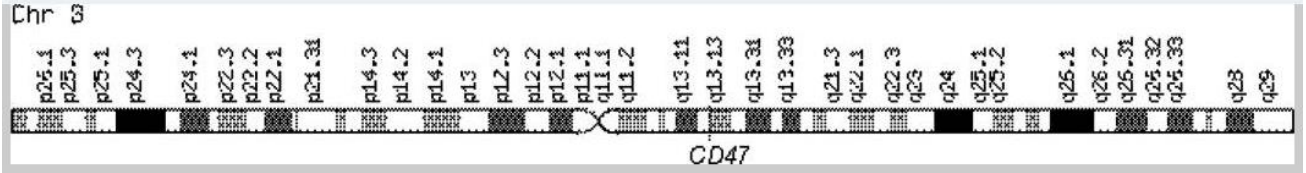


Figure 1 : la localisation chromosomiale du gène CD47 **(Kaur et al., 2021).**

2.1.3 Structure et protéoformes du CD47

Le CD47 est une glycoprotéine membranaire à 5 passages transmembranaires d'un poids moléculaire compris entre 31.88–35.22 kDa, se compose de 293–323 acides aminés dont la diversité fonctionnelle vient surtout des différentes protéoformes produites par épissage alternatif et modifications post-traductionnelles **(T. Zhang et al., 2024)**.

2.1.3.1 Structure :

Le peptide signal N-terminal d'environ 18 acides aminés dirige la protéine vers le réticulum endoplasmique pour son adressage correct **(Zhang et al., 2024).**

Le domaine extracellulaire, de type IgV et fortement glycosylé, contient des ponts disulfures conservés (Cys33–Cys263) reliant le domaine IgV au domaine transmembranaire et assurant sa stabilité structurelle **(Zhang et al., 2024)**.

CD47 présente un bundle unique de 5 hélices transmembranaires (5-TM), une caractéristique rare dans le système immunitaire (Fenalti et al., 2021a)**.**

La région extracellulaire adopte une conformation en trois boucles : deux boucles extracellulaires classiques et une boucle de liaison (114–119, SWF loop) qui positionne W118 et F119 au cœur extracellulaire, stabilisant ainsi la présentation du domaine IgV en surface. (Fenalti et al., 2021a)**.**

La queue cytoplasmique C-terminale est courte et sa longueur varie selon les isoformes de CD47 **(Xu et al., 2024)**.

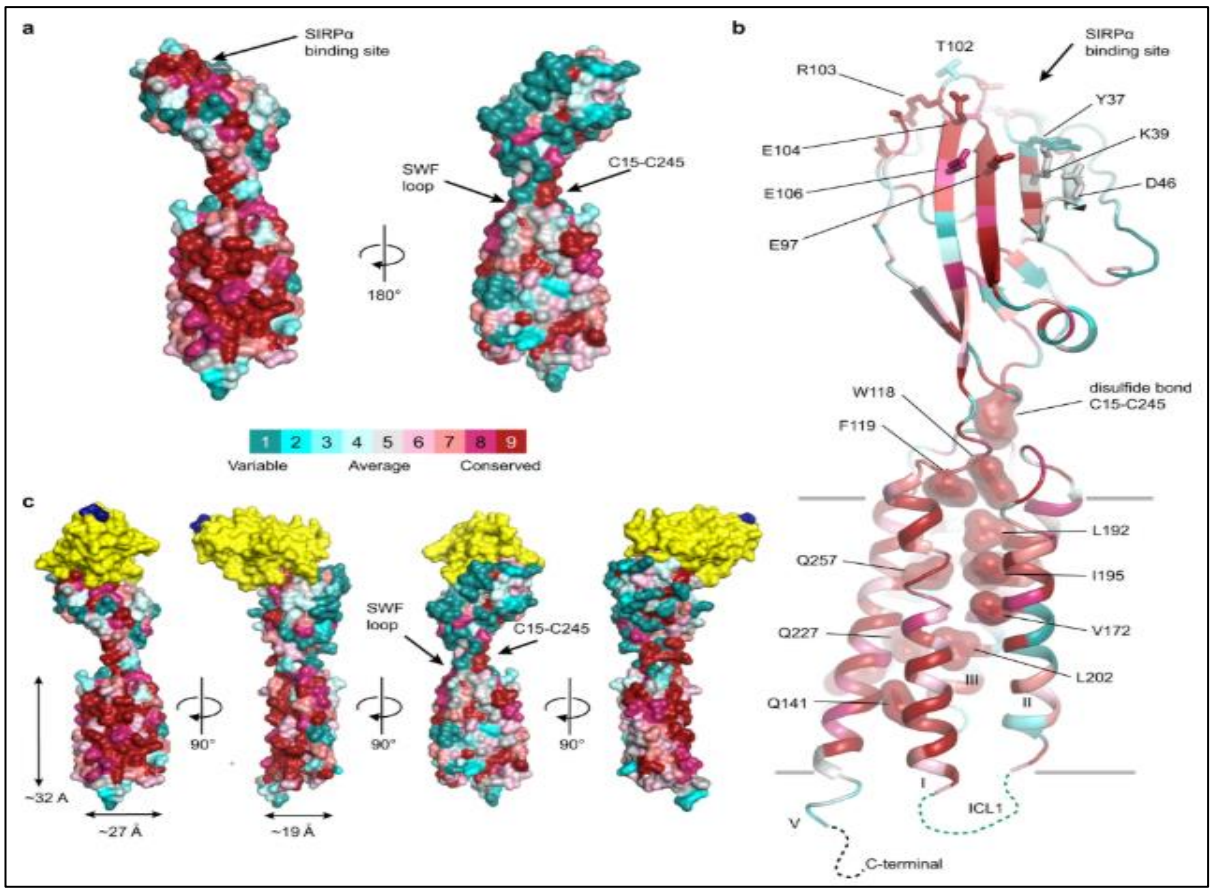


Figure 2 : Structure globale de CD47 **(Fenalti et al., 2021a).**

2.1.3.2 Protéoformes :

Bien que la fonction protéique soit souvent considérée comme figée dans les analyses multi-omiques, les protéines peuvent adopter de nombreuses « protéoformes » aux fonctions distinctes via l'épissage alternatif (isoformes), les modifications post-traductionnelles (PTM) et d'autres mécanismes **(Crowl et al., 2025).**

Les isoformes classiques du CD47 :

Chez l'humain, le domaine extracellulaire et les 5 TM sont constants, la variabilité vient surtout de la queue cytoplasmique. Le domaine C-terminal est alternativement épissé, générant au moins 4 isoformes "traditionnelles" avec des queues de 4, 16, 23 ou 36 acide aminé **(Zhang et al., 2024) (Fenalti et al., 2021) (Wu et al., 2024).**

Une 5ème isoforme humaine a été décrite dans le muscle squelettique, avec une séquence et longueur de queue totalement différente des 4 autres **(Wu et al., 2024).**

Tableau 1 : les 5 isoformes humains du CD47.

Isoforme humaine	**Longueur totale (aa)**	**Longueur queue C-terminale**	**Particularités**
Type 1	~293	4 aa	Kératinocytes, cancers vessie/ovaire/sein (Wu et al., 2024; Zhang et al., 2024).
Type 2	~305	16 aa	La plus largement exprimé (hématopoïétiques, endothéliales, épithéliales) (Wu et al., 2024b; Xu et al., 2024).
Type 3	~312	23 aa	Neurones, testicule, muqueuse intestinale (Wu et al., 2024).
Type 4	~323	36 aa	Neurones, testicule, cerveau (mémoire) (Zhang et al., 2024; Xu et al., 2024).
Type 5	Variable	Queue distincte	Décrite dans muscle squelettique (Wu et al., 2024).

Un même isoforme de CD47 peut exister sous plusieurs protéoformes selon la glycosylation N- et O-liée, l'ajout de glycosaminoglycanes (forme protéoglycane) indispensable à la signalisation via thrombospondine-1, la formation ou rupture de clusters membranaires à la surface (liée au vieillissement des globules rouges ou aux tumeurs), le clivage protéolytique du domaine extracellulaire, et la localisation subcellulaire régulée par l'APA (3'-UTR long vs court) **(Zhang et al., 2024) (Kaur et al., 2025).**

Cette diversité structurelle génère un large répertoire de protéoformes CD47 dépendantes du tissu, du type cellulaire et du contexte physiopathologique, chacune modulant différemment la phagocytose, la migration, l'apoptose ou les réponses au stress métabolique **(Kaur et al., 2025) (Zhang et al., 2024) (Wu et al., 2024).**

2.1.4 CD47 : Une plateforme de signalisation moléculaire polyvalente

Le récepteur CD47 constitue une plateforme de signalisation polyvalente dont les effets biologiques sont dictés par la nature de ses ligands principaux (SIRPα, TSP-1 et intégrines), ainsi que par le contexte cellulaire et tissulaire **(Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., 2019)**. En mobilisant ses domaines IgV, transmembranaires et sa queue cytoplasmique, CD47 coordonne des interactions moléculaires complexes selon des modes de liaison cis (au sein de la même membrane) ou trans (entre cellules adjacentes). Si l'ensemble de ces interactions joue

un rôle crucial dans la régulation de processus fondamentaux tels que l'adhésion cellulaire, la croissance tumorale, la migration, la régulation immunitaire et l'inhibition de la signalisation, leur détournement au sein du microenvironnement tumoral favorise l'échappement et la progression des cellules malignes **(Lau et al., 2023; Yuan et al., 2025a)**.

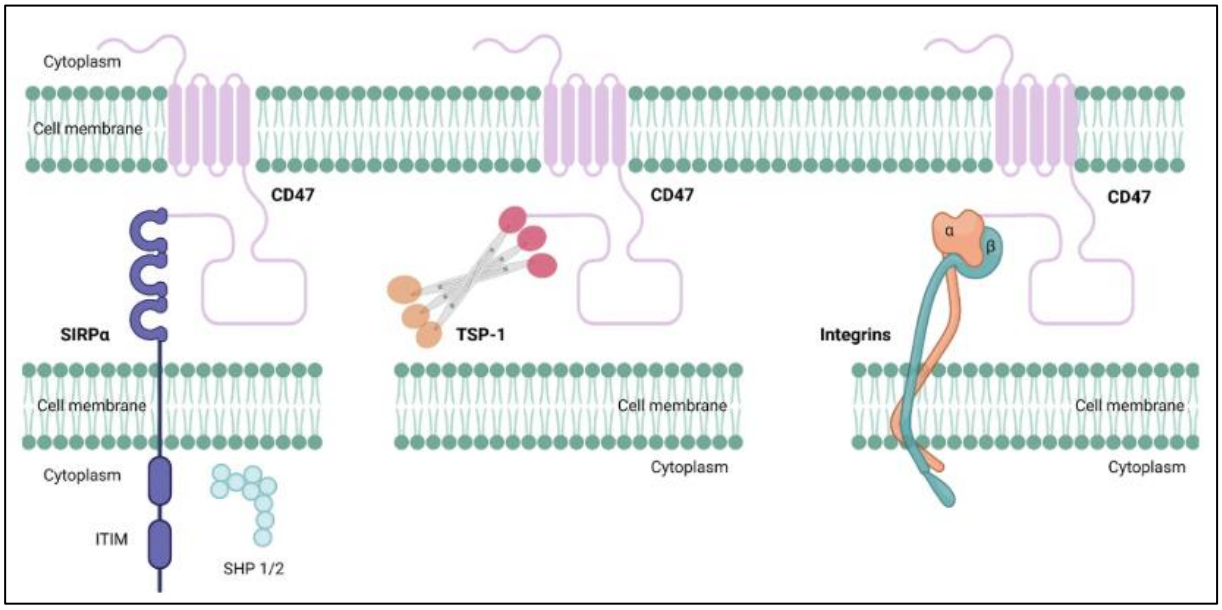


Figure 3 : les différents ligands du CD47 **(Yang et al., 2023).**

2.1.4.1 Interaction entre CD47 et la Protéine régulatrice du signal alpha (SIRPα)

L'axe CD47/SIRPα constitue un point de contrôle immunitaire majeur dont l'activation délivre un signal d'inhibition de la phagocytose « don't eat me signal », qui préserve l'intégrité des cellules saines face à l'élimination par les macrophages **(Huang et al., 2024; Jin et al., 2026)**. SIRPα (également identifiée sous les appellations CD172a, SHPS-1), est une glycoprotéine transmembranaire de la superfamille des immunoglobulines **(Behrens et al., 2022a; Feng et al., 2023).**

Elle est fortement exprimée à la surface des neurones et des cellules myéloïdes (macrophages, cellules dendritiques et neutrophiles). À l'inverse, son expression est quasiment indétectable sur les globules rouges ainsi que sur les lymphocytes T et B**(Jiang et al., 2021)**.

La structure protéique de SIRPα se compose d'un peptide signal **(Qu et al., 2022)**, d'une région extracellulaire organisée en trois domaines : un domaine variable N-terminal distal (IgV/D1) et deux domaines constants proximaux (IgC/D2 et D3) **(Oldenborg, 2013)**. Elle possède également un segment transmembranaire et une queue cytoplasmique caractérisée par la présence de quatre sites de phosphorylation de la tyrosine s'organisant en deux motifs inhibiteurs ITIM (Y. Liu et al., 2024a).

Sur le plan moléculaire, l'interaction entre le domaine IgV de CD47 et le domaine distal (IgV/D1) de son récepteur SIRPα déclenche l'engagement de la voie de signalisation**(Che et al., 2025)**. Ce contact induit la phosphorylation de ces tyrosines, permettant le recrutement et l'activation des phosphatases SHP-1 et SHP-2 contenant un domaine SH2**(Otuagomah et al., 2025)**. Ces effecteurs déclenchent une cascade de signalisation menant à la déphosphorylation de la myosine IIA, empêchant son accumulation au niveau de la synapse phagocytaire **(Zhou et al., 2025).** Ce processus inhibe la réorganisation du cytosquelette d'actine nécessaire à l'englobement de la cible, empêchant ainsi la formation du phagosome. Si ce mécanisme préserve l'intégrité des tissus sains, il est fréquemment détourné par les cellules tumorales qui surexpriment CD47 pour échapper à la surveillance immunitaire.

Par conséquent, le blocage de l'axe CD47/SIRPα est devenu une stratégie d'immunothérapie majeure visant à restaurer la capacité phagocytaire des macrophages contre le cancer **(Kang et al., 2026; Maute et al., 2022)**.

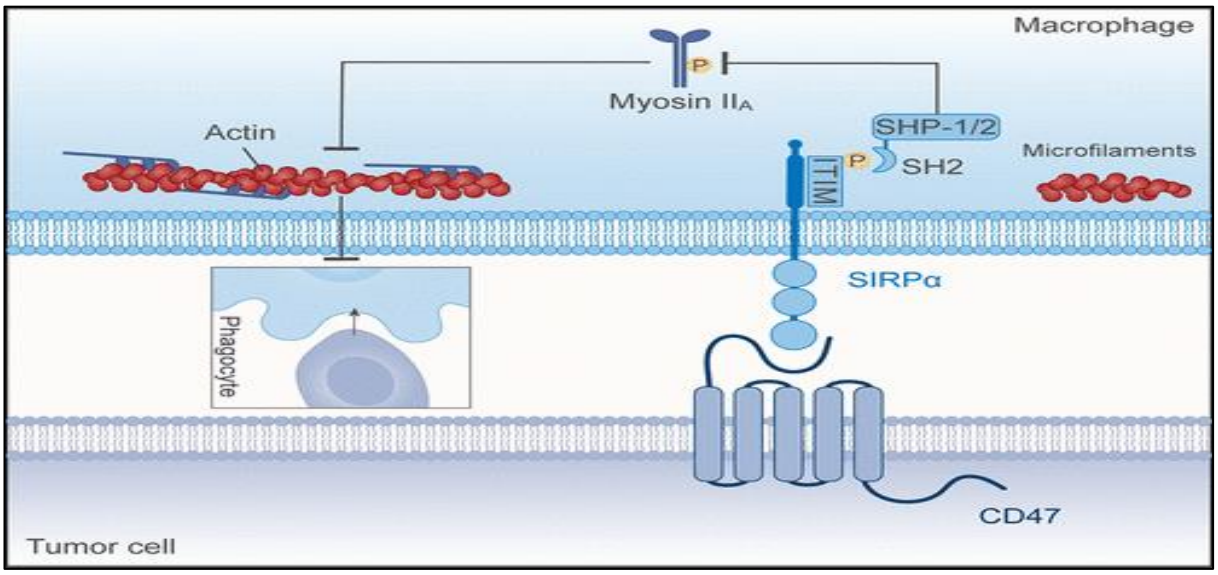


Figure 4 : Voie de signalisation de l'axe CD47-SIRPα **(Y. Wang et al., 2022).**

2.1.4.2 INTERACTION ENTRE CD47 et la thrombospondine-1(TSP-1)

L'axe CD47/TSP-1 constitue un régulateur matricellulaire fondamental de l'homéostasie tissulaire, agissant comme un véritable rhéostat biologique capable de moduler la réponse vasculaire, l'immunité et le métabolisme cellulaire **(Polara et al., 2024; Stępień et al., 2025)**.

La Thrombospondine-1 (TSP-1) est une glycoprotéine matricellulaire homotrimérique de 450 kDa appartenant à la famille des Thrombospondines. En tant que ligand majeur du CD47, elle se distingue par sa capacité à moduler la signalisation à des concentrations picomolaires, une sensibilité bien supérieure à celle observée pour ses autres récepteurs, comme le CD36 **(Kale et al., 2021; Lau et al., 2023; Otuagomah et al., 2025; Stępień et al., 2025)**.

Sa synthèse, induite en réponse au stress ou à des lésions tissulaires, est assurée par une grande variété de cellules (vasculaires, immunitaires, conjonctives) **(Lau et al., 2023; Morandi et al., 2021; Tabary et al., 2022)**. Elle est particulièrement abondante dans les granules alpha des plaquettes, d'où elle est massivement libérée lors de l'activation**(Montero & Isenberg, 2023)**.

Sur le plan structural, la TSP-1 s'organise en six domaines fonctionnels : un domaine N-terminal de liaison à l'héparine, un domaine d'homologie au procollagène, des répétitions de type I, II et III, ainsi qu'un domaine globulaire C-terminal **(B. Liu et al., 2024)**. Ce dernier contient la séquence spécifique RFYVVMWK, motif responsable de l'interaction directe avec le récepteur CD47 **(Otuagomah et al., 2025)**.

Cette interaction déclenche diverses voies de signalisation impliquées dans la régulation du métabolisme cellulaire (notamment la glycolyse et la fonction mitochondriale), ainsi que dans les réponses au stress et la prolifération **(Polara et al., 2024)**.

Plus spécifiquement, cet axe agit comme un puissant inhibiteur de l'angiogenèse par un antagonisme direct de la voie du VEGF. En se liant au CD47, la TSP-1 rompt l'association membranaire entre ce récepteur et le VEGFR2, bloquant ainsi l'activation de la NO synthase (eNOS). Cette interférence interrompt la production de monoxyde d'azote (NO) et l'activation de la guanylate cyclase soluble (sGC), empêchant la synthèse de GMPc. En paralysant cette cascade signalétique NO/GMPc, l'interaction TSP-1/CD47 neutralise la survie, la motilité et la migration des cellules endothéliales nécessaires à la néovascularisation **(Yuan et al., 2025b)**.

