

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



MÉMOIRE

Présenté par
HOUBAD Somia et KADI Méryèm
En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En IMMUNOLOGIE

Thème

**Analyse *in silico* des SNPs à conséquences structurelles et fonctionnelles
sur CD172g
Prédiction des modifications post traductionnelles et modélisation
Moléculaire**

Soutenu le 29 juin 2025 , devant le jury composé de :

Présidente	Dr. Hadj Merabet Djahida	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	Hadjidj Zeyneb	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr. Dahou Sara	MAB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2024/2025

Résumé

Introduction

Dans le cadre de ce travail, nous avons mené une analyse *in silico* des Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) susceptibles d'avoir des conséquences structurelles et/ou fonctionnelles sur la protéine SIRP γ . L'étude consiste à prédire les altérations des modifications post-traductionnelles (PTMs) induites par des SNPs préalablement identifiés comme potentiellement délétères. En complément, une modélisation moléculaire tridimensionnelle des formes sauvage et mutées de SIRP γ a été réalisée, permettant une évaluation approfondie des impacts structuraux pouvant compromettre la stabilité ou la fonction de la protéine.

Matériels et méthodes

Les prédictions des PTMs ont été réalisées à l'aide d'outils bio-informatiques spécialisés : GPS6.0, MusiteDeep, NetPhos 3.1, GPS-MSP, GPS-UBER, PRmePRed, GPS-PBS, CarSite-II, GPS-YNO2 et GPS-SNO 1.0, permettant d'évaluer l'impact potentiel des SNPs sur divers sites de modification, notamment la phosphorylation, l'ubiquitination, la méthylation.

La modélisation moléculaire tridimensionnelle des formes sauvage et mutées de CD172g (SIRP γ) a été effectuée à l'aide de Phyre2 et SWISS-MODEL. La qualité des structures générées a été validée par les outils ERRAT et PROCHECK. Un alignement des structures 3D a ensuite été réalisé à l'aide de TM-align, tandis que leur superposition visuelle a été effectuée avec UCSF Chimera, afin d'identifier les éventuelles altérations conformationnelles induites par les SNPs sélectionnés.

Résultats

Les analyses *in silico* ont révélé que les mutations en position W182C, W182S et P175L de la protéine SIRP γ pourraient induire des perturbations modérées sur des sites de phosphorylation, méthylation, ubiquitination et S-nitrosylation. Les altérations structurelles observées sont restées légères, mais leur impact potentiel sur la structure ou la fonction de la protéine n'est pas négligeable. Ces résultats offrent une base pertinente pour des investigations expérimentales ultérieures, en vue de mieux comprendre les conséquences biologiques de ces SNPs.

Mots-clés : analyse *in silico*, modélisation moléculaire, modifications post-traductionnelles, SIRP γ , nsSNPs,

Abstract

Introduction

As part of this work, we conducted an *in silico* analysis of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) potentially associated with structural and/or functional consequences on the SIRP γ protein. The study aimed to predict alterations in post-translational modifications (PTMs) induced by SNPs previously identified as potentially deleterious. In addition, a three-dimensional molecular modeling of both wild-type and mutated forms of SIRP γ was performed, providing an in-depth assessment of structural impacts that may compromise the stability or function of the protein.

Materials and Methods

PTMs were predicted using tools such as GPS6.0, MusiteDeep, NetPhos 3.1, GPS-MSP, GPS-UBER, PRmePRed, GPS-PBS, CarSite-II, GPS-YNO2, and GPS-SNO 1.0. These tools helped identify possible changes in phosphorylation, methylation, ubiquitination, and other important PTM sites.

We created the 3D structures using Phyre2 and SWISS-MODEL. Their quality was checked with ERRAT and PROCHECK. We then used TM-align to compare the normal and mutant structures, and UCSF Chimera to visualize the differences.

Results

The analysis showed that the mutations at positions W182C, W182S et P175L may cause small changes in PTM sites, especially in phosphorylation, methylation, ubiquitination, and S-nitrosylation. The changes in protein structure were minor, but their possible effect on protein function or stability is not negligible. These results may help guide future experimental studies.