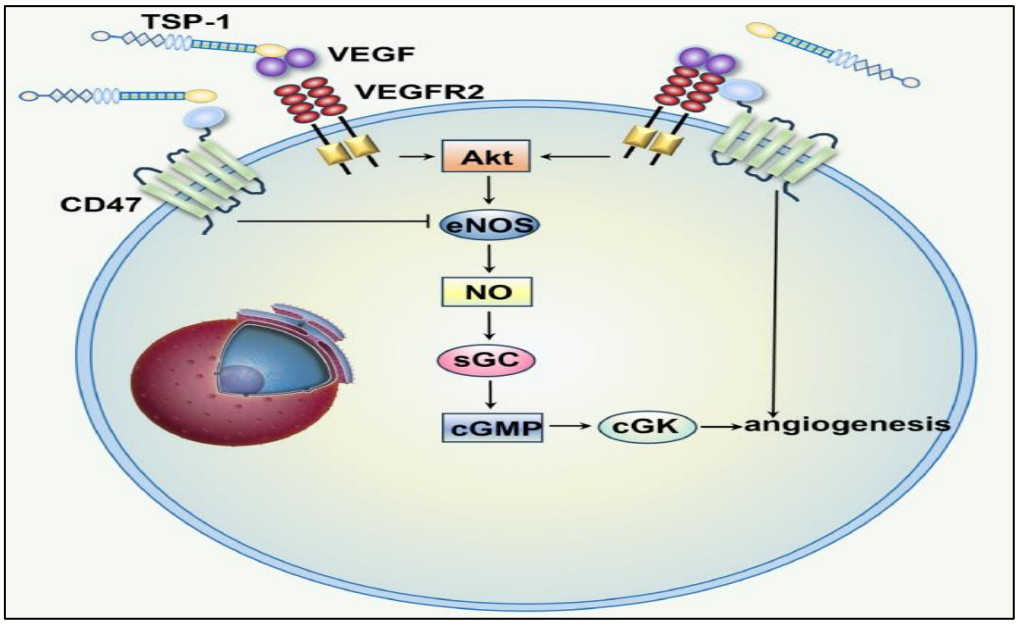


Figure 5 : L'interaction entre CD47 et TSP-1 inhibe l'angiogenèse **(Yuan et al., 2025b).**

2.1.4.3 Interaction entre CD47 et les intégrines

L'interaction entre la protéine CD47 et la superfamille des intégrines constitue un axe régulateur hétérodimérique fondamental qui orchestre l'adhérence, la motilité et la survie cellulaire **(Q. Wang et al., 2019)**. Initialement identifié en complexe avec αvβ3, le CD47 interagit avec une vaste diversité d'intégrines, notamment αIIbβ3, α2β1, α5β1, α4β1, α6β1et αLβ2 **(Otuagomah et al., 2025)**, optimisant leur affinité pour des ligands matriciels spécifiques, particulièrement ceux porteurs du motif tripeptidique RGD (fibronectine, vitronectine)**(Oldenborg, 2013)**.

La synergie biochimique de ce complexe repose sur la formation d'unités de signalisation tripartites (CD47-intégrine-TSP1/protéine Gi) dont l'activation déclenche des cascades intracellulaires majeures **(Otuagomah et al., 2025)**. En mobilisant des effecteurs d'adhérence (FAK, paxilline) et des kinases régulatrices (Src, Fyn, ILK), ce système orchestre les voies de survie et de prolifération Ras-ERK et PI3K/AKT, tout en assurant l'homéostasie des niveaux d'AMPc **(Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, Hatamipour, et al., 2019; Lau et al., 2023; Otuagomah et al., 2025)**.

Sur le plan physiologique, ce couplage moléculaire est indispensable à la migration transendothéliale et transépithéliale des neutrophiles, à l'explosion respiratoire, à l'homéostasie plaquettaire ainsi qu'à la mécanotransduction au sein du cartilage **(Oldenborg, 2013; Yang et al., 2023)**. Cependant, son détournement pathologique s'avère délétère : en oncologie, il favorise l'invasion métastatique et l'échappement immunitaire via le signal d'inhibition de la

phagocytose dépendant de SIRPα **(Lau et al., 2023; Q. Wang et al., 2019)**. Parallèlement, dans l'arthrose, le complexe CD47- αvβ3 exacerbe la réponse inflammatoire et entrave l'élimination des débris cellulaires, entretenant ainsi la dégradation tissulaire. Par conséquent, le ciblage thérapeutique de l'axe CD47-intégrine représente une stratégie prometteuse pour restaurer l'homéostasie tissulaire et freiner la progression des pathologies néoplasiques et dégénératives **(Q. Wang et al., 2019)**.

2.1.5 Régulation de l'expression du CD47

L'expression du CD47 est contrôlée à plusieurs niveaux : transcriptionnel, post-transcriptionnel (ARN) et post-traductionnel (modifications de la protéine). Cette régulation est dépendante du type cellulaire, du microenvironnement (inflammation, hypoxie, stress, dommages à l'ADN) et du contexte tumoral **(Huang et al., 2020).**

Au stade de la régulation transcriptionnelle, plusieurs oncogènes et facteurs de transcription interviennent. MYC se lie directement au promoteur de CD47, augmentant les taux d'ARNm et de protéines dans divers modèles tumoraux **(Casey et al., 2016)**. En condition d'hypoxie, HIF-1α se fixe au promoteur de CD47 dans les cellules de cancer du sein, ce qui stimule la transcription, favorise l'évasion à la phagocytose et le maintien des cellules souches cancéreuses **(H. Zhang et al., 2015)**. Dans le mélanome, le facteur NRF-1 active également la transcription en se fixant sur plusieurs sites du promoteur proximal **(Makwana et al., 2024).**

Le microenvironnement tumoral et les cytokines participent aussi à cette induction. L'expression de CD47 est stimulée par le TNF-α, l'IFN-γ et différentes interleukines (IL), via l'activation des voies NF-κB, STATs et d'autres voies de signalisation **(Yuan et al., 2025).** L'hypoxie tumorale ainsi que certaines enzymes métaboliques, telles que l'IDH1, sont répertoriées comme des régulateurs positifs de l'expression de CD47 **(Bess et al., 2025 ; Yuan et al., 2025).**

Concernant la régulation post-transcriptionnelle, de nombreux miARN ciblent la région 3′-UTR de l'ARNm de CD47, entraînant une diminution de sa traduction ou de la stabilité de l'ARNm. Les principaux miARN identifiés comme inhibiteurs de CD47 incluent miR-155, miR-192, miR-200a/b, miR-340, miR-708, miR-133a et miR-141 **(Beizavi et al., 2021).**

L'activité fonctionnelle du CD47 dépend de modifications post-traductionnelles spécifiques déterminant la formation de protéoformes actives. Une étape déterminante est la pyroglutamylation N-terminale, une modification catalysée par l'enzyme glutaminyl-peptide cyclotransférase-like (QPCTL). Cette transformation chimique est indispensable pour stabiliser

et optimiser l'interaction du CD47 avec le récepteur SIRPα, conditionnant ainsi l'efficacité du signal « don't eat me » **(Logtenberg et al., 2019).**

2.1.6 Rôle du CD47 dans le système immunitaire inné

2.1.6.1 *Macrophages et le CD47*

Un des mécanismes essentiels de l'échappement immunitaire médié par le CD47 est son interaction avec le SIRPα exprimé sur les cellules myéloïdes (macrophages et monocytes), cette interaction provoque la phosphorylation des motifs d'inhibition (ITIM) situés dans la partie cytoplasmique du récepteur SIRPα. Ce mécanisme entraîne le recrutement de tyrosine phosphatases (contenant un domaine SH2), ce qui finit par transmettre à la cellule un signal anti phagocytaire, agissant comme un message « don't eat me » **(X. Liu et al., 2017)**.

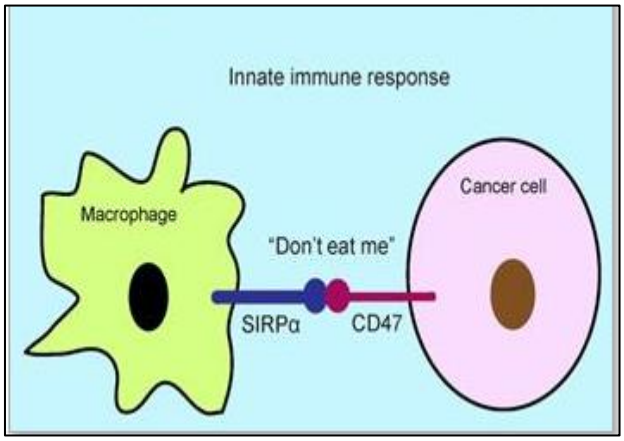


Figure 6 : schéma illustrant l'interaction entre CD47 sur les cellules cancéreuses et le SIRPα sur les macrophages **(Jia et al., 2021).**

2.1.6.2 Cellules dendritiques et le CD47

Le blocage de l'interaction entre CD47 et SIRPα accroît la capacité de phagocytose des cellules dendritiques (DC), favorisant ainsi la clairance et la régression des tumeurs par l'activation de la réponse immunitaire innée. Suite à cette phagocytose induite, les DC optimisent la cross-présentation antigénique et le priming des lymphocytes T **(Jia et al., 2021)**.

À l'échelle intracellulaire, l'ADN tumoral internalisé par les DC après le blocage de CD47 active la voie de signalisation cGAS–cGAMP–STING–IFN. Cette activation moléculaire déclenche la production d'interférons et la différenciation des lymphocytes T en effecteurs cytotoxiques. Parallèlement, les DC détectent l'ADN mitochondrial tumoral ; le blocage de CD47 empêche la dégradation de ce matériel génétique, ce qui renforce la signalisation STING–IFNγ et accentue le cross-priming des lymphocytes T **(Jia et al., 2021).**

2.1.6.3 Neutrophiles et le CD47

Les neutrophiles, qui sont abondamment présents dans la circulation et dans de nombreux cancers, se sont révélés être de véritables cellules effectrices pour l'élimination des tumeurs médiée par les anticorps *in vivo*, il est maintenant démontré que les neutrophiles détruisent les cellules cancéreuses opsonisées via un processus de mort cellulaire spécifique appelé trogoptose **(Behrens et al., 2022b).** Cette mort cellulaire est souvent déclenchée par la trogocytose, qui définit un mécanisme de transfert membranaire bidirectionnel ou unidirectionnel, s'opérant par contact intercellulaire direct. À la différence de la phagocytose, qui aboutit à la dégradation lysosomale du matériel ingéré, la trogocytose permet l'intégration fonctionnelle de fragments de la membrane plasmique et de fractions cytosoliques de la cellule donneuse vers la cellule receveuse. Ce processus préserve l'orientation topologique et la conformation native des protéines de surface transférées, modifiant ainsi de manière transitoire le phénotype et les capacités de signalisation de la cellule cible **(Kim et al., 2025).**

L'efficacité cytotoxique des neutrophiles est modulée par l'expression constitutive du récepteur de point de contrôle myéloïde SIRPα (*Signal Regulatory Protein alpha*). L'engagement de ce récepteur par son ligand CD47, surexprimé à la surface des cellules néoplasiques comme signal d'évasion phénotypique ("don't eat me signal"), induit une cascade de signalisation inhibitrice. Ce verrou moléculaire s'oppose à l'activation de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) et de la trogoptose, agissant comme un frein biologique majeur qui compromet l'efficacité des immunothérapies par anticorps monoclonaux **(Behrens et al., 2022b).**

2.1.6.4 Cellules NK et le CD47

CD47 module fortement les fonctions des cellules NK, en influençant leur développement, leur recrutement dans la tumeur et leur prolifération, principalement via les interactions avec TSP-1.

L'interaction entre la thrombospondine-1 (TSP-1) et son récepteur de surface CD47 constitue un axe de régulation immunologique inhibiteur majeur pour les cellules Natural Killer (NK). In vitro, l'engagement de cet axe par la TSP-1 entraîne une répression phénotypique caractérisée par la diminution de l'expression du marqueur d'activation précoce CD69, ainsi qu'une inhibition drastique de la prolifération cellulaire **(Y. Liu et al., 2024).**

Le CD47 régule le recrutement et l'activation des cellules NK au sein du microenvironnement tumoral. Son blocage expérimental favorise une infiltration accrue de ces cellules effectrices

directement au cœur de la lésion cancéreuse. Cette intervention permet ainsi de lever les freins moléculaires qui limitent la migration et l'engagement des cellules NK contre la tumeur **(Gracia-Hernandez et al., 2024).**

2.1.7 Rôle du CD47 dans le système immunitaire adaptatif

2.1.7.1 Rôle de CD47 dans la biologie des lymphocytes B

Le CD47 régule la biologie des lymphocytes B par une double action : un signal d'inhibition de la croissance via l'axe CD47-SIRPα et un contrôle de la dynamique membranaire(Y. Liu et al., 2024a). Il intervient de manière critique dans le recrutement endothéliale et la maturation lymphocytaire en stabilisant les contacts intercellulaires(Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., 2019; Y. Liu et al., 2024a). La capacité de CD47 à moduler la motilité via CDC42 et à séquestrer le co-récepteur CD19 loin du complexe BCR démontre son importance dans la régulation fine de la signalisation. Ces propriétés font du ciblage de CD47 une stratégie efficace pour inhiber la prolifération des lymphocytes B pathologiques (Y. Liu et al., 2024a).

2.1.7.2 Rôle de CD47 dans la biologie et la réponse des lymphocytes T

2.1.7.2.1 CD47 et lymphocytes T effecteurs

Le récepteur CD47 agit comme un régulateur pléiotrope de l'immunité adaptative, orchestrant l'activation, la prolifération et le destin des lymphocytes T effecteurs **(Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., 2019; Y. Liu et al., 2024a).** Dans le processus d'activation, CD47 fonctionne comme une molécule de costimulation : son interaction avec le récepteur SIRPα sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) amplifie la signalisation du récepteur T (TCR), favorisant ainsi l'adhésion cellulaire et la prolifération lymphocytaire indispensable à la réponse antitumorale. À l'inverse, la liaison de la thrombospondine-1 (TSP-1) à CD47 peut agir comme un signal inhibiteur, limitant la transduction du signal du TCR et induisant l'anergie ou la mort cellulaire **(Y. Liu et al., 2024a).**

Sur le plan de la différenciation, CD47 exerce un contrôle négatif sélectif sur la lignée Th1 **(Hai et al., 2022)**. Sa signalisation inhibe l'expression du récepteur à l'interféron (IL-12R), réduit la sensibilité à l'IL-12 et diminue la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN-γ, la lymphotoxine-α et le TNF-α **(Hai et al., 2022; Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., 2019)**. Des études sur des modèles *CD47-null* confirment cette fonction, montrant une augmentation du facteur de transcription T-bet et une polarisation Th1 accrue en l'absence du récepteur **(Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., 2019; Y. Liu et al., 2024a).**

Enfin, CD47 régule l'homéostasie des lymphocytes T par le biais de l'apoptose et de la survie. Il peut interagir latéralement avec le récepteur Fas (CD95) pour moduler la mort cellulaire programmée **(Y. Liu et al., 2024a)**. Dans un contexte thérapeutique, le blocage de l'axe CD47-SIRPα s'avère prometteur : il restaure l'immunité adaptative en favorisant la phagocytose des cellules tumorales par les cellules dendritiques, ce qui permet une présentation croisée efficace des antigènes et l'activation des lymphocytes T cytotoxiques CD8+. Cet effet antitumoral, dépendant de la voie de signalisation STING, démontre que CD47 est un point de contrôle critique reliant l'immunité innée à la réponse lymphocytaire effectrice **(Hai et al., 2022; Y. Liu et al., 2024a).**

2.1.7.2.2 CD47 et lymphocytes T régulateurs

Le récepteur CD47 joue un rôle déterminant dans la modulation des lymphocytes T régulateurs (Tregs), intervenant à la fois dans leur génération, leur prolifération et leur fonction suppressive **(Y. Liu et al., 2024a)**. Son interaction avec la thrombospondine-1 (TSP-1) est un levier majeur de la différenciation des lymphocytes T naïfs (CD4+CD25-) en Tregs exprimant le facteur de transcription FoxP3, un processus comparable aux effets de l'IL-10 ou du TGF-beta **(Hai et al., 2022; Y. Liu et al., 2024a)**. Dans le contexte du mélanome, cette voie est détournée par la tumeur : des taux élevés de TSP-1 corrèlent avec une accumulation de Tregs périphériques, favorisant l'échappement au système immunitaire**(Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., 2019)**. Par ailleurs, l'expression de CD47 assure l'homéostasie des Tregs activés (CD103+) et prolonge leur survie, comme observé dans des pathologies inflammatoires telles que la dermatite atopique ou le psoriasis **(Hai et al., 2022; Y. Liu et al., 2024a)**. Au-delà de l'immunité périphérique, l'axe CD47-SIRPα confère aux Tregs une fonction neuroprotectrice essentielle, notamment en protégeant les neurones dopaminergiques contre la neurotoxicité par l'inhibition de l'activation microgliale **(Y. Liu et al., 2024a)**. Ainsi, si CD47 est indispensable au maintien de la tolérance immunitaire et de l'équilibre tissulaire, son ciblage thérapeutique seul ou en combinaison avec CTLA-4 représente une stratégie prometteuse pour lever l'immunosuppression dans les tumeurs solides tout en prévenant la différenciation des lignées effectrices Th1 **(Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., 2019; Y. Liu et al., 2024a)**.

2.1.8 Rôle de CD47 dans la modulation du microenvironnement tumoral (TME)

Au sein du microenvironnement tumoral (TME), CD47 agit comme un régulateur clé de l'échappement immunitaire et de la progression tumorale via un réseau complexe d'interactions cellulaires et moléculaires **(Y. Liu et al., 2024a; Yuan et al., 2025c)**.

Principalement identifié comme un point de contrôle de l'immunité innée, il délivre un signal

antiphagocytaire (« don't eat me ») en se liant à SIRPα, exprimé par les macrophages associés aux tumeurs (TAM) et les cellules dendritiques, limitant ainsi la clairance des cellules malignes et l'initiation de la réponse adaptative **(Chen et al., 2023; Y. Liu et al., 2024a; Yuan et al., 2025c)**. Parallèlement, CD47 favorise l'établissement d'un microenvironnement immunosuppresseur en modulant le compartiment stromal, notamment en renforçant les fonctions suppressives des fibroblastes et le recrutement des lymphocytes T régulateurs (Tregs), tout en réduisant la diapédèse des lymphocytes T effecteurs à travers l'endothélium vasculaire. Ces effets sont amplifiés en conditions d'hypoxie par l'interaction avec la thrombospondine-1 (TSP-1), laquelle module l'angiogenèse et l'adaptation métabolique tumorale, facilitant ainsi la survie cellulaire et la dissémination **(Chen et al., 2023; Y. Liu et al., 2024)**.

Enfin, l'association entre la surexpression de CD47 et les marqueurs d'épuisement lymphocytaire, tels que PD-1 et CTLA-4, souligne son rôle déterminant dans l'évasion immunitaire **(Y. Liu et al., 2024a)**. Dans ce contexte, l'axe CD47–SIRPα apparaît comme une cible thérapeutique stratégique pour restaurer une réponse antitumorale efficace **(Chen et al., 2023)**.

2.1.9 Approches combinées basées sur le ciblage de CD47

La surexpression de CD47 à la surface des cellules cancéreuses constitue un mécanisme majeur d'échappement immunitaire, permettant à la tumeur de supprimer l'immunité antitumorale au sein du microenvironnement tumoral (TME). Si le blocage de l'axe CD47-SIRPα est prometteur, son succès clinique repose désormais sur le développement de stratégies combinées visant à cibler plusieurs composants du TME simultanément. Ces approches synergiques permettent d'une part d'optimiser la sélectivité thérapeutique en associant CD47 à des antigènes spécifiques pour protéger les cellules saines, et d'autre part de maximiser les taux de réponse en couplant ce blocage à d'autres immunothérapies afin de restaurer une réponse immunitaire complète, tant innée qu'adaptative**(Chen et al., 2023)**.

2.1.10 Agents ciblant CD47 avec une thérapie ciblée

L'émergence des anticorps bispécifiques ciblant simultanément l'axe CD47-SIRPα et des antigènes associés aux tumeurs (TAA), tels que HER2, l'EGFR ou le CD20, représente une avancée stratégique majeure pour optimiser l'immunothérapie anticancéreuse. En restreignant le blocage de CD47 aux seules cellules doublement positives (CD47+/TAA+), ces molécules de nouvelle génération améliorent drastiquement la sélectivité thérapeutique et pallient les limites hématologiques des anticorps monoclonaux conventionnels, notamment en réduisant la

toxicité hors cible envers les érythrocytes. Ce double ciblage permet non seulement de lever le signal d'inhibition phagocytaire « don't eat me », mais génère également une synergie robuste via l'engagement des récepteurs FcγR des cellules effectrices par les fragments Fc. Il en résulte une amplification conjointe de la phagocytose dépendante des anticorps (ADCP) par les macrophages et de la cytotoxicité cellulaire (ADCC) par les cellules NK, tout en favorisant la repolarisation des macrophages vers un phénotype pro-inflammatoire antitumoral, capable de restaurer la présentation antigénique et de surmonter les résistances aux thérapies ciblées classiques **(Ye et al., 2023)**.

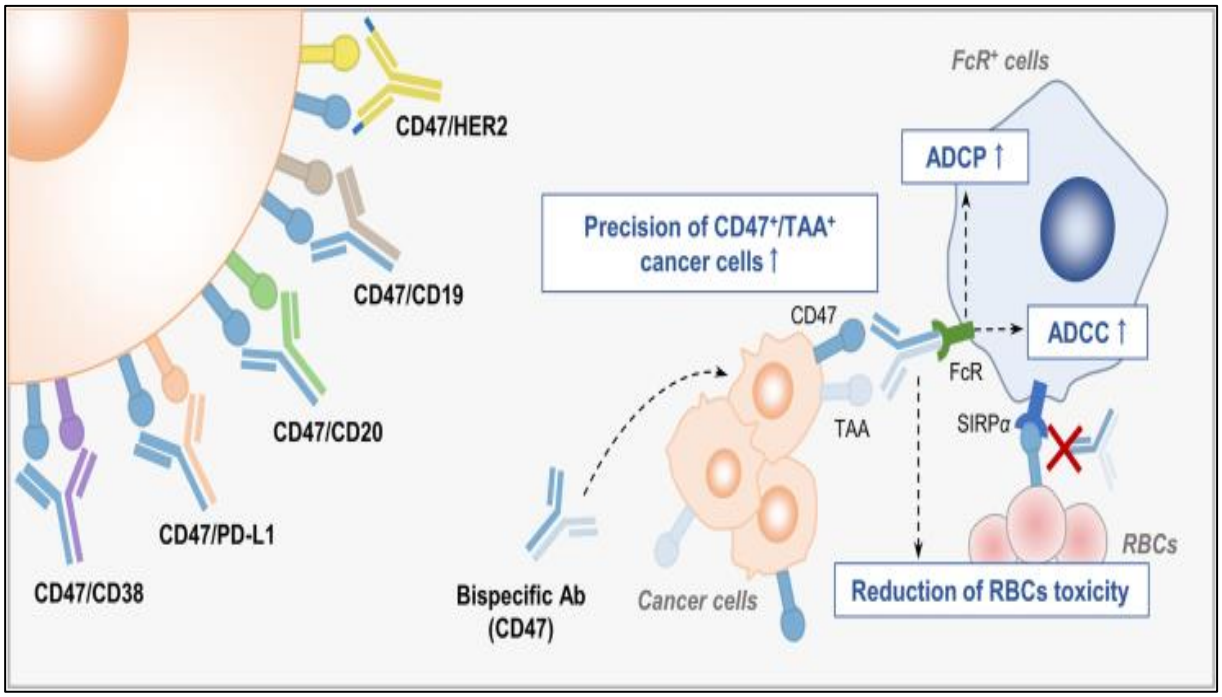


Figure 7 : Les anticorps bispécifiques ou protéines de fusion à base de CD47 améliorent le ciblage spécifique des cellules cancéreuses **(Ye et al., 2023)**.

2.1.10.1 Agents ciblant CD47 par immunothérapie

Le blocage de CD47 (via des anticorps bispécifiques CD47/PD-1 ou des protéines de fusion SIRPα–4-1BBL) lève le signal inhibiteur "don't eat me" et restaure la phagocytose des cellules tumorales par les macrophages, tout en favorisant l'activation des lymphocytes T. Le co-ciblage de CD47 et de PD-L1 renforce ainsi la réponse immunitaire en amplifiant la différenciation des lymphocytes T effecteurs et leur fonction cytotoxique. Par ailleurs, contrairement aux anticorps anti-CTLA-4 conventionnels associés à une toxicité systémique importante, les constructions hétérodimériques anti-CTLA-4–SIRPα permettent un ciblage plus sélectif du microenvironnement tumoral, induisant une déplétion préférentielle des lymphocytes T régulateurs (Tregs) intra-tumoraux tout en limitant la toxicité hors cible, notamment vis-à-vis

des érythrocytes. Enfin, l'intégration de CD47 comme antigène tumoral associé dans les

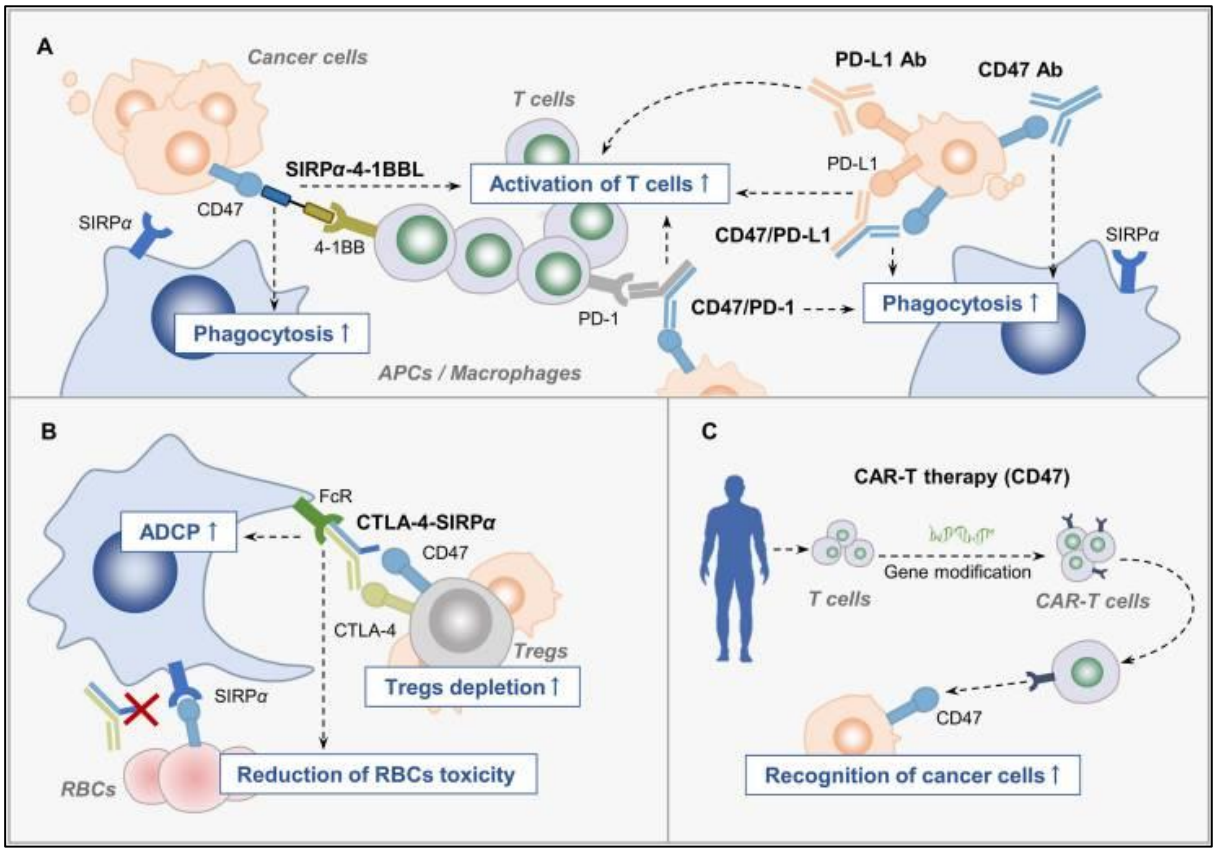


Figure 8 : Les stratégies combinatoires régulent la réponse à médiation cellulaire T **(Ye et al., 2023).**

approches de type CAR-T améliore la reconnaissance des cellules tumorales par les lymphocytes T génétiquement modifiés, augmentant ainsi la spécificité et l'efficacité de leur élimination, tout en remodelant le microenvironnement tumoral vers un état pro-inflammatoire **(Ye et al., 2023)**.

2.1.11 Rôle du CD47 dans la phagocytose des érythrocytes

2.1.11.1 Protection des érythrocytes contre la séquestration splénique

La présence du CD47 à la membrane des érythrocytes constitue le facteur limitant de leur élimination médiée par les macrophages spléniques. En agissant comme un signal de reconnaissance du « soi », cette protéine prévient activement la clairance prématurée des hématies.

L'importance de ce mécanisme est illustrée par l'observation des érythrocytes dépourvus de CD47 : ces derniers subissent une élimination immédiate de la circulation sanguine, régulée par les macrophages de la pulpe rouge splénique. Ces cellules immunitaires s'appuient sur l'absence

du signal CD47 pour distinguer les éléments étrangers ou altérés des cellules saines, déclenchant ainsi une phagocytose par le biais de récepteurs activateurs non spécifiques. Ainsi, le maintien d'un seuil minimal de CD47 membranaire est indispensable à la persistance des globules rouges dans le compartiment vasculaire **(Oldenborg et al., 2000 ; Jajosky et al., 2025).**

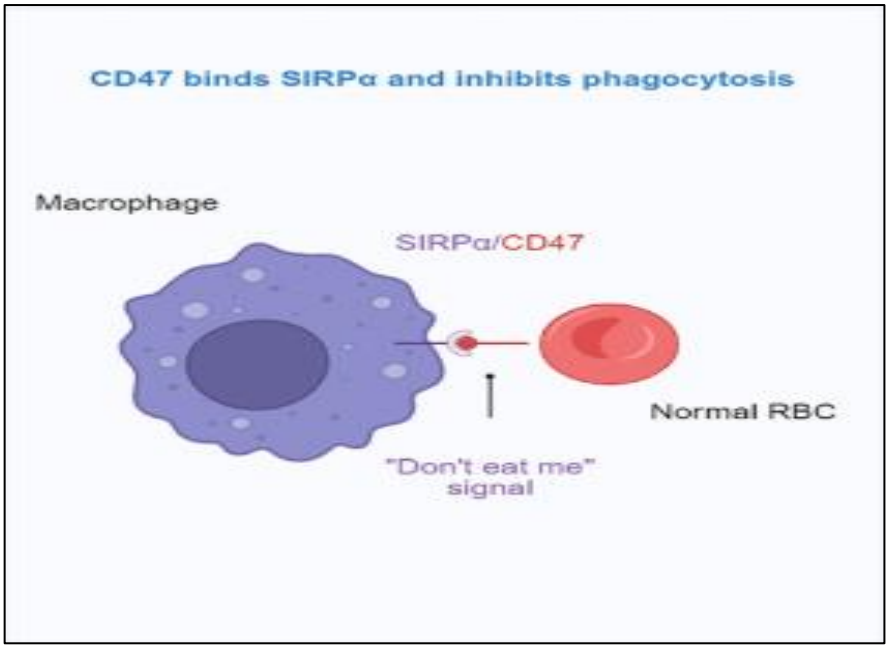


Figure 9 : Schéma qui illustre l'inhibition de la phagocytose des globules rouges par l'interaction CD47/SIRPα **(Y. Wang et al., 2026).**

2.1.11.2 Dynamique membranaire et organisation structurelle

L'efficacité du signal CD47 dépend directement de sa distribution spatiale à la surface de la membrane érythrocytaire. Chez l'humain, cette protéine est initialement répartie sous forme de monomères distribués de manière aléatoire, une configuration qui assure une couverture homogène de la cellule. Cette organisation repose sur une interaction spécifique avec la structure cellulaire : environ 14 % du CD47 membranaire est ancré au cytosquelette. Cet ancrage place le CD47 dans un état dynamique intermédiaire, se situant entre les protéines totalement mobiles, et celles strictement liées à la charpente membranaire **(Yang et al., 2024).**

Bien que le CD47 soit majoritairement monomérique au repos, il conserve une capacité intrinsèque à modifier son organisation en réponse à des stimuli externes. Cette flexibilité lui permet de s'agréger en amas stables, ou clusters, en l'espace de quelques minutes. Ce comportement d'auto-limitation du regroupement est essentiel à sa fonctionnalité, car il régule la densité locale du signal à la surface de l'érythrocyte. Cependant, cette capacité de

réorganisation et la quantité globale de la protéine diminuent lors du vieillissement cellulaire, marquant une étape clé de la sénescence érythrocytaire **(Yang et al., 2024).**

2.1.11.3 Mécanismes de sénescence et de dégradation

La clairance des érythrocytes est régulée par une altération progressive ou brutale du signal CD47. Deux mécanismes distincts participent à ce processus :

Sénescence érythrocytaire :

Au cours du vieillissement des globules rouges, une réduction quantitative du CD47 membranaire est observée. Ce déclin s'accompagne d'une perte de la capacité de clustering de la protéine, diminuant ainsi l'efficacité de l'interaction avec SIRPα et facilitant la reconnaissance par les macrophages **(Yang et al., 2024).**

Régulation par la voie ubiquitine-protéasome :

Dans le contexte de la lyse cellulaire, une régulation active entraîne une diminution drastique du CD47 sur les membranes des « fantômes » d'érythrocytes (reliquats hémolytiques). Ce processus est médié par la dégradation via la voie ubiquitine-protéasome, où l'E3 ubiquitine ligase MARCH 1 agit comme le principal régulateur mécanistique. Cette dégradation programmée du signal CD47 est essentielle pour assurer l'élimination efficace des débris hémolytiques par le système immunitaire **(Y. Wang et al., 2026)**.

2.2 Stabilité et son effet sur la fonction de la protéine : gain ou perte de fonction

2.2.1 Stabilité protéique

Les protéines représentent les macromolécules les plus polyvalentes et dynamiques de la cellule, agissant comme des exécuteurs au sein des processus cellulaires. La stabilité de ces molécules est un facteur déterminant pour le maintien de l'homéostasie et de la fonctionnalité cellulaire **(Manav et al., 2024)**. Cette stabilité se définit par la capacité d'une protéine à conserver sa conformation tridimensionnelle native sous des conditions physiologiques. Propriété fondamentale, la stabilité thermodynamique influence directement la structure, la fonction, l'expression et la solubilité des chaînes polypeptidiques **(Li et al., 2024)**. L'analyse de cette propriété repose désormais sur des approches prédictives in silico permettant de quantifier l'équilibre énergétique des structures. Des outils tels que DUET ou I-mutant sont couramment

employés pour évaluer les paramètres thermodynamiques et les changements d'énergie libre associés au maintien de l'architecture protéique **(Seifi & Walter, 2018)**.

D'un point de vue thermodynamique, la stabilité est quantifiée par la différence d'énergie libre de Gibbs (ΔG) entre l'état natif replié (N) et l'état dénaturé déplié (D) en milieu physiologique **(Ahmad, 2022)**. Le repliement des protéines est régi par plusieurs forces biophysiques, au premier rang desquelles l'effet hydrophobe constitue la force motrice principale **(Sun, 2022)**. Les liaisons hydrogène représentent le second pilier de cette architecture. Elles se forment entre les groupements donneurs et accepteurs du squelette polypeptidique, stabilisant les éléments de structure secondaire tels que les hélices α et les feuillets β, ainsi qu'entre les chaînes latérales des résidus enfouis **(Pace et al., 2014)**.

La cohésion structurale est renforcée par les interactions de van der Waals qui, bien que faibles individuellement, génèrent un effet stabilisant collectif significatif au sein du cœur hydrophobe compact **(Ahmad, 2022)**. Enfin, les ponts disulfures apportent une contribution spécifique. Ces liaisons covalentes, issues de l'oxydation des groupements thiol de deux résidus cystéine, sont les seules interactions de nature covalente, outre les liaisons peptidiques, participant à la stabilisation de la conformation native **(Villanueva et al., 2023)**.

2.2.2 Gain ou perte de fonction

Les effets fonctionnels des mutations missense se répartissent en deux grandes catégories aux mécanismes structuraux bien distincts. Si il y a des mutations pathogènes causent une simple perte de fonction, comme montré pour CD47, où la rupture du pont disulfure inter-domaine déstabilise le domaine IgV et diminue la liaison à SIRPα **(Fenalti et al., 2021b)**. Une part importante agit via des mécanismes alternatifs notamment l'effet dominant-négatif et le gain de fonction qui restent encore moins bien compris. Du côté des mécanismes dominants-négatifs, ils requièrent que la protéine mutante soit suffisamment stable pour s'assembler en complexe avec la protéine sauvage, afin de « contaminer » l'assemblage ; c'est pourquoi ces mutations tendent à avoir de faibles effets déstabilisants prédits, contrairement aux mutations de perte de fonction classiques **(Gerasimavicius et al., 2022)**.

Quant aux mutations de gain de fonction, les mutations dominantes de gain de fonction sont préférentiellement localisées aux interfaces domaine-domaine, tandis que les mutations dominantes-négatives sont enrichies aux interfaces protéine-protéine et protéine-ADN, soulignant ainsi que la localisation tridimensionnelle de la mutation est un déterminant clé de son mécanisme pathogénique **(Badonyi & Marsh, 2025)**.

2.3 Polymorphisme nucléotidique simple (SNP)

2.3.1 Généralités

Les **SNP** (*single nucleotide polymorphisms*) constituent la forme la plus fréquente de variation de l'ADN. Ils se définissent par le remplacement d'une seule base (A, T, C ou G) à une position donnée du génome, avec une fréquence d'au moins **1 %** au sein d'une population. On les dénombre en moyenne toutes les **1 000 paires de bases** dans le génome humain **(Jibon et al., 2025 ; K. Wu et al., 2023 ; L. Z. Wu et al., 2021).**

Ces variations, consistant le plus souvent en une substitution nucléotidique, sont présentes tant dans les régions codantes que non codantes (exons, introns, zones intergéniques, ainsi qu'en amont et en aval des gènes). En tant que marqueurs génétiques très abondants, les SNP sont utilisés pour la cartographie des gènes, l'étude des populations et le suivi des allèles **(Thanthirige et al., 2025).**

Au sein des régions codantes, un SNP peut être classé en deux catégories distinctes selon son impact sur la séquence protéique. Un SNP synonyme ne modifie pas l'acide aminé incorporé en raison de la dégénérescence du code génétique, mais il reste susceptible d'influencer la cinétique de la traduction ou la stabilité de l'ARNm. À l'inverse, un SNP non synonyme (ou nsSNP/missense) provoque le changement d'un acide aminé, ce qui peut altérer la structure, la stabilité ou la fonction de la protéine, contribuant ainsi au développement de nombreuses maladies génétiques **(Jibon et al., 2025).**

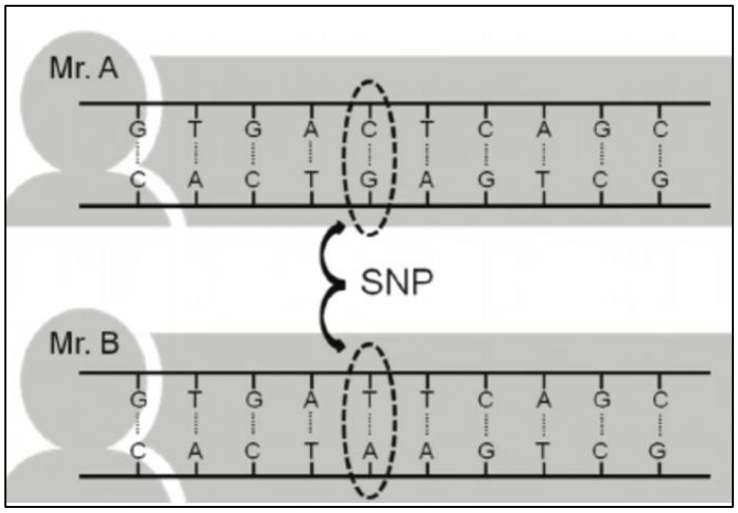


Figure 10 : Schéma illustrant le polymorphisme nucléotidique simple **(Hashiyada, 2011).**

2.3.2 Rôle des SNP dans le cancer et la résistance au traitement

Les polymorphismes mononucléotidiques (SNPs) jouent un rôle déterminant dans le cancer et la résistance thérapeutique en modifiant la structure et la fonction des protéines, ainsi que l'expression des gènes. Par exemple, les m6A-SNPs altèrent les voies de signalisation PI3K-Akt et Wnt, ce qui contribue à la résistance aux thérapies combinées (endocrines et inhibiteurs de CDK4/6) dans le cancer du sein ER+ **(Ming et al., 2025)**. De même, des SNP non synonymes dans le gène *AKT2*, telles que R274H et R467W, perturbent la liaison des inhibiteurs ciblés et favorisent la résistance aux traitements anticancéreux **(Runa et al., 2025).**

Chez les patients atteints de mésothéliome malin, certains SNPs du gène *HIF1A* sont associés à une réponse affaiblie à la chimiothérapie par cisplatine **(Setina et al., 2025)**. Parallèlement, l'expression ou les SNPs du gène *CYP24A1* sont corrélés à une survie plus brève et à une résistance accrue aux médicaments dans plusieurs types de cancers **(Zeng et al., 2022).** De plus, des SNPs situés dans les gènes de réparation de l'ADN influencent le pronostic et la réponse aux traitements par platine chez les patients souffrant de cancer du poumon **(Afifah et al., 2025).** Ces observations soulignent l'importance des SNPs comme biomarqueurs pour prévoir la résistance thérapeutique et orienter les stratégies de médecine personnalisée en oncologie.