Keywords: *in silico* analysis, molecular modeling, post-translational modifications, SIRP γ , SNPs,

المخلص

المقدمة

النسبة لهذا العمل، قمنا بإجراء تحليل *in silico* للطفرات النقطية المفردة (SNPs) التي قد تكون لها تأثيرات بنيوية و/أو وظيفية على بروتين SIRP γ . هدف الدراسة هو التنبؤ بالتغيرات المحتملة في التعديلات ما بعد الترجمة (PTMs) الناتجة عن SNPs تم تحديدها مسبقاً على أنها قد تكون ضارة. بالإضافة إلى ذلك، تم إنجاز نمذجة جزيئية ثلاثية الأبعاد للشكل البري والشكل الطافر لبروتين SIRP γ ، مما سمح بتقييم معمق للتأثيرات البنيوية التي قد تُضعف استقراره أو وظيفته.

المواد والطرق

تم توقع التعديلات ما بعد الترجمة باستخدام مجموعة من الأدوات البيوانفورماتية، من بينها: GPS-6.0، MusiteDeep، NetPhos3.1، GPS-MSP، GPS-UBER، PRmePRed، GPS-PBS، GPS-SNO 1.0، GPS-YN02، CarSite-II، والتي مكّنت من تحديد التغيرات المحتملة في مواقع الفسفرة وغيرها من التعديلات الحيوية. تم إنشاء النماذج الجزيئية ثلاثية الأبعاد باستخدام برنامجي Phyre2 و SWISS-MODEL، وتقييم جودتها بواسطة ERRAT و PROCHECK كما تم إجراء محاذاة بين البنية الطبيعية والبنية المتحوّرة باستخدام TM-align، مع استخدام UCSF Chimera لعرض الفروقات البنائية.

النتائج

أظهرت نتائج التحليل أن الطفرات في المواقع W182C، W182S و P175L قد تسبب تغيرات طفيفة في مواقع التعديلات ما بعد الترجمة، خصوصاً الفسفرة، *la méthylation*، *l'ubiquitination* و *nitrosylation* ورغم أن التغيرات البنيوية كانت محدودة، إلا أن تأثيرها المحتمل على وظيفة أو استقرار البروتين غير قابل للإهمال. هذه النتائج تمهد الطريق لدراسات تجريبية مستقبلية لفهم الأثر البيولوجي لهذه الطفرات.

الكلمات المفتاحية: الطفرات النقطية، التحليل الحاسوبي، التعديلات ما بعد الترجمة، بنية البروتين، SIRP γ



Remerciements

Avant toute chose, nous élevons notre reconnaissance vers Dieu le Tout-Puissant, source de toute sagesse et de toute force, qui nous a permis de mener à bien ce travail avec persévérance et humilité.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre Chère et Précieuse **Mme HADJIDJ Zeyneb**, docteur en Immunologie à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour son encadrement rigoureux, ses conseils éclairés, sa disponibilité constante tout au long de ce mémoire et surtout, surtout pour sa patience et son amabilité. Notons aussi que son expertise et son soutien ont été aussi déterminants et d'un apport considérable dans l'aboutissement de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude au **Professeur ARIBI Mourad**, directeur du laboratoire BIOMOLIM, pour son engagement à l'égard de la formation des étudiants et pour l'intérêt qu'il porte à la recherche scientifique. Sa rigueur et ses interventions ont été d'un grand apport pour ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble de nos enseignants, docteurs et chercheurs passionnés, qui ont su nous transmettre leur savoir avec pédagogie, souplesse et affinité tout au long de notre formation. Leurs efforts consentis ont grandement contribué à notre épanouissement académique et personnel et par voie de conséquence ont créé en nous un vrai esprit de recherche.

Nous remercions chaleureusement l'équipe du laboratoire BIOMOLIM pour son accueil, son assistance technique, ainsi que pour les échanges scientifiques enrichissants qui ont contribué amplement à mettre en évidence la qualité de ce travail.

Comme il ne m'échappe pas de remercier vivement mes parents pour l'éducation qu'ils m'ont inculquée, pour leur accompagnement durant toutes les étapes de ma scolarité et surtout pour leurs aussi chers yeux qu'ils ont sus garder bien éveillés afin de me garantir un bel avenir en matière d'éducation et de formation. Papa et Maman, je suis à vous et pour vous, corps et âme !

Enfin, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon oncle Nourredine Boudaoud, pour son soutien moral, sa bienveillance et ses encouragements constants, qui ont été pour moi une source précieuse de motivation tout au long de ce parcours.