2.3.3 Défis et limites

La distinction entre SNP neutres et SNP fonctionnels ou causaux reste un défi majeur, car beaucoup de SNP identifiés sont en réalité des marqueurs en déséquilibre de liaison avec un variant causal, ce qui complique l'interprétation biologique. La détection des SNP rares, souvent présents à très faible fréquence dans un excès d'ADN sauvage, est particulièrement difficile avec les méthodes classiques comme les puces à SNP, qui montrent une faible valeur prédictive positive pour ces variants rares et génèrent de nombreux faux positifs **(Mn et al., 2021)**. Pour surmonter ces limites techniques, des biosenseurs ultrasensibles basés sur la nanotechnologie sont développés, permettant une détection spécifique et rapide des SNP à faible abondance sans recourir à la PCR, ce qui réduit le temps et la complexité des analyses **(Mukhtar et al., 2021)**.

Par ailleurs, des procédures avancées de contrôle qualité appliquées aux données de puces à SNP permettent d'améliorer la fiabilité du génotypage des variants rares, mais nécessitent souvent une validation expérimentale complémentaire par séquençage **(Sun et al., 2021).**

2.4 Modifications post-traductionnelles

2.4.1 Généralités

Les modifications post-traductionnelles (PTM) correspondent aux transformations chimiques subies par les protéines après leur synthèse ribosomale. Agissant comme un système de régulation épigénétique, elles permettent à la cellule d'ajuster ses fonctions en réponse à des signaux de développement ou des contraintes environnementales. La diversité de ces modifications est vaste : plus de 400 types ont été identifiés, les plus documentées étant la phosphorylation, la glycosylation, l'acétylation et l'ubiquitination **(Ramazi & Zahiri, 2021 ; Dutta & Jain, 2023)**.

Sur le plan structural, les PTM modifient les propriétés physico-chimiques des acides aminés, entraînant parfois des remaniements du squelette protéique par clivage ou cyclisation. Ces changements sont déterminants car ils augmentent la diversité du protéome bien au-delà de ce que prévoit le code génétique initial. En agissant sur la structure tridimensionnelle, ces modifications régulent des paramètres vitaux tels que l'activité enzymatique, la localisation de la protéine dans la cellule et l'établissement des interactions protéine-protéine (PPI) **(Dutta & Jain, 2023).**

La mise en place des PTM résulte d'un équilibre entre des processus hautement régulés. Si la majorité de ces modifications sont catalysées par des enzymes spécifiques au sein de voies métaboliques complexes, d'autres surviennent de manière non enzymatique sous l'influence directe de l'environnement cellulaire. Ce double mécanisme permet une modulation dynamique et précise des processus biologiques, reflétant l'interaction constante entre le génome et les facteurs externes **(Pan & Chen, 2022 ; Ramazi & Zahiri, 2021).**

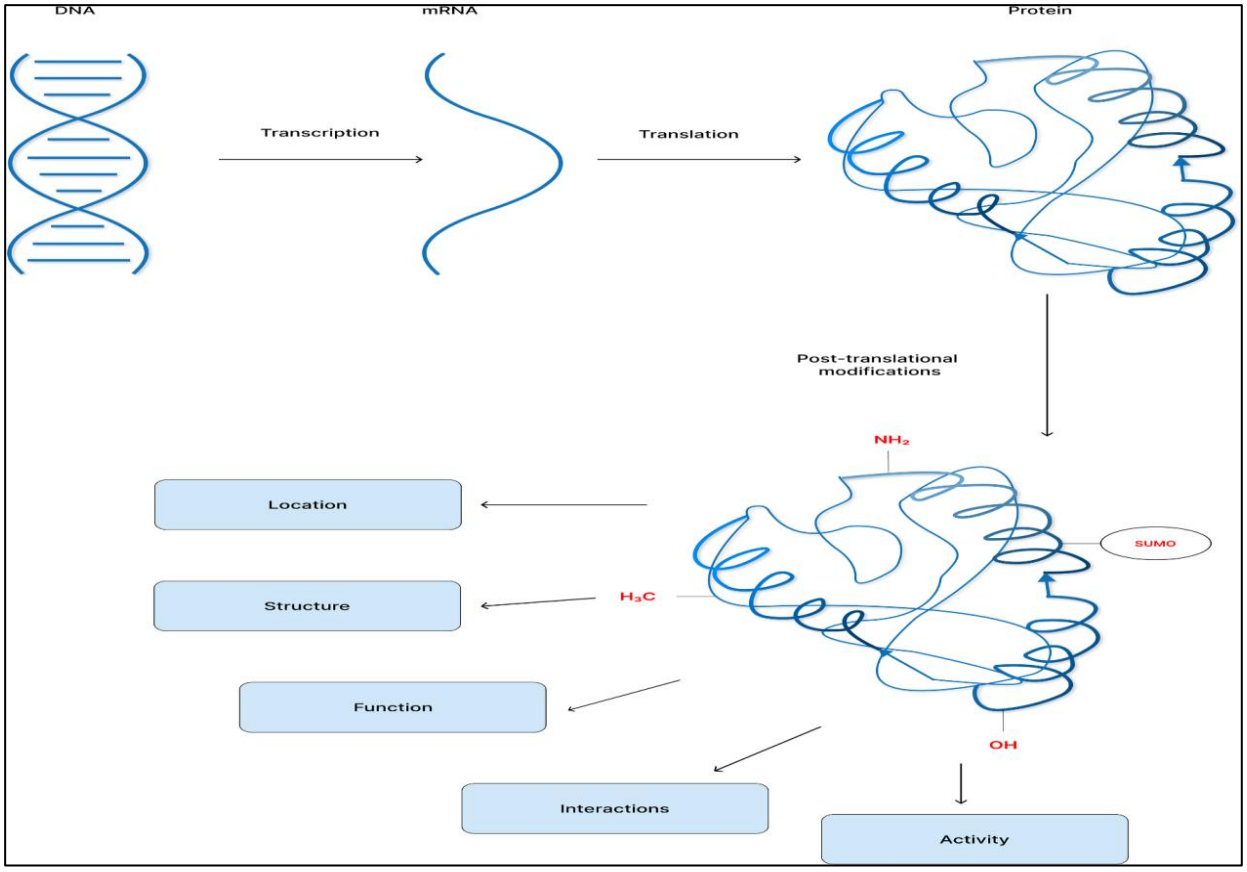


Figure 11 : Illustration montrant la diversité des protéomes grâce aux modifications post traductionnelles **(Dutta & Jain, 2023).**

2.4.2 La phosphorylation

La phosphorylation représente l'une des modifications post-traductionnelles les plus fondamentales et universelles, intervenant principalement dans le cytosol et le noyau pour réguler l'activité protéique. Ce processus enzymatique consiste en l'ajout d'un groupement phosphate, provenant de l'adénosine triphosphate (ATP), sur les résidus d'acides aminés d'une protéine cible. Cette réaction est catalysée par des enzymes spécifiques nommées protéine kinases **(Wu et al., 2023).**

Le caractère dynamique de ce mécanisme repose sur sa réversibilité : les protéine phosphatases assurent la déphosphorylation en éliminant les groupements phosphates. L'équilibre entre l'action des kinases et des phosphatases détermine ainsi l'état de phosphorylation d'une protéine à un instant donné. Bien que la phosphorylation puisse affecter divers résidus (cystéine, arginine, aspartate, etc.), les cibles les plus fréquentes sont la sérine (Ser), la thréonine (Thr) et la tyrosine (Tyr). En fonction de leur spécificité de substrat, les kinases sont d'ailleurs classées en trois groupes principaux : les sérine, thréonine et tyrosine kinases **(Wu et al., 2023).**

Sur le plan fonctionnel, la phosphorylation assure un contrôle rapide et réversible de l'activité protéique à travers deux modalités mécanistiques majeures. D'une part, elle intervient via une régulation allostérique où l'ajout du groupement phosphate induit un changement de conformation structurale, activant directement l'activité enzymatique de la cible. D'autre part, la phosphorylation participe à la transduction de signal en créant des domaines d'interaction spécifiques qui favorisent le recrutement de molécules de signalisation partenaires. Lesquels assurent la médiation de la conformation auto-inhibée de certains domaines tyrosine kinases. L'intégration de ces deux processus permet ainsi une modulation à la fois précise et quasi instantanée des voies de signalisation cellulaire **(Wu et al., 2023).**

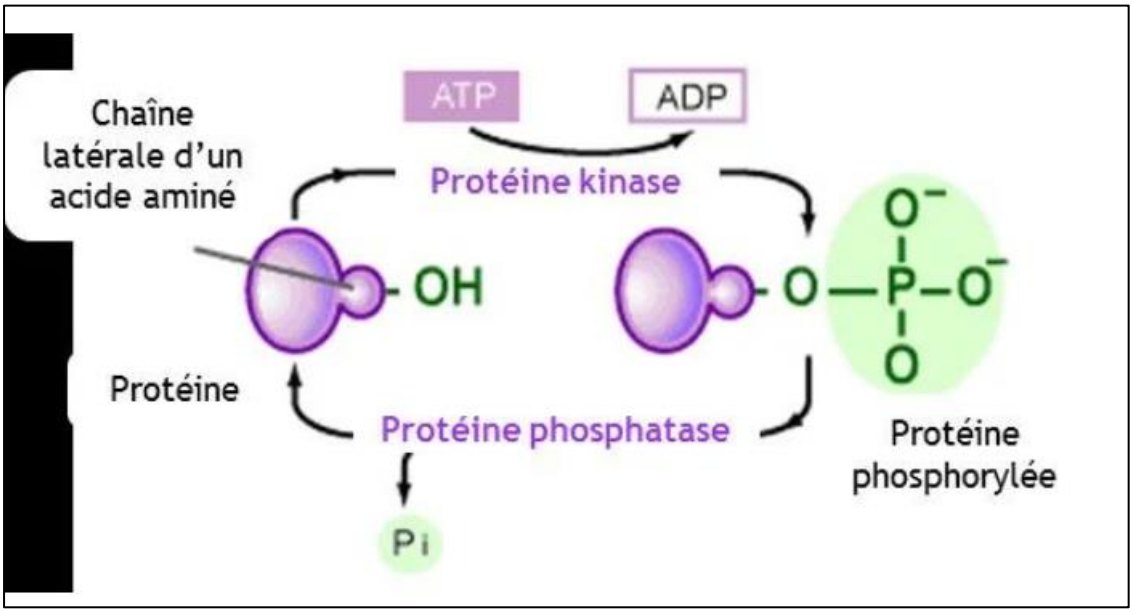


Figure 12 : Schématisation des mécanismes de phosphorylation/déphosphorylation **(Vandomme, 2014).**

2.5 Analyse *in silico*

2.5.1 Généralités

L'analyse *in silico* désigne l'utilisation de méthodes informatiques et de simulations pour étudier des phénomènes biologiques, chimiques ou médicaux sans recourir à des expériences physiques directes. Elle englobe diverses techniques comme le criblage virtuel, la modélisation moléculaire, la prédiction de structures protéiques, la dynamique moléculaire, et les analyses bioinformatiques pour interpréter des données complexes **(Al-Mohaya et al., 2024; Pappalardo et al., 2024).**

2.5.2 Applications en oncogénétique

L'analyse *in silico* s'avère indispensable en génétique et en oncologie pour caractériser, de manière rapide et massive, les conséquences fonctionnelles des variations génomiques. Cette méthode se concentre particulièrement sur les mutations ponctuelles de type faux-sens (*missense*) au sein des gènes impliqués dans les processus cancéreux. À l'aide de ressources bio-informatiques, elle permet d'estimer l'influence de ces variants sur l'intégrité structurale et l'activité des protéines, facilitant ainsi le repérage des mutations délétères ou de celles favorisant l'évolution des tumeurs **(Iqbal et al., 2024)**. En combinant des données issues de la génomique, de la transcriptomique et de la protéomique, ces stratégies approfondissent la compréhension des processus moléculaires pathologiques et aident à la découverte de nouveaux biomarqueurs ou de cibles pour le traitement **(Marques et al., 2024).**

Ces modèles numériques exploitent l'intelligence artificielle et le machine learning leur permettant d'explorer de vastes ensembles de données complexes. Ces technologies optimisent la fiabilité des prédictions, accélérant par conséquent le développement de molécules thérapeutiques et le déploiement de la médecine de précision **(Aburagaegah & Wajiej, 2025 ; Al-Mohaya et al., 2024).**

2.5.3 Avantages et limites de l'analyse *in silico*

Un avantage majeur de ces modèles numériques est la réduction des échecs lors du développement de médicaments, offrant par la même occasion une alternative éthique à l'expérimentation animale **(Mittal et al., 2025).**

Certaines limites persistent néanmoins. L'évaluation de l'absorption orale ou de la biodisponibilité reste complexe par la seule voie informatique. Le manque de transparence des algorithmes internes de certains logiciels peut également freiner l'interprétation des résultats. Enfin, des divergences apparaissent encore entre les simulations numériques et les observations réelles réalisées en laboratoire **(Al-Mohaya et al., 2024).**

2.6 Problématique et objectifs

2.6.1 Problématique

De nombreuses études ont révélé la surexpression du CD47 dans presque tous les types de tumeurs solides et hématologiques. Cette expression membranaire accrue sur les cellules tumorales leur permet d'échapper au système immunitaire inné en émettant un puissant signal

"don't eat me". Ce signal inhibe spécifiquement la phagocytose médiée par les macrophages et autres cellules phagocytaires via l'interaction avec le récepteur SIRPα.

En raison de son rôle central dans l'échappement tumoral, le CD47 est émergé comme une cible thérapeutique innovante contre le cancer. Le blocage pharmacologique de l'interaction CD47/SIRPα restaure la capacité du système immunitaire à reconnaître et éradiquer les cellules cancéreuses de manière plus efficace, favorisant ainsi une réponse immunitaire antitumorale robuste.

Bien que l'immunothérapie utilisant des anticorps anti-CD47 ait affiché des résultats prometteurs dans divers essais cliniques de phase I/II, une résistance thérapeutique a été observée chez certains patients, limitant l'efficacité globale du traitement. Cette variabilité interindividuelle soulève des questions cruciales sur les facteurs génétiques sous-jacents. Dans ce contexte, quels polymorphismes exercent des effets stabilisateurs sur la structure tridimensionnelle et donc sur la fonction de la protéine CD47 ? Quelles variations génétiques favorisent, par ailleurs, le bon déroulement de la signalisation "don't eat me" via l'axe CD47/SIRPα ?

2.6.2 Objectifs

L'objectif principal de ce travail est l'analyse *in silico* des polymorphismes ayant un impact fonctionnel sur la protéine **CD47** et sur son interaction avec son ligand **SIRPα**. Pour ce faire, nous avons défini les axes suivants :

- **Identification** des polymorphismes de nucléotides simples (SNPs) faux-sens du gène CD47.
- **Filtration** des mutations afin d'éliminer celles ayant un impact pathogène sur la protéine CD47.
- **Identification** des domaines conservés de la protéine.
- **Analyse** de l'effet des SNPs faux-sens sur la stabilité protéique.
- **Analyse structurale** des variations sélectionnées.
- **Simulation statique et évaluation des énergies d'interactions via FoldX** du complexe CD47/SIRPα, des protéines mutées avec les variations choisies.
- **Docking moléculaire et visualisation** des protéines mutées (CD47) par FoldX**.**

2.6.3 But

Identifier les substitutions faux-sens qui augmentent ou conservent la stabilité protéique du CD47 et par ailleurs l'interaction avec son ligand SIRPα, renforçant ainsi le signal « don't eat me ».

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

3 Chapitre II : Matériel et méthodes

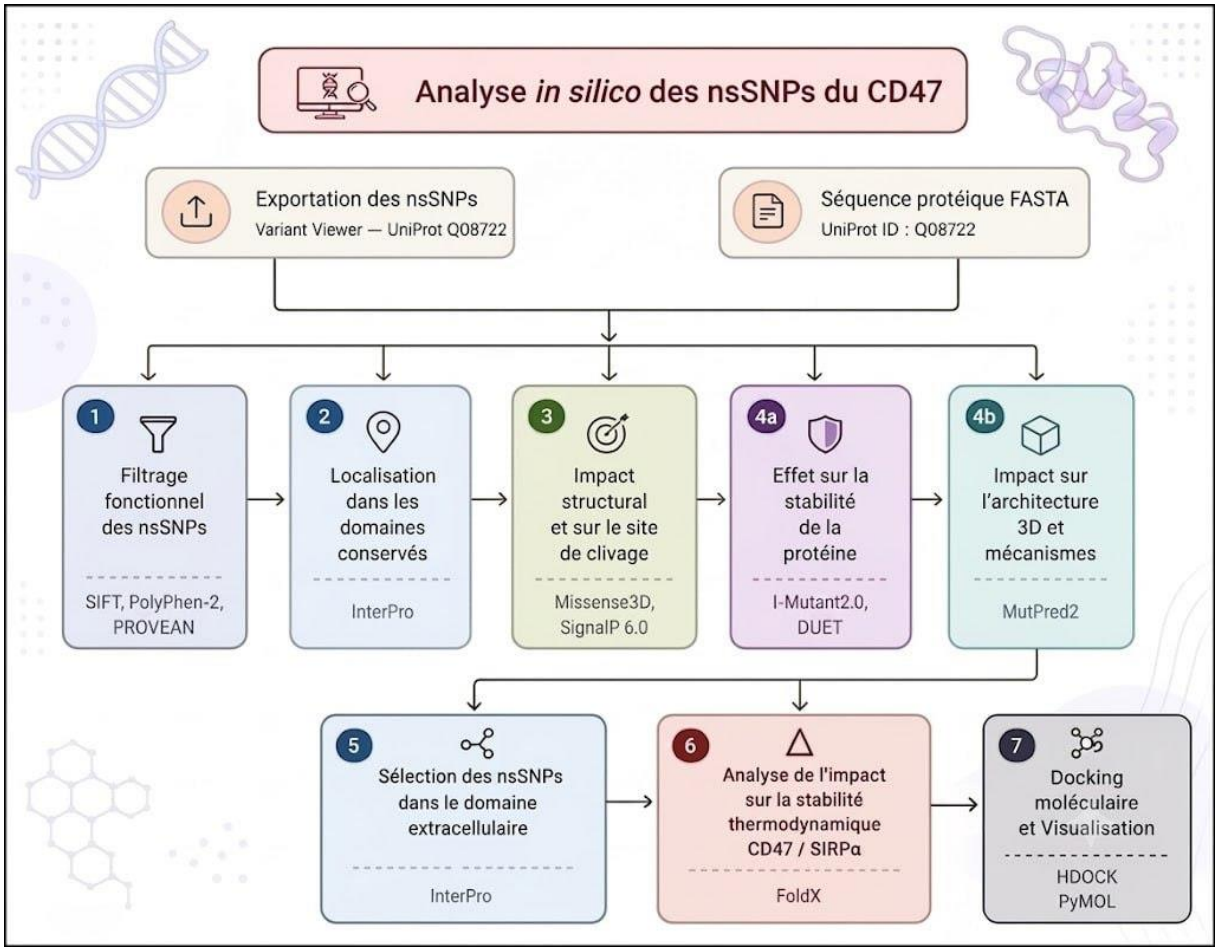


Figure 13 : Study design.

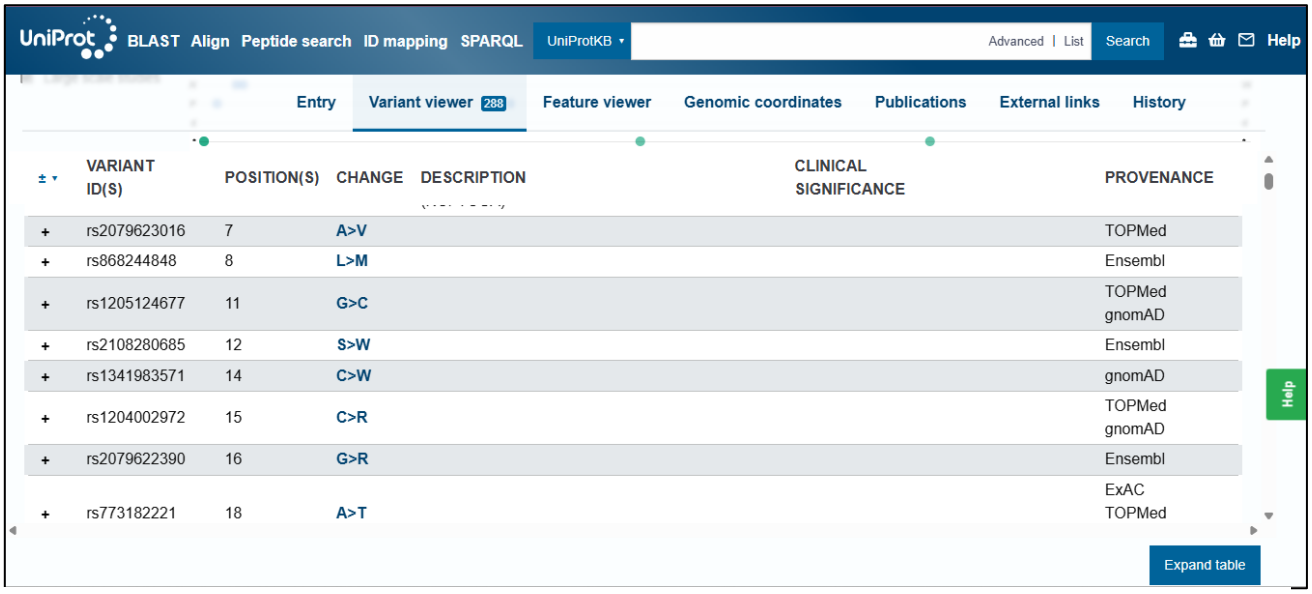


Figure 14 : Interface de visualisation des variants protéiques à partir de variant viewer.