في هذه اللحظة التي تختلط فيها الدموع بالابتسامات، ويعانق القلب فرح الإنجاز بعد أعوام من الجد والسهر والتعب، أكتب كلماتي هذه وقد امتلأت روعي امتنانا، وفاض قلبي حبا و عرفانا لكل من كان له في هذا الطريق بصمة.

إلى أمي، يا من كنت لي الحزن الدافئ والدعوة المستجابة. يا من زرعت في قلبي بذور الأمل وسقيتها بصبرك ودعائك، حتى أثمرت هذا النجاح. كنت وما زلت النور الذي يهديني، والسند الذي لا يميل. كل إنجازي هو ثمرة من ثمار عطائك، فشكرا لك بعدد ما رفعت يديك بالدعاء لي، وبعدد ما خبأت في قلبك من قلق لأجلي. إلى أبي يا من علمتني أن للنجاح طعمًا لا يعرفه إلا من تعب واجتهد يا من كنت القدوة والملهم الذي زرع في داخلي الإصرار، وغرس في عقلي حب التحدي والعمل وقوفك بجانبني، وصمتك الدافئ، ونظراتك التي كانت تحمل ألف معنى من الفخر، كانت قوتي في كل مرة شعرت فيها بالضعف. إلى إخوتي وأخواتي، أنتم الأمان الذي يشبه الوطن. وجودكم حولي كان البلمس لكل تعب والضحكة التي كانت تمحو آثار الإرهاق، والدافع الذي يجعلني أقاوم كل لحظة إحباط. إلى أساتذتي الذين غرسوا العلم في، وكانوا شموغًا تحترق لتنتير لنا الطريق. كل كلمة تعلمتها منكم كانت مفتاحًا جديدًا فتح لي أبواب هذا الإنجاز.

إلى حو باد سمية، من كانت لي وطنًا حين شعرت بالغرابة، وكتفًا حين مالت الدنيا، وروحًا تُشبهني أكثر من نفسي. الاسم الذي لا يُكتب إلا مقرونًا بالحب، ولا يُذكر إلا وتغمرني الطمأنينة. كنت السند في صمتي، والقوة حين خارت عزيمتي، والضحكة التي تُرمم كل انكساراتي. لم تكوني صديقة فحسب، كنت الأخت التي اختارها قلبي قبل قدرتي، والملاك الذي رافق خطواتي حتى هذا اليوم. إليك يا أخت القلب قبل الدم، لا تكفيك كلمات الامتحان، ولا تعبر عنك حروف المحبة. تخرّجي لا يكتمل دون أن يُكتب فيه اسمك، لأنك كنت فيه بكل لحظاته، وما بعده لا يكون جميلًا إلا بوجودك. كنت سرّي الجميل وسط كل شيء.

إلى نفسي... يا من مشيتِ الدرب المثقل بالضغوط، والسهر، والخذلان أحيانًا، ولم تتراجع. يا من نزلتِ تعبًا، ثم نهضتِ، ومسحتِ دموعك بيدك، وأكملتِ الطريق بصبر لا يُقاس. ها أنتِ اليوم تقفين شامخة، تلوّحين بشهادةٍ لم تكن ورقةً فقط، بل انتصارًا حقيقيًا. لقد وصلت... بعد شكٍ طويل، وليلٍ ثقيل، وقلوبٍ لم تؤمن بكِ كما فعلتِ أنتِ. فلا أحد يستحق هذا الفخر كما تستحقينه، ولا أحد غيرك يعرف كم كان الوصول صعبًا.

تذكّري: هذه ليست نهاية الطريق...

إنها البداية الحقيقية لحلمٍ كنتِ دائمةً على قدره.

فأمني بنفسك كما أمنتِ بها يوم لم يؤمن أحد.

مبارك لكِ هذا الإنجاز يا أنتِ...

وإلى من غاب عن عيوني، لكنه لم يغيب عن قلبي...

إلى من كان يرافقتني بالدعاء، ويشد من أزري بالكلمة، ويشعل أمني حين ينطفئ، إلى من كان سكننا لروحي، وسندا في صمته وحضوره أعلم أن البعد لم يكن خيارك، وأشعر بك في كل خطوة، في كل لحظة فرح، وفي كل تنهيدة تعب....

أهديك هذا التخرج، كما لو أنك هنا، تبتسم لي وتقول: "أنا فخور بك"

كنت حاضرًا في كل لحظة، وستبقى حاضرًا دائمًا، لأن من يسكن القلب لا ترحله المسافات، ولا تغيبه الأيام.

إلى كل من أحبني بصدق، ورافقتني في هذا الطريق....

هذا التخرج ليس لي وحدي، بل هو لكم جميعًا. أنتم الحكاية الجميلة التي كتبت معها فصلاً من النجاح، وذاكرة لن

تنسى ما حييت.

دمتم في رعاية الله،

مريم





إلى فلسطين النابضة وجعاً، إلى غزة

الجرح المفتوح على امتداد الضمير حيث لا معنى لأي فرحة ما دام هناك طفل يبكي، وأم تودّع، وأرض تقاوم بالحياة
سلامً إلى من سكنوا القلوب ورفعوا رؤوسنا رغم الرماد ففرحتنا تبقى ناقصة ما لم تزهّر في أرضكم الحرية

إلى أبتني الحبيب

الذي ضحّى بالكثير لأجل أن أبلغ هذا المقام منك استمددت عزيمتي، وبك أفتخر دائماً

كل نجاح لنا هو ثمرة تعبك، صبرك، وتضحياتك يا غالي

إلى أُمي الحبيبة

من كنتِ الدعاء الصادق في غيابي، واليد الحانية في تعبي

كل لحظة فرح أعيشها، أنت من زرعتها بدعواتك وحنانك لك مني عمر من الشكر لا يكفي، وحب لا ينتهي.

إلى أخواتي، من اشتدّ بهنّ عضدي، وكنّ الحائط الذي لا يميل، وإلى صغيرتي سرسورتِي، رقيقة ضحكتي وطفلتي
الجميلة

إلى أخي الوحيد، رفيق الروح وسندي الأبدِي

إلى جدتي، التي علّمتنا أن الحنان لا يُورث بل يُصنع

إلى خالتي، جميلك محفور في قلبي ما حييت، لا يُنسى ولا يُجحد

إلى عائلتي الصغيرة، التي وإن ضاقت بنا الأيام، وسّعتها بمحبتها

إلى صغيرتنا ريموش خالتك تحبك جداً

إلى صديقات عمري، شريكات الضحكة والدمعة، رفيقات التفاصيل الجميلة في كل لحظة

وأخصّ بالذكر من حملن معي ثقل هذه الايام سرسوري وز عايميتي

كنتما الأمان حين غابت السكينة والاتساع كلما ضاقت بي الدنيا

إلى مريومتِي

رفيقة هذه الرحلة، مرّاتي حين أبحث عن ذاتي هذا العمل لا يُروى إلا بك، ولا يُكتمل إلا بحضورك

وإلى من علمونا، من وضعوا حجر الأساس لهذا الدرب،

لم ولن ننساكم، وإن مرّ الزمن وابتعدت الخطى، فبعض المعروف يظل محفوراً في القلب،

جزاكم الله عنا كل خير، وأثابكم بما لا تعدّه الكلمات

محبتكم دائماً،
سمية



Liste des abréviations

Liste des abréviations

APCs: Antigen-Presenting Cells, cellules présentatrices d'antigènes.

CD47: Cluster of Differentiation 47, cluster de différentiation.

CD56^{bright} : Sous-population de cellules NK fortement exprimant CD56

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPNPC : Cancer du Poumon Non à Petites Cellules

CSC : Cellules Souches Cancéreuses

CTLA4 : Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4, protéine 4 associée aux lymphocytes T cytotoxiques

DAPI12 : DNAX-Activating Protein of 12 kDa, protéine activatrice DNAX de 12 KDa

DT1 : Diabète de Type 1

ERK : Extracellular signal-regulated kinase, kinase régulée par les signaux extracellulaires

GM-CSF : Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor, Facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages

GWAS: Genome-Wide Association Study

IFN- γ : Interferon gamma

Ig : Immunoglobuline

IL-12 : Interleukine 12

IL-1 β : Interleukine 1 beta

***In silico* :** Analyse bio-informatique effectuée par modélisation informatique

ITIM: Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif

LATS1: Large Tumor Suppressor Kinase 1

LED : Lupus Érythémateux Disséminé

LUAD : Lung Adenocarcinoma, l'adénocarcinome pulmonaire

LUSC: Lung Squamous Cell Carcinoma, le carcinome épidermoïde pulmonaire

MEK : Mitogen-Activated protein kinase, Protéine kinase activée par les mitogènes