Pour récupérer la séquence protéique en format FASTA du CD47 on a choisi la base de données UniProtKB (https://www.uniprot.org/), et de la même plateforme par le biais de variant viewer on a pu exporter la liste des nsSNPs de la protéine CD47.

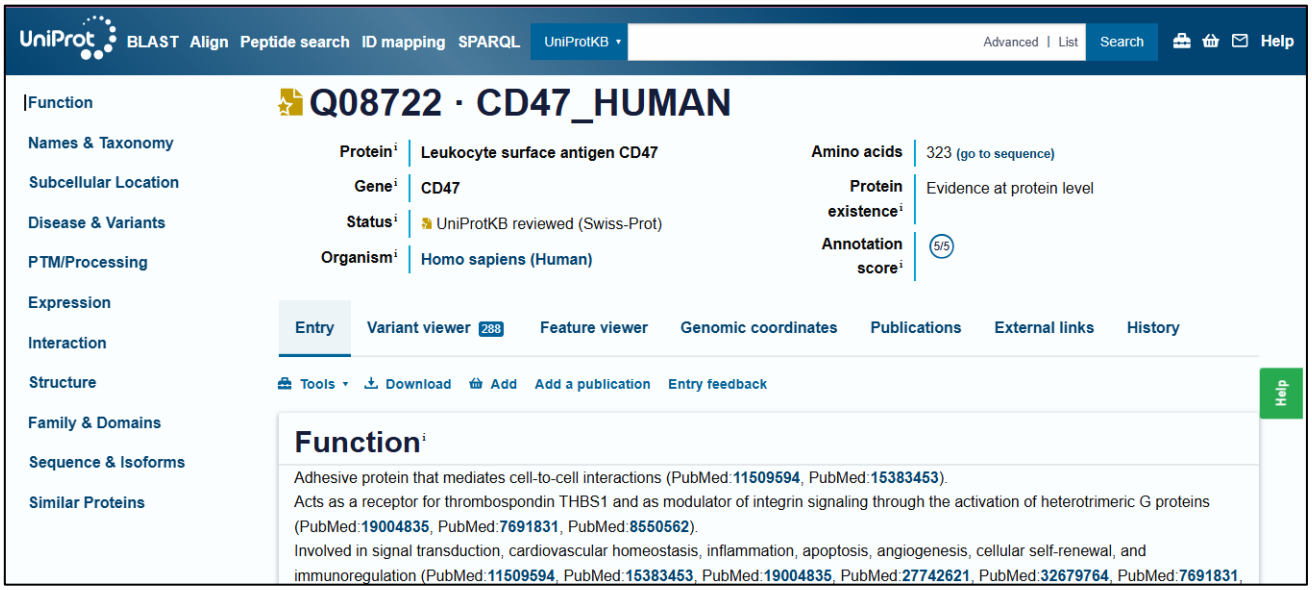


Figure 15 : interface de consultation de la séquence protéique du CD47 sur la base de données UniProt.

3.1 Prédiction des nsSNPs tolérées

Pour prédire l'impact fonctionnel des nsSNPs, nous avons utilisé trois méthodes complémentaires : Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT) (https://sift.bii.a-star.edu.sg/), Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen- 2) (http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/), Protein Variation Effect Analyzer (PROVEAN) (http://provean.jcvi.org/index.php).

L'outil **PolyPhen-2** évalue l'impact des substitutions d'acides aminés à partir de onze paramètres biophysiques : huit descripteurs issus de l'alignement de séquences et descripteurs structuraux. Ces variables, sélectionnées par un algorithme d'optimisation itératif, permettent de quantifier les divergences entre le résidu sauvage (ancestral) et le variant muté. Le score de prédiction final est ainsi déterminé par l'analyse comparative des propriétés physico-chimiques et de la conservation évolutive de ces deux états **(Adzhubei et al., 2010)**.

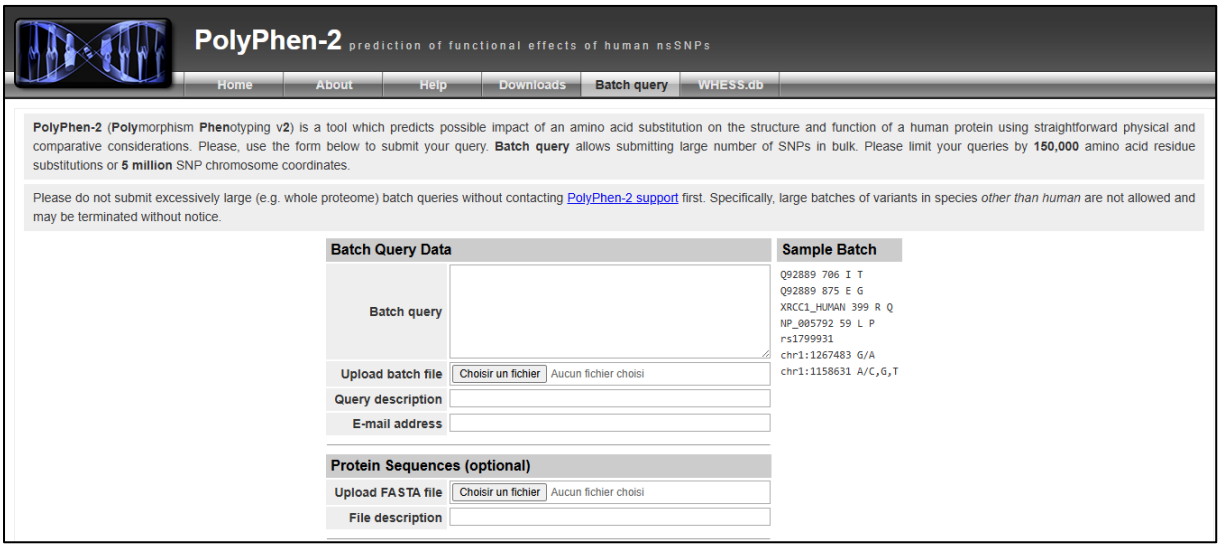


Figure 16 : l'outil bio-informatique polyphen-2.

Tableau 2 : Classification des scores de prédiction fonctionnelle (PolyPhen-2) **(Adzhubei et al., 2010).**

Catégorie qualitative	**Plage de score (P)**	**Interprétation biologique**
Probably Damaging	0,909 ≤P ≤ 1,000	Altération structurelle hautement probable
Possibly Damaging	0,447 ≤ P≤ 0,908	Effet fonctionnel incertain mais suspecté
Benign	0,000 ≤ P≤ 0,446	Substitution neutre ou tolérée

L'algorithme **SIFT** utilise l'information de conservation évolutive issue d'alignements de séquences multiples. Après avoir identifié et aligné les séquences homologues fonctionnellement liées à la requête, SIFT calcule un score de probabilité normalisée pour

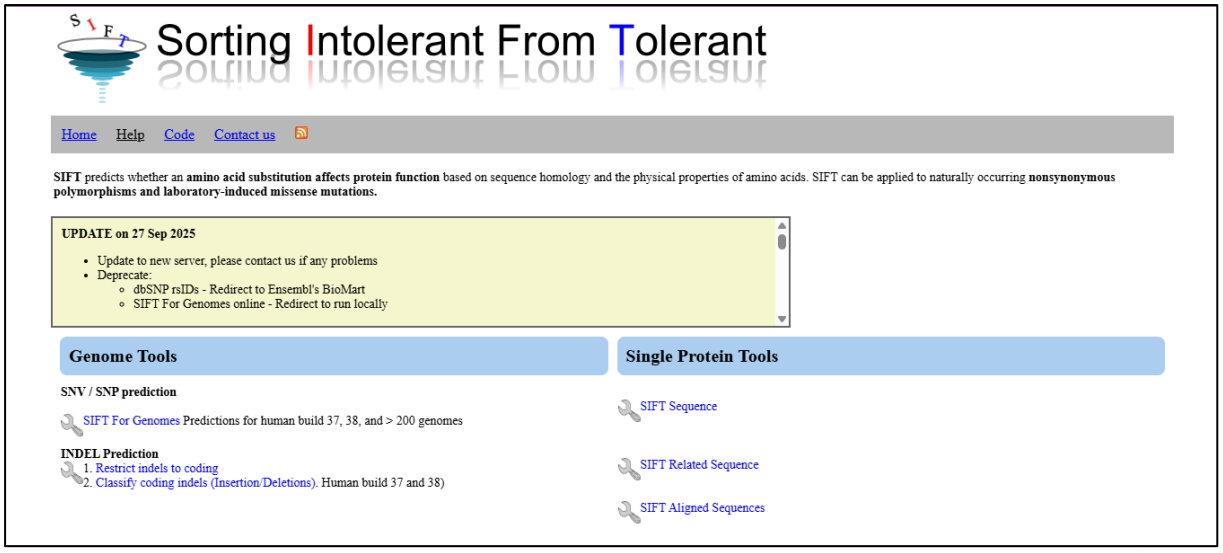


Figure 17 : outil bio-informatique SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant).

chaque acide aminé. Le seuil de significativité retenu pour qualifier une substitution "délétère" est un score de < 0,05, alors qu'un score ≥0,05 indique une mutation "tolérée" **(Ng & Henikoff, 2001).**

L'outil bioinformatique **PROVEAN** (Protein Variation Effect Analyzer) est utilisé pour prédire l'impact fonctionnel des polymorphismes nucléotidiques simples (SNP), des insertions ou des délétions sur la structure biologique d'une protéine**(Kamal et al., 2025)**. En s'appuyant sur une méthode de score basée sur l'alignement de séquences, le logiciel classe les variants selon un seuil critique de -2,5 : tout score inférieur ou égal à cette valeur est considéré comme délétère, tandis qu'un score supérieur est interprété comme neutre **(Younus et al., 2018)**.

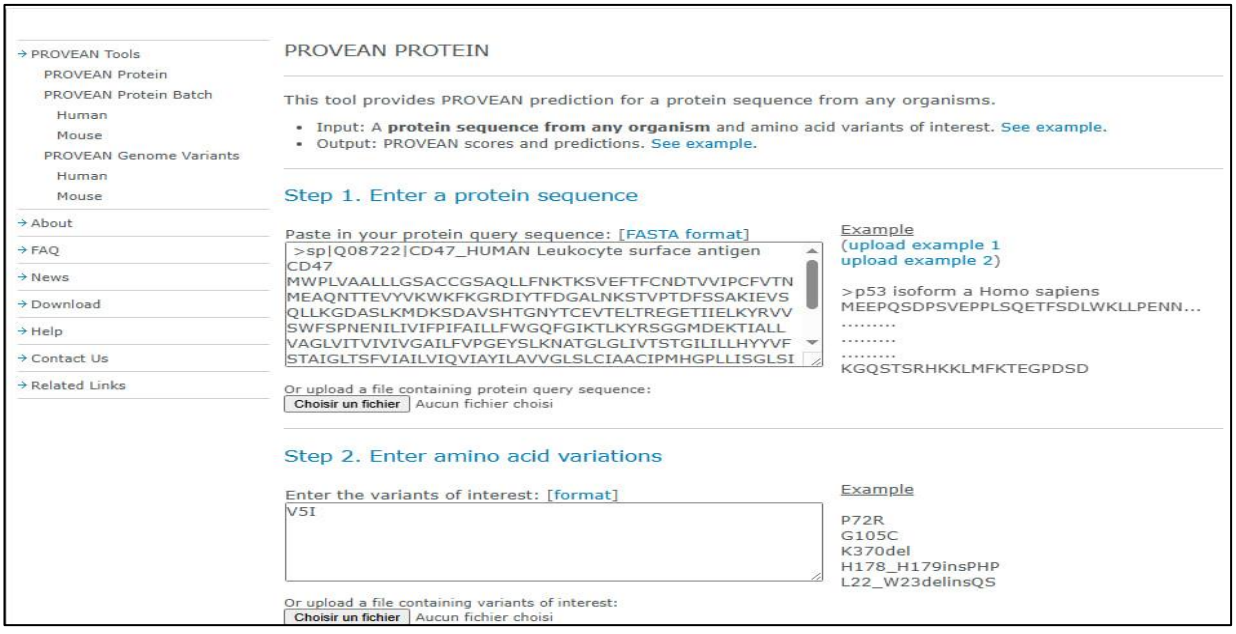


Figure 18 : Protein Variation Effect Analyzer (PROVEAN).

3.2 Identifications des substitutions dans les domaines conservés du CD47

L'identification des domaines protéiques et des motifs conservés a été réalisée via le portail **InterPro**(https://www.ebi.ac.uk/interpro/), qui combine les signatures de plusieurs bases de données de référence au sein d'une interface unique. Cette consolidation des ressources permet une caractérisation approfondie des séquences en éliminant les redondances et en exploitant la spécificité de chaque base de données constitutive **(Blum et al., 2025).**

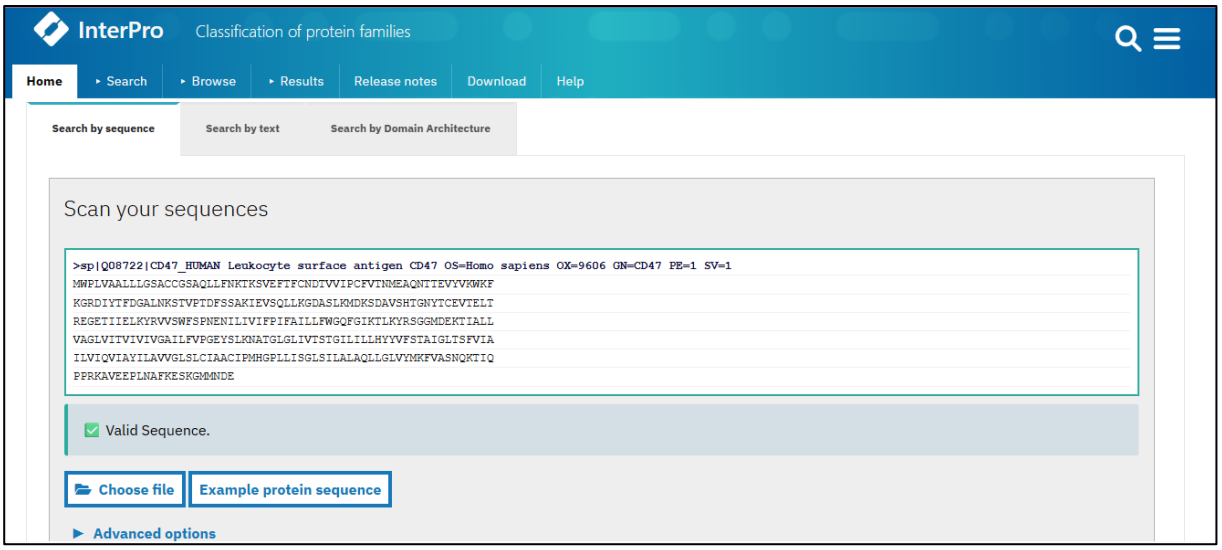


Figure 19 : l'outil bio-informatique InterPro.

3.3 Analyse de l'impact structural des nsSNPs

L'effet des variants faux-sens sur l'intégrité structurale du CD47 a été analysé via la plateforme **Missense3D** (https://missense3d.bc.ic.ac.uk/). Cet outil permet de prédire si une substitution d'acide aminé induit un dommage structurel en examinant les modifications des interactions atomiques au sein de la structure tertiaire de la protéine **(Ittisoponpisan et al., 2019).**

Le protocole d'analyse a reposé sur les deux composantes du logiciel :

- **Missense3D (Standard) :** utilisé pour détecter les dommages structuraux internes à la protéine (ex : encombrement stérique, rupture de liaisons, modification du cœur hydrophobe) **(Ittisoponpisan et al., 2019).**
- **Missense3D-PPI :** analyse spécifiquement les variants situés aux interfaces d'interaction protéine-protéine **(Ittisoponpisan et al., 2019).**

Pour les régions de la protéine CD47 non résolues expérimentalement ou absentes du fichier cristallographique (PDB : **2JJS**), nous avons eu recours aux modèles de prédiction de haute précision issus de la base de données **AlphaFold Protein Structure Database (**AF-Q08722-F1-v6).

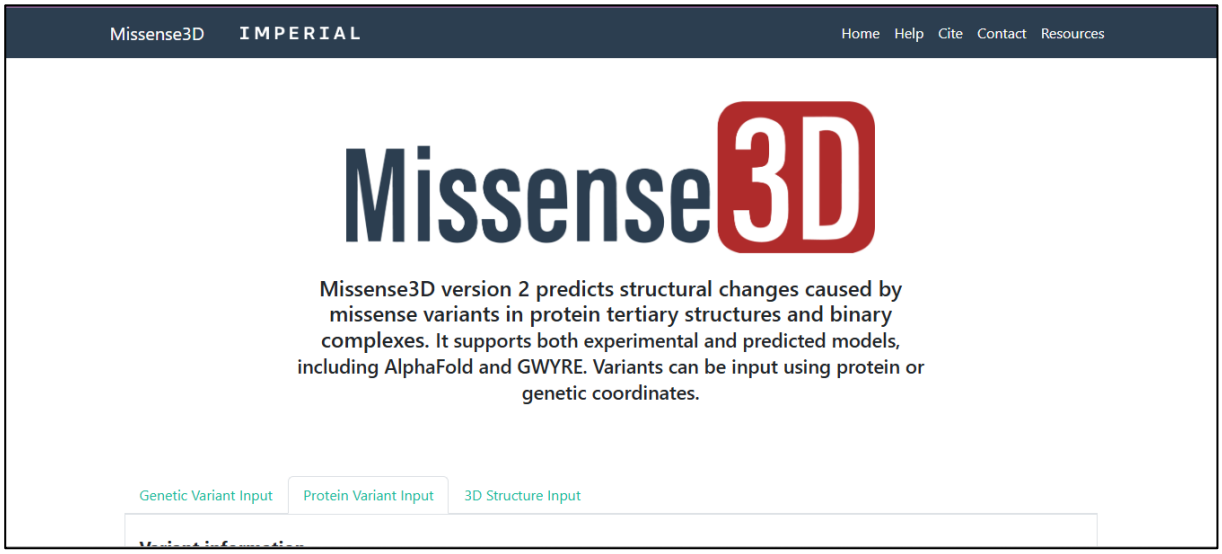


Figure 20 : l'outil bio-informatique MISSENSE 3D.