Liste des abréviations

MST1: Mammalian Sterile 20-like kinase 1

NK : Natural Killer, cellules tueuses naturelles

PP2A : Protéine Phosphatase 2A

PTM : Post-transnational modification, Modification post-traductionnelle

RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, Réaction de Polymérisation en Chaîne par Transcription Inverse

SEP : Sclérose en Plaques

SIRP: Signal Regulatory Protein

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

SOX2 : SRY-Box Transcription Factor

THP-1 : Ligne cellulaire de monocytes humains

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

YAP : Yes-Associated Protein (composant de la voie Hippo/YAP)

ZAP70 : Zeta-Chain-Associated Protein kinase 70

Liste des figures

Figure 1.1. Localisation chromosomique du gène SIRP γ (selon Genecards).....	5
Figure 1.2. Interactions of members of the signal-regulatory protein family.....	6
Figure 1.3. Structure 3D de la protéine régulatrice du signal humain gamma	7
Figure 1.4. Rôle immunomodulateur de l'axe SIRP γ -CD47 dans les cellules T et NK	9
Figure 1.5. Implication de SIRP γ dans le maintien des cellules souches cancéreuses et l'échappement immunitaire dans l'adénocarcinome pulmonaire	11
Figure 1.6. Implication de SIRP γ dans l'immunomodulation du microenvironnement	12
tumoral du carcinome épidermoïde pulmonaire	12
Figure 1.7. Approches immunothérapeutiques ciblant SIRPs et CD47 pour la prévention ou le contrôle du diabète de type 1.....	13
Figure 1.8. Les FS γ V et le CpG potentialisent l'immunité antitumorale via une phagocytose efficace des cellules cancéreuses par les cellules présentatrices d'antigènes (APCs)	15
Figure 2.1. study design	23
Figure 2.2. Recherche des séquences sur la base de données UniProt.....	24
Figure 2.3. Prédiction des sites de phosphorylation par GPS 6.0.....	25
Figure 2.4. Prédiction des sites de phosphorylation par MusiteDeep	26
Figure 2.5. Prédiction des sites de phosphorylation par NetPhos 3.1	27
Figure 2.6. Prédiction des sites de méthylation par GPS-MSP.....	28
Figure 2.7. Prédiction des sites de méthylation par PRmePRed	29
Figure 2.8. Prédiction des sites d'ubiquitination par GPS-Uber.....	30
Figure 2.9. Prédiction des sites de carbonylation par ICARPS.....	31
Figure 2.10. Prédiction des sites de nitration de tyrosine par GPS-YNO2	32
Figure 2.11. Prédiction des sites de S-nitrosylation par GPS-SNO.....	33
Figure 2.12. Prédiction des sites de S-nitrosylation par DeepNitro	34
Figure 2.13. Modélisation des structures 3D des protéines par swiss-model	35
Figure 2.14. Modélisation des structures 3D des protéines par Phyre2	36
Figure 2.15. Évaluations de la qualité des structures des protéines par ERRAT.....	37
Figure 2.16. Évaluations de la qualité des structures des protéines par PROCHEK	38
Figure 2.17. Alignement des structures des protéines par TM-align.....	39
Figure 2.18. Superposition de la structure 3D de SIRP γ réalisée avec Chimera.....	40

Liste des tableaux

Tableau 3.1. Résultats de la prédiction des sites de modification post-traductionnelle **Error!**
Bookmark not defined.

Tableau 3.2. Examen des effets des nsSNPs sur la structure de SIRP γ par Swiss-Model **Error!**
Bookmark not defined.

Tableau 3.3. Estimations de qualités de la protéine SIRP γ modélisés par Swiss-Model **Error!**
Bookmark not defined.

Tableau 3.4. Résultats des diagrammes de Ramachandran des structures modélisées par SWISS-MODEL de SIRP γ (via PROCHECK). **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 3.5. examen des effets des nsSNPs sur la structure de SIRP γ (test par Phyre2) **Error!**
Bookmark not defined.