L'évaluation de l'impact des SNPs a été aussi réalisée à l'aide de l'outil bio-informatique

On a effectué une analyse via **SignalP 6.0** (https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/), qui est un outil de prédiction des peptides signaux basé sur l'apprentissage profond, en introduisant la séquence protéique indique s'il existe un peptide signal, son type, son site de clivage et la structure de ses sous-régions. On a commencé par introduire la séquence protéique

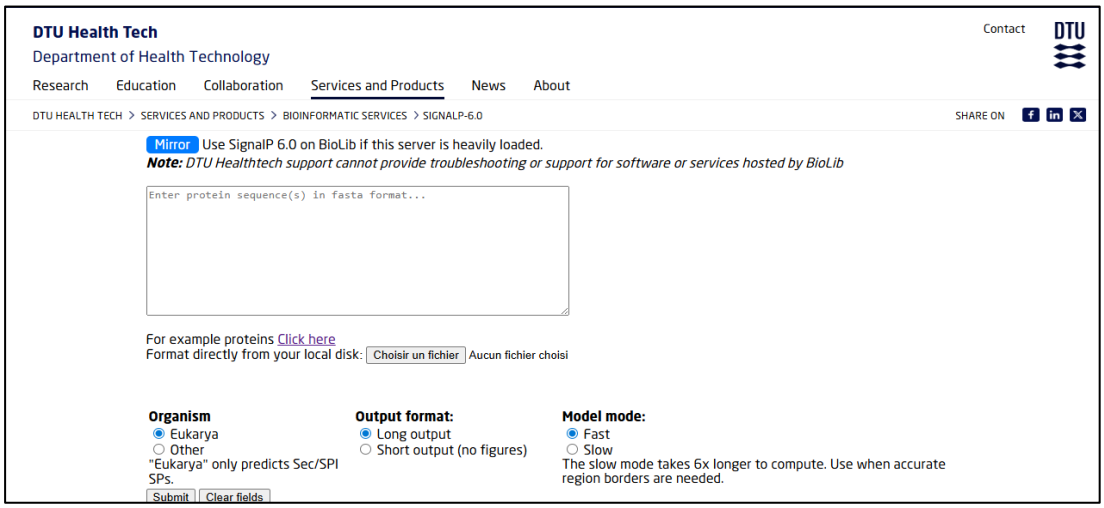


Figure 21 : l'outil bio-informatique SignalP 6.0.

sauvage, pour voir le site de clivage et la séquence signal normal, ensuite on a introduit la séquence mutée à partir de notre liste de SNP pour comparer les résultats et voir l'impact des variations sur les peptides signal **(Teufel et al., 2022).**

3.4 Analyse de l'effet des nsSNPs sur la stabilité de la protéine

Pour analyser l'effet des nsSNP sur la stabilité de la structure protéique et de sa fonction on a utilisé plusieurs outils, commençant par I-Mutant (https://folding.biofold.org/i-mutant/i-mutant2.0.html) et aussi l'outil bio-informatique DUET (https://biosig.lab.uq.edu.au/duet/).

L'analyse structurale, la structure de la protéine (PDB ID : 2JJS) a été récupérée via la base de données PDBe (Protein Data Bank in Europe).

Étant donné que le fichier 2JJS ne couvrait pas l'intégralité des positions mutées, les régions manquantes ont été complétées en utilisant le modèle prédictif AF-Q08722-F1-v6 issu de la base de données AlphaFold. Cette approche hybride a permis d'obtenir une couverture structurale complète de la protéine.

Pour le serveur **I-Mutant2.0**, c'est un outil de prédiction fondé sur les Machines à Vecteurs de Support (SVM). Les mutations sont classées selon leur effet stabilisant ou déstabilisant. L'analyse a été effectuée en utilisant la séquence comme donnée d'entrée, une approche dont la fiabilité est estimée entre 77 % et 80 % en validation croisée. Afin de simuler des conditions physiologiques, les prédictions ont été paramétrées avec une température de 37°C et un pH de 7 **(Ajith & Subbiah, 2023).**

Ce modèle a été entraîné sur un jeu de données issu de la base ProTherm, référence actuelle regroupant les données expérimentales de mutations protéiques. Cette base permet au serveur d'évaluer la variation d'énergie libre de repliement (ΔΔG) consécutive à une substitution d'acide aminé **(Bava et al., 2004).** Cette démarche nous a permis de quantifier les variations d'énergie libre et d'identifier les variants compromettant l'intégrité structurale de la protéine

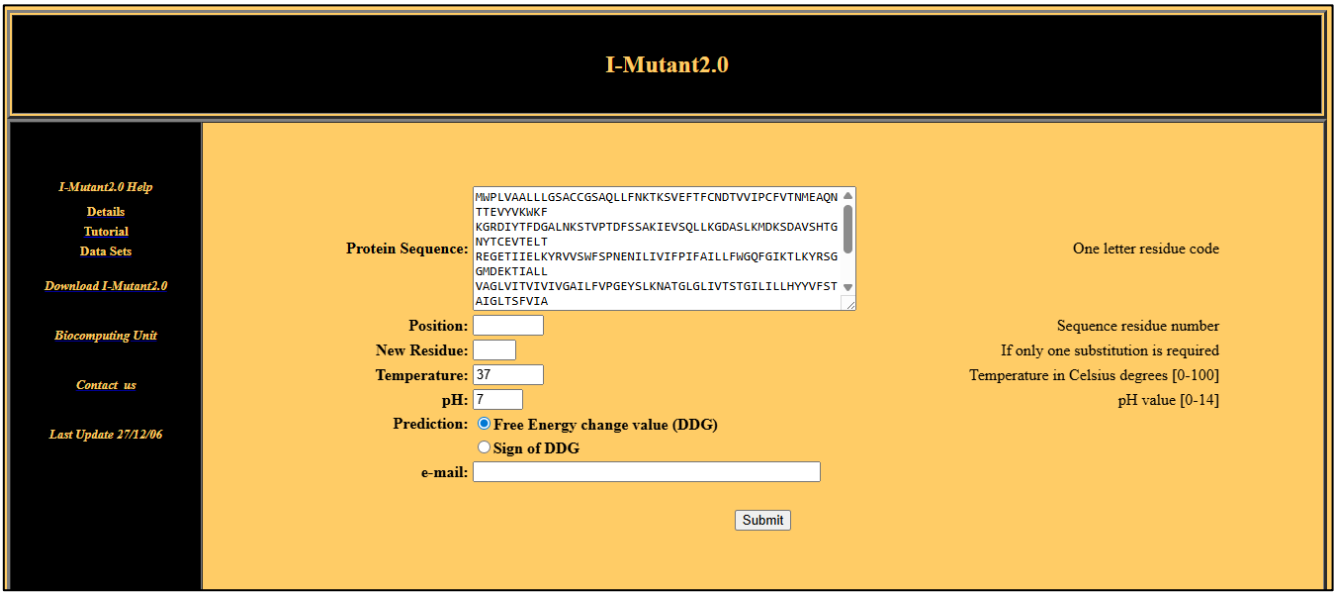


Figure 22 : le serveur I-mutant2.0.

l'impact des mutations ponctuelles sur la stabilité thermodynamique a été évalué via le serveur **DUET**, un outil consensuel combinant les algorithmes mCSM-Stability et SDM pour calculer la variation d'énergie libre de repliement (ΔΔG) **(Pan et al., 2022)**. Dans ce cadre, une valeur négative indique une mutation déstabilisante (codée en rouge), tandis qu'une valeur positive signale une mutation stabilisante (codée en bleu) pour l'édifice protéique **(Pires et al., 2014)**.

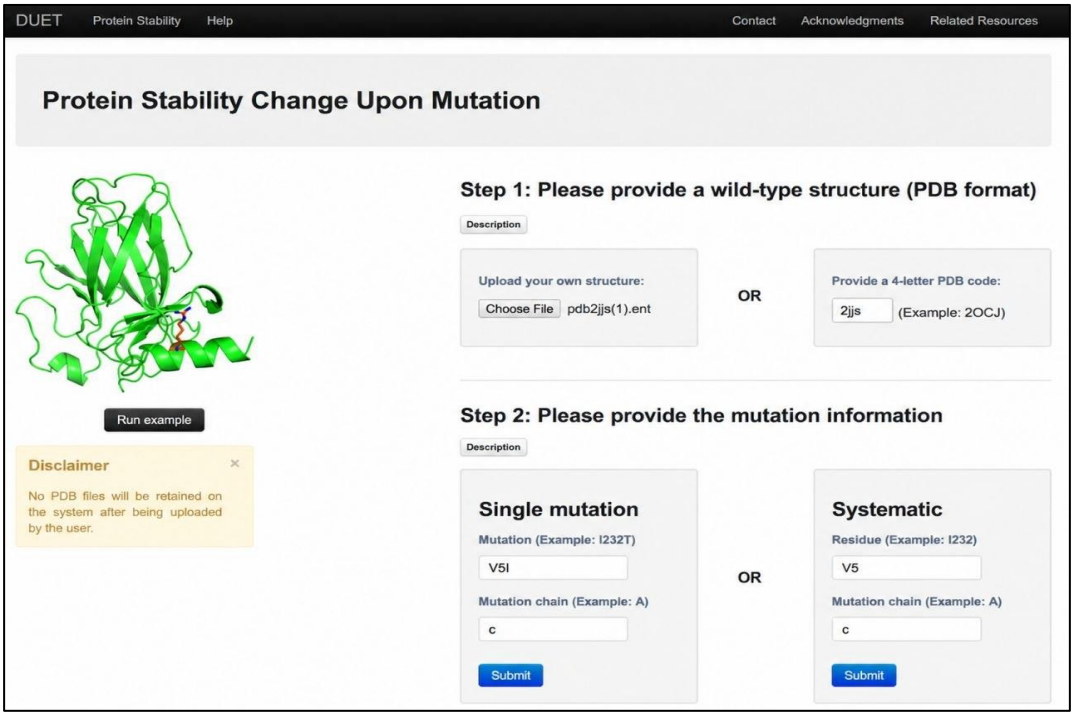


Figure 23 : L'outil bio-informatique DUET.

MutPred2 (https://mutpred.mutdb.org/), qui intègre des données génétiques et moléculaires via un modèle d'apprentissage automatique de type positive-unlabeled learning basé sur l'estimation de probabilités a priori et a posteriori.

Cette approche permet une double exploitation des données, associant une évaluation quantitative, par le calcul d'un score de pathogénicité global reflétant la probabilité que le variant soit délétère, à une interprétation mécanistique identifiant une liste classée d'altérations moléculaires spécifiques, qu'elles soient structurelles ou fonctionnelles. Ainsi, l'utilisation de cette modélisation probabiliste permet de prioriser les variants d'intérêt tout en générant des hypothèses sur les modifications de la structure ou de la fonction protéique susceptibles d'induire le phénotype observé **(Pejaver et al., 2020).**

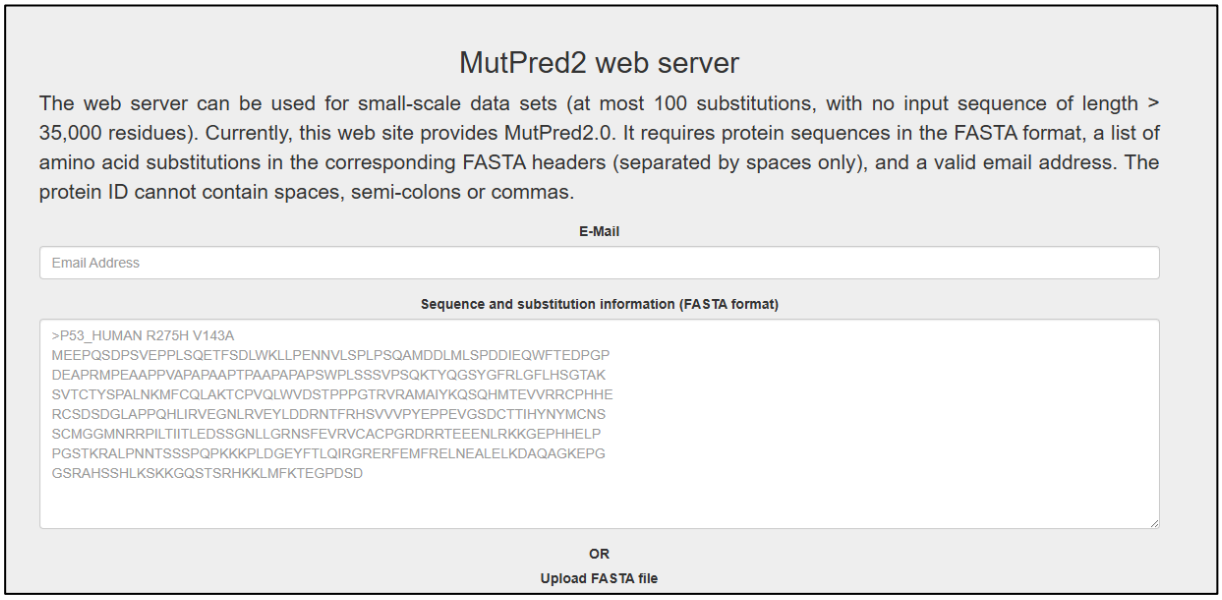


Figure 24 : l'outil bio-informatique MutPred2

3.5 Étude de la stabilité thermodynamique et de l'impact des mutations via FoldX

L'évaluation de l'impact structural et énergétique des polymorphismes nucléotidiques simples (nsSNP) ciblés sur l'interaction du CD47 avec SIRPα a été réalisée sur le domaine extracellulaire de la protéine. Cette analyse a été menée à l'aide du logiciel FoldX, en utilisant la structure cristallographique de référence issue de la base de données PDB sous le code **2JJS**. Les dix variations d'acides aminés étudiées comprennent les variants suivants : F32Y, D80G, Q90R, K102E, K102R, K102T, S107L, R132H, V133I et V134A. Le seuil de significativité thermodynamique a été fixé comme suit : un (ΔΔG) situé dans l'intervalle [0 ; -0,5] kcal/mol

est défini comme neutre, alors qu'une valeur inférieure ou égale à -0,5 kcal/mol est interprétée comme un gain d'affinité stabilisant le complexe CD47/SIRPα.

FoldX et YASARA sont deux logiciels de biologie structurale computationnelle aux rôles distincts mais complémentaires : FoldX est centré sur le calcul des énergies et la stabilité des protéines, tandis que YASARA constitue une suite plus large de modélisation, de visualisation et de dynamique moléculaire.

FoldX : Son objectif principal est d'estimer rapidement les changements de stabilité d'une protéine ou d'un complexe (ΔΔG) après une mutation, à partir d'une structure 3D de haute résolution (Delgado et al., 2025 ; Schymkowitz et al., 2005).

Il se caractérise par les fonctions suivantes : le calcul de l'énergie libre d'une macromolécule et la prédiction de l'effet de mutations. Cette dernière consiste à estimer, à partir de la structure 3D d'une protéine et de fonctions d'énergie, comment un changement d'acide aminé modifie sa stabilité (ΔΔG) ou son affinité de liaison à d'autres molécules. Il permet également l'analyse de la stabilité globale, l'étude des interfaces protéine-protéine, des ponts d'eau, des sites métalliques et le criblage par balayage à l'alanine (*alanine scanning*) (Delgado et al., 2025 ; Schymkowitz et al., 2005).

YASARA : Sa fonction principale est de fournir un environnement de travail complet dédié à la manipulation et à l'analyse des structures moléculaires à travers de nombreuses fonctionnalités pratiques. Le logiciel intègre des outils de construction adaptés aux petites et aux grandes molécules, ainsi que des modules d'analyse structurelle permettant de caractériser les densités électroniques, les surfaces partielles et les contacts entre molécules. De plus, il propose des fonctions de manipulation de coordonnées et de création d'animations pour l'étude dynamique des modèles (Ozvoldik et al., 2023).

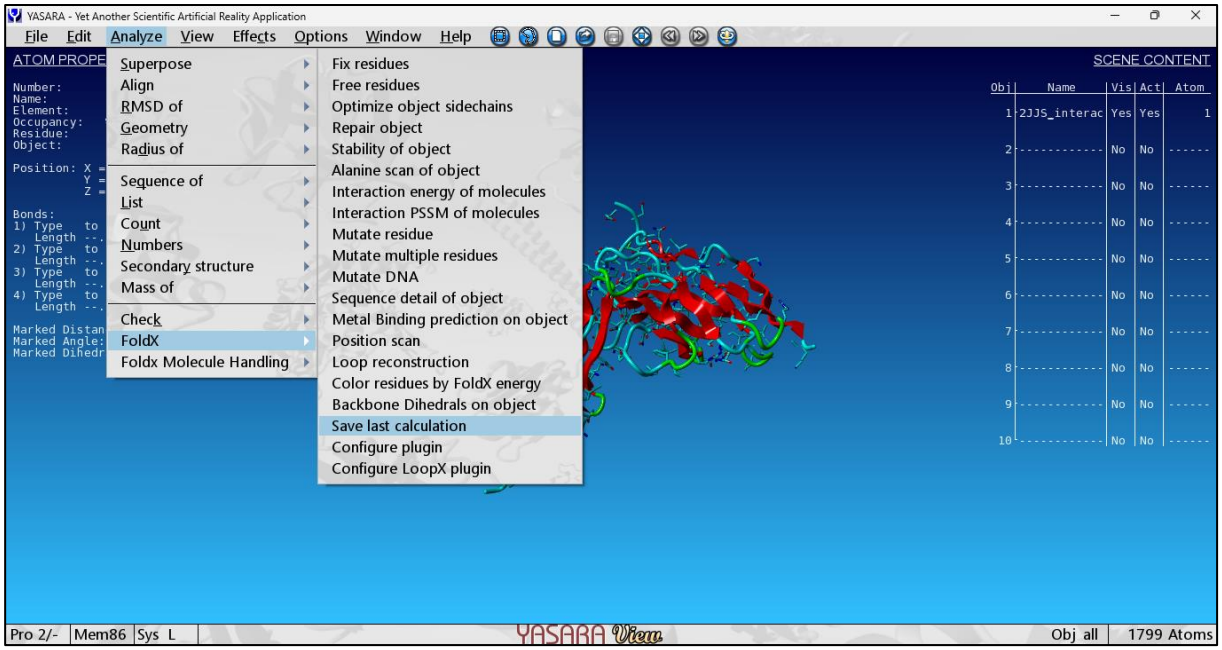


Figure 25 : Interface graphique du plugin FoldX intégré dans YASARA.

3.6 Modélisation Structurale

La prédiction des structures tridimensionnelles des protéines mutées a été réalisée en utilisant deux plateformes de modélisation par homologie :

SWISS-MODEL (https://swissmodel.expasy.org/interactive).

Pour chaque variation sélectionnée, la substitution d'acide aminé correspondante a été introduite manuellement au sein de la séquence protéique sauvage (type sauvage) afin de générer les séquences mutées. Ces dernières ont ensuite été soumises aux deux outils de prédiction.

Le serveur **Phyre2** (Protein Homology/analogY Recognition Engine), c'est un outil de modélisation par homologie de nouvelle génération. Ce logiciel permet de générer des modèles atomiques de haute précision en exploitant la similarité de séquence entre la protéine d'intérêt (requête) et des structures de référence connues. Le choix de Phyre2 repose sur sa capacité unique à intégrer les modèles issus de l'intelligence artificielle **AlphaFold2** (via une recherche Blastp sur la base de données de l'EBI) tout en conservant l'accès aux structures expérimentales de la **Protein Data Bank** (PDB) **(Powell et al., 2025).**

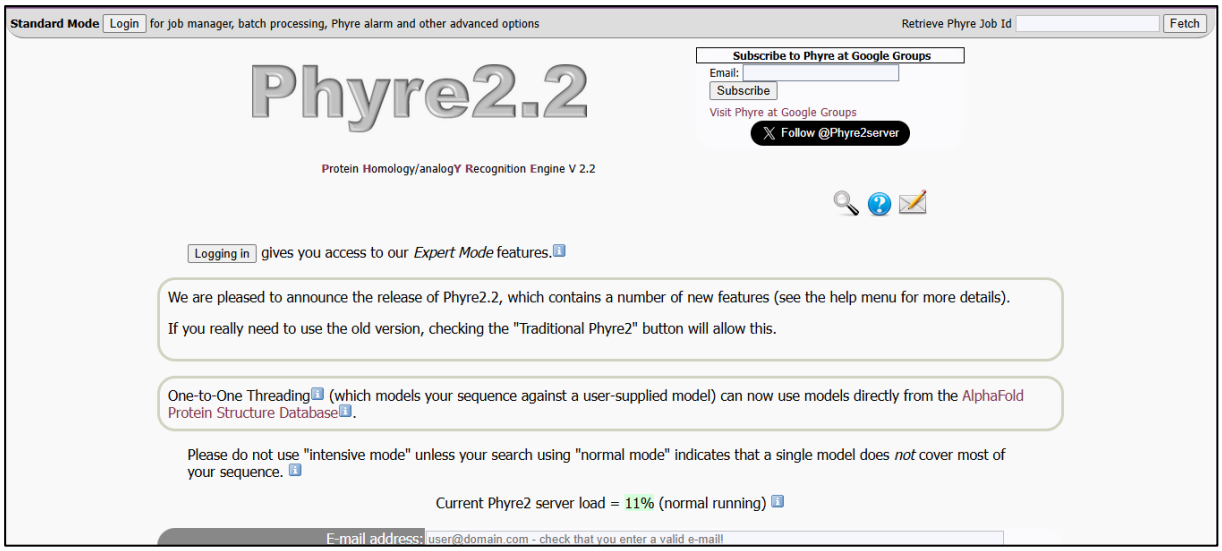


Figure 26 : l'outil de modélisation structurale Phyre2.2.

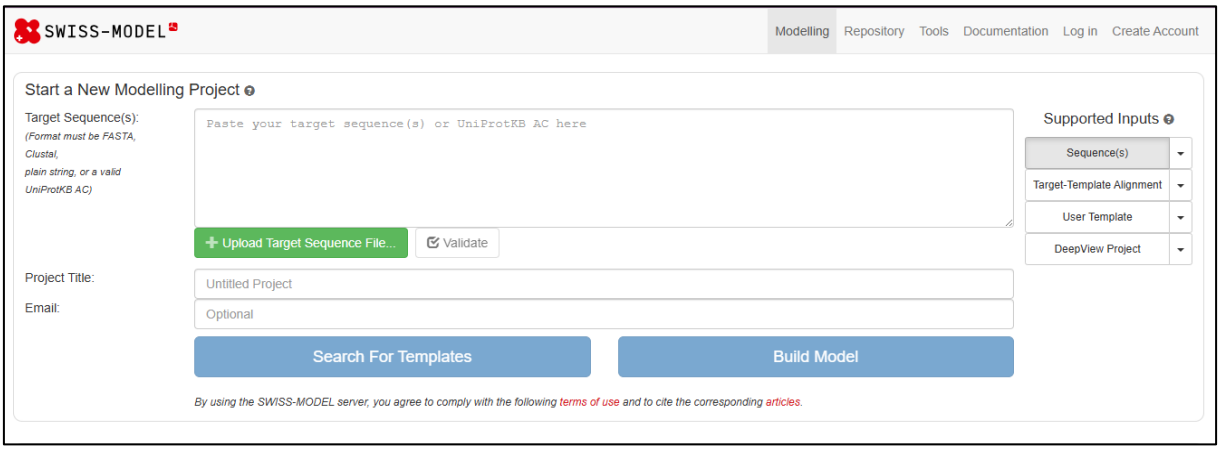


Figure 27 : plateforme de modélisation SWISS-MODEL.

SWISS-MODEL, une plateforme bio-informatique spécialisée dans la modélisation par homologie. Ce processus a intégré quatre phases successives : la recherche de matrices structurales (templates), l'alignement des séquences, la génération du modèle atomique et l'estimation de sa validité structurale **(Waterhouse et al., 2024)**.

3.7 Préparation des structures et docking moléculaire protéine protéine

3.7.1 Préparation des structures tridimensionnelles

L'analyse structurale s'est appuyée sur des données cristallographiques issues de la Protein Data Bank (PDB). Pour le ligand CD47, les coordonnées atomiques ont été extraites de l'entrée PDB 8ZCA, en isolant spécifiquement les chaînes E et F. Concernant le récepteur SIRPα, la

structure de référence a été récupérée via le code PDB 2JJS, dont les chaînes A et B ont été retenues pour l'étude.

La préparation de ces macromolécules a été finalisée à l'aide du logiciel AutoDock Tools (ADT) v.1.5.7. Ce dernier a servi d'interface pour le paramétrage des structures et la préparation des fichiers nécessaires aux étapes ultérieures d'amarrage moléculaire **(Manikandan et al., 2023).**

3.7.2 Simulations de Docking Moléculaire Protéine-Protéine

L'étude des interactions structurales entre les partenaires protéiques a été réalisée par amarrage (docking) macromoléculaire hybride via le serveur HDOCK (http://hdock.phys.hust.edu.cn/ ;) **(Li et al., 2022)**.

Cette plateforme se spécialise dans la prédiction de complexes protéine-protéine ou protéine-acide nucléique grâce à un algorithme capable de combiner la modélisation par homologie (gabarit) et l'amarrage ab initio. Cette approche permet de générer des modèles structuraux 3D fiables, que les données d'entrée soient des séquences primaires ou des structures issues de la Protein Data Bank (PDB). La robustesse de cet outil repose sur sa capacité à intégrer des informations expérimentales pour affiner la précision des interfaces de liaison prédites **(Yan et al., 2020).**



Figure 28 : soumission de tâche au serveur HDOCK.

3.8 Visualisation moléculaire

La visualisation et l'analyse des complexes protéiques obtenus après docking ont été réalisées via le logiciel PyMOL**(http://www.pymol.org)**.

Il s'agit d'un système de visualisation moléculaire basé sur Python, reconnu pour sa haute qualité de rendu graphique ainsi que pour sa capacité à analyser avec précision les interfaces de liaison grâce à l'utilisation de scripts personnalisés et d'une représentation tridimensionnelle optimisée **(S. Yuan et al., 2016)**.

3.9 Utilisation d'outils d'intelligence artificielle

Nous déclarons avoir utilisé des outils d'intelligence artificielle comme assistants pour la réalisation de ce PFE : Google Gemini pour la correction orthographique et linguistique, Claude pour la mise en forme de nos tableaux, ChatGPT pour l'optimisation esthétique de nos schémas, et Emergent AI pour l'aide au filtrage des données brutes. L'intervention de ces outils s'est strictement limitée à un support technique. La rigueur scientifique, l'analyse originale des données computationnelles ainsi que l'interprétation des résultats restent entièrement de notre responsabilité.

Chapitre V : Conclusion et perspective

4 Chapitre V : Conclusion et perspective

Cette étude *in silico* a permis de classifier les nsSNPs du domaine extracellulaire de CD47 en trois profils fonctionnels distincts, basés sur l'évaluation conjointe de leur impact thermodynamique (FoldX) et de leur réseau d'interactions (HDOCK). Le profil hyper-stabilisateur, mené par **D80G** (22 liaisons H) et **F32Y** (21 liaisons H, 19 paires), intensifie nettement le réseau par rapport au type sauvage (17 liaisons), ce qui pourrait théoriquement amplifier le signal inhibiteur « *don't eat me* » et favoriser l'échappement tumoral. Le profil de stabilisation modérée, représenté par **S107L** (20 liaisons) et **K102T** (19 liaisons), induit un renforcement intermédiaire. Enfin, le profil stabilisateur ou neutre, regroupant **R132H**, **K102R** (18 liaisons) et **V134A** (17 liaisons), maintient l'interaction proche de son état natif. Au-delà de ces mécanismes, les divergences locales observées entre l'évaluation énergétique de FoldX et la cartographie par Docking (notamment pour **F32Y**, **K102T** et **R132H**) soulignent une conclusion méthodologique majeure : l'analyse statique du ($\Delta\Delta G$) doit impérativement être couplée à un Docking structural afin de capturer la plasticité moléculaire et la flexibilité conformationnelle.

Pour dépasser ce criblage statique, plusieurs perspectives complémentaires sont essentielles. Sur le plan computationnel, des simulations de dynamique moléculaire évalueront la stabilité conformationnelle des variants en conditions physiologiques. Sur le plan biologique, des tests de phagocytose in vitro et des modèles de xénogreffes murines valideront l'impact de D80G et F32Y sur la résistance aux anticorps anti-CD47 en condition systémique.

Cliniquement, les variants hyper-stabilisants (D80G, F32Y) pourraient être validés comme biomarqueurs de mauvais pronostic, prédisant une progression tumorale agressive et une résistance thérapeutique. Cette cartographie structurale permettra de stratifier les patients et d'orienter les traitements vers les thérapies ciblant l'axe CD47/SIRPα, évitant ainsi les échecs thérapeutiques.

Enfin, ces résultats ouvrent la voie à des approches innovantes de thérapie génique combinant l'édition CRISPR-Cas9 pour corriger les mutations hyper-affines et l'ingénierie de cellules immunitaires pour contourner l'impact de ces variants complexes. Ces stratégies alliant immunothérapie ciblée et génie génétique constituent la promesse future de la prise en charge des tumeurs exprimant ces polymorphismes critiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

5 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

Aburagaegah, S., & Wajiej, A. (2025). The Critical Role of In Silico Laboratory Approaches in Pharmaceutical Microbiology and Novel Drug Discovery: A Review Study. Attahadi Medical Journal, 201-205. https://doi.org/10.69667/amj.25303

Adzhubei, I. A., Schmidt, S., Peshkin, L., Ramensky, V. E., Gerasimova, A., Bork, P., Kondrashov, A. S., & Sunyaev, S. R. (2010). A method and server for predicting damaging missense mutations. Nature methods, 7(4), 248-249. https://doi.org/10.1038/nmeth0410-248

Afifah, N. N., Larasati, A. L., Wijaya, I., Zakiyah, N., Intania, R., Obinata, H., & Barliana, M. I. (2025). A Systematic Review of SNPs Screening for Platinum-Related Pharmacodynamics and Pharmacokinetics Genes in Non-Small Cell Lung Cancer for Precision Medicine. The Application of Clinical Genetics, 18, 93-112. https://doi.org/10.2147/TACG.S518467

Ahmad, F. (2022). Protein stability determination problems. Frontiers in Molecular Biosciences, 9. https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.880358

Ajith, A., & Subbiah, U. (2023). In silico screening of non-synonymous SNPs in human TUFT1 gene. Journal of Genetic Engineering & Biotechnology, 21, 95. https://doi.org/10.1186/s43141-023-00551-4

Al-Mohaya, M., Mesut, B., Kurt, A., & Çelik, Y. S. (2024). In silico approaches which are used in pharmacy. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 14(4), 239-253. https://doi.org/10.7324/JAPS.2024.154854

Al-Nakhle, H., Al-Shahrani, R., Al-Ahmadi, J., Al-Madani, W., & Al-Juhani, R. (2025). Integrative In Silico Analysis to Identify Functional and Structural Impacts of nsSNPs on Programmed Cell Death Protein 1 (PD-1) Protein and UTRs : Potential Biomarkers for Cancer Susceptibility. Genes, 16(3), 307. https://doi.org/10.3390/genes16030307

Almeida, A. J., & Souto, E. (2007). Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. Advanced Drug Delivery Reviews, Lipid Nanoparticles: Recent Advances, 59(6), 478-490. https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.007

Arias, C. F., Valente-Leal, N., Bertocchini, F., Marques, S., Acosta, F. J., & Fernandez-Arias, C. (2024). A new role for erythropoietin in the homeostasis of red blood cells. Communications Biology, 7(1), 58. https://doi.org/10.1038/s42003-023-05758-2

Badonyi, M., & Marsh, J. A. (2025). Prevalence of loss-of-function, gain-of-function and dominant-negative mechanisms across genetic disease phenotypes. Nature Communications, 16(1), 8392. https://doi.org/10.1038/s41467-025-63234-3

Bava, K. A., Gromiha, M. M., Uedaira, H., Kitajima, K., & Sarai, A. (2004). ProTherm, version 4.0: Thermodynamic database for proteins and mutants. Nucleic Acids Research, 32(Database issue), D120-121. https://doi.org/10.1093/nar/gkh082

Behrens, L. M., van den Berg, T. K., & van Egmond, M. (2022). Targeting the CD47-SIRPα Innate Immune Checkpoint to Potentiate Antibody Therapy in Cancer by Neutrophils. Cancers, 14(14), 3366. https://doi.org/10.3390/cancers14143366

Beizavi, Z., Gheibihayat, S. M., Moghadasian, H., Zare, H., Yeganeh, B. S., Askari, H., Vakili, S., Tajbakhsh, A., & Savardashtaki, A. (2021). The regulation of CD47-SIRPα signaling axis by microRNAs in combination with conventional cytotoxic drugs together with the help of nano-delivery: A choice for therapy? Molecular Biology Reports, 48(7), 5707-5722. https://doi.org/10.1007/s11033-021-06547-y

Bess, S. N., Igoe, M. J., & Muldoon, T. J. (2025). The Physiological and Therapeutic Role of CD47 in Macrophage Function and Cancer. Immunological Investigations, 54(1), 112-146. https://doi.org/10.1080/08820139.2024.2415409

Bhat, G. R., Sethi, I., Rah, B., Kumar, R., & Afroze, D. (2022). Innovative in Silico Approaches for Characterization of Genes and Proteins. Frontiers in Genetics, 13. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.865182

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

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

Brown, E. (2001). Integrin-associated protein (CD47): An unusual activator of G protein signaling. Journal of Clinical Investigation, 107(12), 1499-1500. https://doi.org/10.1172/JCI13315

Burger, P., Hilarius-Stokman, P., de Korte, D., van den Berg, T. K., & van Bruggen, R. (2012). CD47 functions as a molecular switch for erythrocyte phagocytosis. Blood, 119(23), 5512-5521. https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-386805

Casey, S. C., Tong, L., Li, Y., Do, R., Walz, S., Fitzgerald, K. N., Gouw, A. M., Baylot, V., Gütgemann, I., Eilers, M., & Felsher, D. W. (2016). MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1. Science, 352(6282), 227-231. https://doi.org/10.1126/science.aac9935

Chauchet, X., Cons, L., Chatel, L., Daubeuf, B., Didelot, G., Moine, V., Chollet, D., Malinge, P., Pontini, G., Masternak, K., Ferlin, W., Buatois, V., & Shang, L. (2022). CD47xCD19 bispecific antibody triggers recruitment and activation of innate immune effector cells in a B-cell lymphoma xenograft model. Experimental Hematology & Oncology, 11(1), 26. https://doi.org/10.1186/s40164-022-00279-w

Che, Z., Wang, W., Zhang, L., & Lin, Z. (2025). Therapeutic strategies targeting CD47-SIRPα signaling pathway in gastrointestinal cancers treatment. Journal of Pharmaceutical Analysis, 15(1), 101099. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2024.101099

Chen, Q., Guo, X., & Ma, W. (2023). Opportunities and challenges of CD47-targeted therapy in cancer immunotherapy. Oncology Research, 32(1), 49-60.

Crowl, S., Coleman, M. B., Chaphiv, A., Jordan, B. T., & Naegle, K. M. (2025). Systematic analysis of the effects of splicing on the diversity of post-translational modifications in protein isoforms using PTM-POSE. bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2024.01.10.575062

Deng, H., Wang, G., Zhao, S., Tao, Y., Zhang, Z., Yang, J., & Lei, Y. (2023). New hope for tumor immunotherapy: The macrophage-related "do not eat me" signaling pathway. Frontiers in Pharmacology, 14. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1228962

Dizman, N., & Buchbinder, E. I. (2021). Cancer Therapy Targeting CD47/SIRPα. Cancers, 13(24), 6229. https://doi.org/10.3390/cancers13246229

Duijn, A. van, Burg, S. H. V. der, & Scheeren, F. A. (2022). CD47/SIRPα axis: Bridging innate and adaptive immunity. Journal for ImmunoTherapy of Cancer, 10(7). https://doi.org/10.1136/jitc-2022-004589

Dutta, H., & Jain, N. (2023). Post-translational modifications and their implications in cancer. Frontiers in Oncology, 13. https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1240115

Farajzadeh-Dehkordi, M., Mafakher, L., Harifi, A., Samiee-Rad, F., & Rahmani, B. (2023). Computational analysis of the functional and structural impact of the most deleterious missense mutations in the human Protein C. PLOS ONE, 18(11), e0294417. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294417

Fenalti, G., Villanueva, N., Griffith, M., Pagarigan, B., Lakkaraju, S. K., Huang, R. Y.-C., Ladygina, N., Sharma, A., Mikolon, D., Abbasian, M., Johnson, J., Hadjivassiliou, H., Zhu, D., Chamberlain, P. P., Cho, H., & Hariharan, K. (2021). Structure of the human marker of self 5-transmembrane receptor CD47. Nature Communications, 12(1), 5218. https://doi.org/10.1038/s41467-021-25475-w

Feng, Y., Huang, C., Wang, Y., & Chen, J. (2023). SIRPα: A key player in innate immunity. European Journal of Immunology, 53(11), e2350375. https://doi.org/10.1002/eji.202350375

Gerasimavicius, L., Livesey, B. J., & Marsh, J. A. (2022). Loss-of-function, gain-of-function and dominant-negative mutations have profoundly different effects on protein structure. Nature Communications, 13(1), 3895. https://doi.org/10.1038/s41467-022-31686-6

Ghantous, L., Volman, Y., Hefez, R., Wald, O., Stern, E., Friehmann, T., Chajut, A., Bremer, E., Elhalel, M. D., & Rachmilewitz, J. (2023). The DNA damage response pathway

regulates the expression of the immune checkpoint CD47. Communications Biology, 6(1), 245. https://doi.org/10.1038/s42003-023-04615-6

Gracia-Hernandez, M., Yende, A. S., Gajendran, N., Alahmadi, Z., Li, X., Munoz, Z., Tan, K., Noonepalle, S., Shibata, M., & Villagra, A. (2024). Targeting HDAC6 improves anti-CD47 immunotherapy. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 43(1), 60. https://doi.org/10.1186/s13046-024-02982-4

Guo, X., Fu, Y., Baran, N., & Ma, W. (2025). CD47-Targeted Therapy in Cancer Immunotherapy : At a Crossroads of Promise and Challenge. Oncology Research, 33(11), 33753385. https://doi.org/10.32604/or.2025.071708

Gutierrez, L. S., & Gutierrez, J. (2021). Thrombospondin 1 in Metabolic Diseases. Frontiers in Endocrinology, 12, 638536. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.638536

Hai, Z., Shucheng, C., Junwei, M., Hongwei, X., & Zhiyong, Y. (2022). CD47 as a promising therapeutic target in oncology. Frontiers in Immunology, 13. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.757480

Hashiyada, M. (2011). DNA biometrics. https://doi.org/10.5772/18139

Hayat, Bianconi, Pirro, Jaafari, & Et., A. (2019). CD47: Role in the immune system and application to cancer therapy. Cellular Oncology. https://doi.org/10.1007/s13402-019-00469-5

Huang, X., Wang, Q., Nan, Y., Zhang, X., Xu, K., Ju, D., & Ding, W. (2024). Targeting CD47 and Angiogenesis Demonstrates Effective Anti-Tumor Effect in Bladder Cancer. Biomedicines, 12(9), 2152. https://doi.org/10.3390/biomedicines12092152

Huang, C.-Y., Ye, Z.-H., Huang, M.-Y., & Lu, J.-J. (2020). Regulation of CD47 expression in cancer cells. Translational Oncology, 13(12), 100862. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100862

Huang, J., Liu, F., Li, C., Liang, X., Li, C., Liu, Y., Yi, Z., Zhang, L., Fu, S., & Zeng, Y. (2022). Role of CD47 in tumor immunity : A potential target for combination therapy. Scientific Reports, 12(1), 9803. https://doi.org/10.1038/s41598-022-13764-3

Iqbal, M. W., Shahab, M., Zheng, G., Sun, X., Yuan, Q., Almaary, K. S., Wondmie, G. F., & Bourhia, M. (2024). Analysis of damaging non-synonymous SNPs in GPx1 gene associated with the progression of diverse cancers through a comprehensive in silico approach. Scientific Reports, 14(1), 28690. https://doi.org/10.1038/s41598-024-78232-6

Ittisoponpisan, S., Islam, S. A., Khanna, T., Alhuzimi, E., David, A., & Sternberg, M. J. E. (2019). Can Predicted Protein 3D Structures Provide Reliable Insights into whether Missense Variants Are Disease Associated? Journal of Molecular Biology, 431(11), 2197-2212. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.009

Jajosky, R. P., Covington, M. L., Liu, J., Chai, L., Zerra, P. E., Chonat, S., Stowell, S. R., & Arthur, C. M. (2025). CD47 regulates antigen modulation and red blood cell clearance following an incompatible transfusion. Frontiers in Immunology, 16. https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1548548

Jia, X., Yan, B., Tian, X., Liu, Q., Jin, J., Shi, J., & Hou, Y. (2021). CD47/SIRPα pathway mediates cancer immune escape and immunotherapy. International Journal of Biological Sciences, 17(13), 3281-3287. https://doi.org/10.7150/ijbs.60782

Jiang, Z., Sun, H., Yu, J., Tian, W., & Song, Y. (2021). Targeting CD47 for cancer immunotherapy. Journal of Hematology & Oncology, 14(1), 180.

Jibon, Md. D. K., Islam, Md. A., Hosen, Md. E., Faruqe, Md. O., Zaman, R., Acharjee, U. K., Sikdar, B., Tiruneh, Y. K., Khalekuzzaman, Md., Jawi, M., & Zaki, M. E. A. (2025). In-silico analysis of deleterious non-synonymous SNPs in the human AVPR1a gene linked to autism. BMC Genomics, 26(1), 492. https://doi.org/10.1186/s12864-025-11655-1

Jin, Y., Huang, Q., Song, J., Abideen, Z. ul, Tan, R., Xu, S., & Chen, M. (2026). The SIRP family: From structural diversity and signaling mechanisms to implications in immune-related disease targeted therapeutics. Frontiers in Immunology, 17. https://doi.org/10.3389/fimmu.2026.1764114

Jones, G., Jindal, A., Ghani, U., Kotelnikov, S., Egbert, M., Hashemi, N., Vajda, S., Padhorny, D., & Kozakov, D. (2022). Elucidation of protein function using computational docking and hotspot analysis by ClusPro and FTMap. Acta Crystallographica Section D: Structural Biology, 78(6), 690-697. https://doi.org/10.1107/S2059798322002741

Kale, A., Rogers, N. M., & Ghimire, K. (2021). Thrombospondin-1 CD47 Signalling: From Mechanisms to Medicine. International Journal of Molecular Sciences, 22(8), 4062. https://doi.org/10.3390/ijms22084062

Kamal, E., Kaddam, L. A., Ahmed, M., & Alabdulkarim, A. (2025). Integrating Artificial Intelligence and Bioinformatics Methods to Identify Disruptive STAT1 Variants Impacting Protein Stability and Function. Genes, 16(3), 303. https://doi.org/10.3390/genes16030303

Kang, Y., Shi, F., Wu, S., Zhang, R., Song, C., & Tang, J. (2026). The versatility of SIRPα: Novel perspectives on tumor microenvironment regulation and targeted therapy beyond the CD47-SIRPα axis. Critical Reviews in Oncology/Hematology, 222, 105269. https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2026.105269

Kaur, S., Isenberg, J. S., & Roberts, D. D. (2021). CD47 (Cluster of Differentiation 47). Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology, 25(2), 83-102.

Kaur, S., Kuznetsova, S. A., Sipes, J. M., Singh, S. P., Villasmil, R., & Roberts, D. D. (2025). T Cell Activation Induces Synthesis of CD47 Proteoglycan Isoforms and Their Release in Extracellular Vesicles. International Journal of Molecular Sciences, 26(17), 8377. https://doi.org/10.3390/ijms26178377

Khatami, S. H., Taheri-Anganeh, M., Arianfar, F., Savardashtaki, A., Sarkari, B., Ghasemi, Y., & Mostafavi-Pour, Z. (2020). Analyzing Signal Peptides for Secretory Production of Recombinant Diagnostic Antigen B8/1 from Echinococcus granulosus : An In silico Approach. Molecular Biology Research Communications, 9(1), 110. https://doi.org/10.22099/mbrc.2019.35429.1457

Kim, J., Park, S., Kim, J., Kim, Y., Yoon, H. M., Rayhan, B. R., Jeong, J., Bothwell, A. L. M., & Shin, J. H. (2025). Trogocytosis-mediated immune evasion in the tumor microenvironment. Experimental & Molecular Medicine, 57(1), 1-12. https://doi.org/10.1038/s12276-024-01364-2

Kozakov, D., Hall, D. R., Xia, B., Porter, K. A., Padhorny, D., Yueh, C., Beglov, D., & Vajda, S. (2017). The ClusPro web server for protein-protein docking. Nature protocols, 12(2), 255-278. https://doi.org/10.1038/nprot.2016.169

Kulshreshtha, S., Chaudhary, V., Goswami, G. K., & Mathur, N. (2016). Computational approaches for predicting mutant protein stability. Journal of Computer-Aided Molecular Design. https://doi.org/10.1007/s10822-016-9914-3

Lau, A. P. Y., Khavkine Binstock, S. S., & Thu, K. L. (2023). CD47: The Next Frontier in Immune Checkpoint Blockade for Non-Small Cell Lung Cancer. Cancers, 15(21), 5229. https://doi.org/10.3390/cancers15215229

Li, H., Huang, E., Zhang, Y., Huang, S., & Xiao, Y. (2022). HDOCK update for modeling protein-RNA/DNA complex structures. Protein Science: A Publication of the Protein Society, 31(11), e4441. https://doi.org/10.1002/pro.4441

Li, G., Yao, S., & Fan, L. (2024). ProSTAGE: Predicting Effects of Mutations on Protein Stability by Using Protein Embeddings and Graph Convolutional Networks. Journal of Chemical Information and Modeling, 64(2), 340-347. https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c01697

Liu, B., Yang, H., Song, Y.-S., Sorenson, C. M., & Sheibani, N. (2024). Thrombospondin-1 in vascular development, vascular function, and vascular disease. Seminars in Cell & Developmental Biology, Thrombospondin proteins, 155, 32-44. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2023.07.011

Liu, Y., Weng, L., Wang, Y., Zhang, J., Wu, Q., Zhao, P., Shi, Y., Wang, P., & Fang, L. (2024). Deciphering the role of CD47 in cancer immunotherapy. Journal of Advanced Research, 63, 129-158. https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.10.009

Liu, X., Kwon, H., Li, Z., & Fu, Y. (2017). Is CD47 an innate immune checkpoint for tumor evasion? Journal of Hematology & Oncology, 10(1), 12. https://doi.org/10.1186/s13045-016-0381-z

Liu, Y., Wang, Y., Yang, Y., Weng, L., Wu, Q., Zhang, J., Zhao, P., Fang, L., Shi, Y., & Wang, P. (2023). Emerging phagocytosis checkpoints in cancer immunotherapy. Signal Transduction and Targeted Therapy, 8(1), 104. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01365-z

Logtenberg, M. E. W., Jansen, J. H. M., Raaben, M., Toebes, M., Franke, K., Brandsma, A. M., Matlung, H. L., Fauster, A., Gomez-Eerland, R., Bakker, N. A. M., van der Schot, S., Marijt, K. A., Verdoes, M., Haanen, J. B. A. G., van den Berg, J. H., Neefjes, J., van den Berg, T. K., Brummelkamp, T. R., Leusen, J. H. W., … Schumacher, T. N. (2019). Glutaminyl cyclase is an enzymatic modifier of the CD47-SIRPα axis and a target for cancer immunotherapy. Nature Medicine, 25(4), 612-619. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0356-z

Logtenberg, M. E. W., Scheeren, F. A., & Schumacher, T. N. (2020). The CD47-SIRPα Immune Checkpoint. Immunity, 52(5), 742-752. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.011

Makwana, K., Velazquez, E. J., Marzese, D. M., Smith, B., Bhowmick, N. A., Faries, M. B., Hamid, O., & Boiko, A. D. (2024). NRF-1 transcription factor regulates expression of an innate immunity checkpoint, CD47, during melanomagenesis. Frontiers in Immunology, 15. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1495032

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

Manikandan, P., Veeraraghavan, V. P., Sekaran, S., Rengasamy, G., & Eswaramoorthy, R. (2023). Molecular docking analysis of oxazole compounds with the heme-binding protein from Porphyromonas gingivalis. Bioinformation, 19(1), 105-110. https://doi.org/10.6026/97320630019105

Marques, L., Costa, B., Pereira, M., Silva, A., Santos, J., Saldanha, L., Silva, I., Magalhães, P., Schmidt, S., & Vale, N. (2024). Advancing Precision Medicine: A Review of Innovative In Silico Approaches for Drug Development, Clinical Pharmacology and Personalized Healthcare. Pharmaceutics, 16(3). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030332

Maute, R., Xu, J., & Weissman, I. L. (2022). CD47-SIRPα-targeted therapeutics: Status and prospects. Immuno-Oncology and Technology, 13. https://www.esmoiotech.org/article/S2590-0188(22)00001-6/fulltext

Miller, W. D., Mishra, A. K., Sheedy, C. J., Bond, A., Gardner, B. M., Montell, D. J., & Morrissey, M. A. (2025). CD47 prevents Rac-mediated phagocytosis through Vav1 dephosphorylation. bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2025.02.11.637707

Ming, R., Zhang, H., Wu, H., Zhan, F., Huang, X., & Liu, H. (2025). Integrative analysis of m6A-SNPs and single-cell RNA sequencing reveals key drivers of endocrine combined with CDK4/6 inhibitor therapy resistance in ER+ breast cancer. Frontiers in Pharmacology, 16. https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1590363

Mittal, R., Ho, A., Adivikolanu, H., Sawhney, M., Lemos, J. R. N., Mittal, M., & Hirani, K. (2025). Exploring the potential of computer simulation models in drug testing and

biomedical research: A systematic review. Frontiers in Pharmacology, 16. https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1644907

Mn, W., L, J., Jw, H., Ks, R., J, T., At, H., & Cf, W. (2021). Use of SNP chips to detect rare pathogenic variants: Retrospective, population based diagnostic evaluation. BMJ, 372, n214. https://doi.org/10.1136/bmj.n214

Montero, E., & Isenberg, J. S. (2023). The TSP1-CD47-SIRPα interactome: An immune triangle for the checkpoint era. Cancer Immunology, Immunotherapy, 72(9), 2879-2888. https://doi.org/10.1007/s00262-023-03465-9

Morandi, V., Petrik, J., & Lawler, J. (2021). Endothelial Cell Behavior Is Determined by Receptor Clustering Induced by Thrombospondin-1. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 9. https://doi.org/10.3389/fcell.2021.664696

Mukhtar, M., Sargazi, S., Barani, M., Madry, H., Rahdar, A., & Cucchiarini, M. (2021). Application of Nanotechnology for Sensitive Detection of Low-Abundance Single-Nucleotide Variations in Genomic DNA: A Review. Nanomaterials, 11(6). https://doi.org/10.3390/nano11061384

Ng, P. C., & Henikoff, S. (2001). Predicting deleterious amino acid substitutions. Genome Research, 11(5), 863-874. https://doi.org/10.1101/gr.176601

Oldenborg, P.-A. (2013). CD47: A Cell Surface Glycoprotein Which Regulates Multiple Functions of Hematopoietic Cells in Health and Disease. ISRN Hematology, 2013, 614619. https://doi.org/10.1155/2013/614619

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

Otuagomah, J., Newcomb, A., Gwag, T., & Wang, S. (2025). CD47: An immunoregulatory nexus in liver and gastrointestinal disorders. eGastroenterology, 3(4), e100242. https://doi.org/10.1136/egastro-2025-100242

Pace, C. N., Scholtz, J. M., & Grimsley, G. R. (2014). Forces Stabilizing Proteins. FEBS letters, 588(14), 2177-2184. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.05.006

Pan, Q., Nguyen, T. B., Ascher, D. B., & Pires, D. E. V. (2022). Systematic evaluation of computational tools to predict the effects of mutations on protein stability in the absence of experimental structures. Briefings in Bioinformatics, 23(2), bbac025. https://doi.org/10.1093/bib/bbac025

Pan, S., & Chen, R. (2022). Pathological implication of protein post-translational modifications in cancer. Molecular Aspects of Medicine, Impact of Post-Translational Modification on the Genesis and Progression of Diseases, 86, 101097. https://doi.org/10.1016/j.mam.2022.101097

Pappalardo, M., Sipala, F. M., Nicolosi, M. C., Guccione, S., & Ronsisvalle, S. (2024). Recent Applications of In Silico Approaches for Studying Receptor Mutations Associated

with Human Pathologies. Molecules, 29(22). https://doi.org/10.3390/molecules29225349

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

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(Web Server issue), W314-W319. https://doi.org/10.1093/nar/gku411

Polara, R., Ganesan, R., Pitson, S. M., & Robinson, N. (2024). Cell autonomous functions of CD47 in regulating cellular plasticity and metabolic plasticity. Cell Death & Differentiation, 31(10), 1255-1266. https://doi.org/10.1038/s41418-024-01347-w

Powell, H. R., Islam, S. A., David, A., & Sternberg, M. J. E. (2025). Phyre2.2: A Community Resource for Template-based Protein Structure Prediction. Journal of Molecular Biology, Computation Resources for Molecular Biology, 437(15), 168960. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2025.168960

Ramazi, S., & Zahiri, J. Post-translational modifications in proteins: Resources, tools and prediction methods. https://dx.doi.org/10.1093/database/baab012

Runa, S. A., Tonmoy, M. I. Q., Islam, M. A., & Islam, M. A. (2025). Computational evaluation of AKT2 mutations reveals R274H and R467W as potential drivers of protein instability and inhibitor resistance in cancer therapy. PLOS ONE, 20(10), e0335319. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0335319

Seifi, M., & Walter, M. A. (2018). Accurate prediction of functional, structural, and stability changes in PITX2 mutations using in silico bioinformatics algorithms. PLoS ONE, 13(4), e0195971. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195971

Setina, M., Setina, E., Doljak, Z., Goricar, K., Dolzan, V., & Kovac, V. (2025). Genetic variability of HIF1A and response to treatment with cisplatin in combination with pemetrexed or gemcitabine in patients with malignant mesothelioma. Radiology and Oncology, 59(3), 403-411. https://doi.org/10.2478/raon-2025-0049

Stępień, K. L., Janas, K., & Rojek, S. (2025). Targeting the CD47-TSP1 Axis in Abdominal Aortic Aneurysm: A Novel Immunotherapeutic Approach. International Journal of Molecular Sciences, 26(22), 11042. https://doi.org/10.3390/ijms262211042

Sun, T.-H., Shao, Y.-H. J., Mao, C.-L., Hung, M.-N., Lo, Y.-Y., Ko, T.-M., & Hsiao, T.-H. (2021). A Novel Quality-Control Procedure to Improve the Accuracy of Rare Variant Calling in SNP Arrays. Frontiers in Genetics, 12. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.736390

Sun, Q. (2022). The Hydrophobic Effects: Our Current Understanding. Molecules, 27(20), 7009. https://doi.org/10.3390/molecules27207009

Tabary, M., Gheware, A., Peñaloza, H. F., & Lee, J. S. (2022). The matricellular protein thrombospondin-1 in lung inflammation and injury. American Journal of Physiology - Cell Physiology, 323(3), C857-C865. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00182.2022

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

Thanthirige, H. A., Wimalarathna, N. A., & Wickramasuriya, A. M. (2025). A comprehensive catalog of single nucleotide polymorphisms (SNPs) from the black pepper (Piper nigrum L.) genome. BMC Genomics, 26(1), 256. https://doi.org/10.1186/s12864-025-11414-2

Tiberti, M., Terkelsen, T., Cremers, T. C., Marco, M. D., Piedade, I. da, Maiani, E., & Papaleo, E. (2019). MutateX : An automated pipeline for in-silico saturation mutagenesis of protein structures and structural ensembles (p. 824938). bioRxiv. https://doi.org/10.1101/824938

Uddin, Md. M., Hossain, Md. T., Hossain, Md. A., Ahsan, A., Shamim, K. H., Hossen, Md. A., Rahman, Md. S., Rahman, M. H., Ahmed, K., Bui, F. M., & Al-Zahrani, F. A. (2024). Unraveling the potential effects of non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) on the Protein structure and function of the human SLC30A8 gene on type 2 diabetes and colorectal cancer : An In silico approach. Heliyon, 10(17), e37280. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37280

Vandomme, A. (2014). Functional characterization of PTPA in Plasmodium falciparum: Role in PP2A and PP1 regulation [Manuscrit].

Villanueva, M., Vostal, L. E., Cohen, D. N., Biesbrock, D., Kuwaye, E. P., Driver, S. G., & Hart, K. M. (2023). Differential effects of disulfide bond formation in TEM-1 versus CTX-M-9 β-lactamase. https://doi.org/10.1002/pro.4816

Wang, Q., Onuma, K., Liu, C., Wong, H., Bloom, M. S., Elliott, E. E., Cao, R. R. L., Hu, N., Lingampalli, N., Sharpe, O., Zhao, X., Sohn, D. H., Lepus, C. M., Sokolove, J., Mao, R., Cisar, C. T., Raghu, H., Chu, C. R., Giori, N. J., … Robinson, W. H. (2019). Dysregulated integrin αVβ3 and CD47 signaling promotes joint inflammation, cartilage breakdown, and progression of osteoarthritis. JCI Insight, 4(18). https://doi.org/10.1172/jci.insight.128616

Wang, Y., Zhao, C., Liu, Y., Wang, C., Jiang, H., Hu, Y., & Wu, J. (2022). Recent Advances of Tumor Therapy Based on the CD47-SIRPα Axis. Molecular Pharmaceutics, 19(5), 1273-1293. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00073

Wang, F., Liu, Y.-H., Zhang, T., Gao, J., Xu, Y., Xie, G.-Y., Zhao, W.-J., Wang, H., & Yang, Y.-G. (2020). Aging-associated changes in CD47 arrangement and interaction with

thrombospondin-1 on red blood cells visualized by super-resolution imaging. Aging Cell, 19(10), e13224. https://doi.org/10.1111/acel.13224

Wang, Y., Wu, X., Li, X., Liu, Z., An, N., Gu, S., He, Y., He, M., Yin, D., Chen, Y., & Hu, X. (2026). Ubiquitination and degradation of CD47 enhances macrophage phagocytosis of hemolytic erythrocytes. iScience, 29(1). https://doi.org/10.1016/j.isci.2025.114499

Waterhouse, A. M., Studer, G., Robin, X., Bienert, S., Tauriello, G., & Schwede, T. (2024). The structure assessment web server: For proteins, complexes and more. Nucleic Acids Research, 52(W1), W318-W323. https://doi.org/10.1093/nar/gkae270

Wu, F., Pang, H., Li, F., Hua, M., Song, C., & Tang, J. (2024). Progress in cancer research on the regulator of phagocytosis CD47, which determines the fate of tumor cells (Review). Oncology Letters, 27(6), 1-15. https://doi.org/10.3892/ol.2024.14389

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). https://doi.org/10.3390/bios13090864

Wu, L. Z., Ye, Y., Wang, Z. X., Ma, D., Li, L., Xi, G. H., Bao, B. Q., & Weng, L. X. (2021). Sensitive Detection of Single-Nucleotide Polymorphisms by Solid Nanopores Integrated With DNA Probed Nanoparticles. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.690747

Wu, X., Xu, M., Geng, M., Chen, S., Little, P. J., Xu, S., & Weng, J. (2023). Targeting protein modifications in metabolic diseases: Molecular mechanisms and targeted therapies. Signal Transduction and Targeted Therapy, 8(1), 220. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01439-y

Xu, L., Wang, X., Zhang, T., Meng, X., Zhao, W., Pi, C., & Yang, Y.-G. (2024). Expression of a mutant CD47 protects against phagocytosis without inducing cell death or inhibiting angiogenesis. Cell Reports Medicine, 5(3), 101450. https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101450

Yang, H., Xun, Y., & You, H. (2023). The landscape overview of CD47-based immunotherapy for hematological malignancies. Biomarker Research, 11(1), 15. https://doi.org/10.1186/s40364-023-00456-x

Yang, J., Xing, F., Hu, F., Hou, M., Dong, H., Cheng, J., Li, W., Yan, R., Xu, J., Xu, K., & Pan, L. Super-resolution microscopy unveils the nanoscale organization and self-limiting clustering of CD47 in human erythrocytes. https://dx.doi.org/10.1093/jmcb/mjae041

Ye, Z.-H., Yu, W.-B., Huang, M.-Y., Chen, J., & Lu, J.-J. (2023). Building on the backbone of CD47-based therapy in cancer: Combination strategies, mechanisms, and future perspectives. Acta Pharmaceutica Sinica. B, 13(4), 1467-1487. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.12.016

Younus, A., Munawar, S., Bhatti, M. F., Ikram, A., Awan, F. M., Jabeen, I., Virk, N., Janjua, H. A., & Arshad, M. (2018). Structure-Function Mutational Analysis and Prediction of the Potential Impact of High Risk Non-Synonymous Single-Nucleotide Polymorphism on Poliovirus 2A Protease Stability Using Comprehensive Informatics Approaches. Genes, 9(5), 228. https://doi.org/10.3390/genes9050228

Yuan, H., Zhu, L., Yang, L., Yi, Y., & Lv, T. (2025). CD47-mediated tumor microenvironment remodeling: A central mechanism in immune evasion. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 57(10), 1557-1573. https://doi.org/10.3724/abbs.2025071

Yuan, S., Chan, H. C. S., Filipek, S., & Vogel, H. (2016). PyMOL and Inkscape Bridge the Data and the Data Visualization. Structure, 24(12), 2041-2042. https://doi.org/10.1016/j.str.2016.11.012

Zeng, R., Li, H., Jia, L., Lee, S. H., Jiang, R., Zhang, Y., Hu, X., Ye, T., Wang, X., Yan, X., Lu, Y., Sun, Z., Xu, J., & Xu, W. (2022). Association of CYP24A1 with survival and drug resistance in clinical cancer patients: A meta-analysis. BMC Cancer, 22(1), 1317. https://doi.org/10.1186/s12885-022-10369-x

Zhang, T., Wang, F., Xu, L., & Yang, Y.-G. (2024). Structural-functional diversity of CD47 proteoforms. Frontiers in Immunology, 15. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1329562

Zhang, H., Lu, H., Xiang, L., Bullen, J. W., Zhang, C., Samanta, D., Gilkes, D. M., He, J., & Semenza, G. L. (2015). HIF-1 regulates CD47 expression in breast cancer cells to promote evasion of phagocytosis and maintenance of cancer stem cells. Proceedings of the National Academy of Sciences, 112(45), E6215-E6223. https://doi.org/10.1073/pnas.1520032112