Tableau 3.6. Résultats des diagrammes de Ramachandran des structures modélisées par phyre2 de SIRP γ (via PROCHECK). **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 3.7. Visualisation et superposition des structures modélisées de la protéine SIRP γ à l'aide de SWISS-MODEL..... **Error! Bookmark not defined.**

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract	iv
المُلخَص.....	v
Remerciements	vi
Dédicace.....	vii
Liste des abréviations	ix
Liste des figures.....	xi
Liste des tableaux.....	xii
Table des matières.....	xiii
Introduction.....	1
Chapitre I : Revue de la littérature	4
1.1. SIRP γ	4
1.1.1 Généralités	4
1.1.2 Gène de SIRP γ	5
1.1.3 Expression du gène SIRP γ	5
1.1.4 Structure de SIRP γ	5
1.1.5 L'interaction de CD47-CD172g.....	7
1.1.6. Rôle de SIRP γ dans la réponse immunitaire.....	9
1.1.6.1. Rôle de SIRP γ dans la réponse immunitaire innée	9
1.1.6.2. Effets de SIRP γ sur la fonction des lymphocytes T	10
1.1.7. Implications de SIRP γ dans le cancer	10
1.1.7.1. L'immunité anticancéreuse	10
1.1.7.2. Rôle de SIRP γ dans l'adénocarcinome pulmonaire (LUAD)	10
1.1.7.3. Rôle de SIRP γ dans le carcinome épidermoïde pulmonaire (LUSC).....	11
1.1.8 SIRP γ dans les maladies auto-immunes	12
1.1.8.1 SIRP γ et diabète de type 1	12
1.1.8.2. SIRP γ et la sclérose en plaques.....	13
1.1.8.3. SIRP γ et lupus érythémateux systémique.....	13
1.1.9. Potentiel thérapeutique	14
1.1.9.1. Cible thérapeutique par un nanocage antagoniste Ferritine-SIRP γ	14
1.2. Polymorphisme nucléotidique simple.....	15
1.2.1. Généralités	15
1.2.2. Classification des SNPs	16
1.2.2.1. Les SNPs dans les régions codantes	16
1.2.2.2. Les SNPs dans les régions non codantes	16

Table des matières

1.2.3. Analyse <i>in silico</i> des SNP	16
1.3. Modification post traductionnelle	17
1.3.1. Généralités	17
1.3.2. Phosphorylation	17
1.3.3. Méthylation	18
1.3.4. Ubiquitination	18
1.3.5. Carbonylation	18
1.3.6. Nitration de la tyrosine	18
1.3.7. S-nitrosylation	19
1.3.8. Effets des SNPs sur les modifications post-traductionnelles	19
Problématique	20
Objectif	20
But	20
Chapitre II : Matériels et méthodes	22
2.1. Plan d'étude	22
2.2. Collecte de données et sélection de séquences de protéines	24
2.3. Prédiction des modifications post traductionnelles	24
2.3.1. Prédiction des sites de phosphorylation	25
2.3.2. Prédiction des sites de méthylation	27
2.3.3. Prédiction des sites d'ubiquitination	29
2.3.4. Prédiction des sites de carbonylation	30
2.3.5. Prédiction des sites de nitration de tyrosine	31
2.3.6. Prédiction des sites de S-nitrosylation	33
2.4. Modélisation moléculaire	34
2.4.1. Modélisation moléculaire par SWISS-MODEL	34
2.4.2. Modélisation moléculaire par Phyre2	35
2.5. Évaluations de la qualité des structures des protéines modélisées	36
2.6. Alignement et superposition des structures tridimensionnelles des protéines	38
Chapitre III : Résultats et interprétation	Error! Bookmark not defined.
3.1. Prédiction des sites de modification post traductionnelle	Error! Bookmark not defined.
3.2. Modélisation moléculaire	Error! Bookmark not defined.
3.2.1. Modélisation moléculaire par SWISS-MODEL	Error! Bookmark not defined.
3.2.2. Modélisation moléculaire par Phyre2	42
Chapitre IV : Discussion	44
Chapitre V : Conclusion et Perspectives	47
Chapitre VI : Bibliographies	49

Table des matières

Annexes.....	60
--------------	----

INTRODUCTION

Introduction

Introduction

CD172g également appelé SIRP γ ou SIRP β 2, est une protéine transmembranaire appartenant à la famille des protéines régulatrices de signal (SIRP) (**van Beek et al., 2005**). Cette famille comprend plusieurs membres dont SIRP α , SIRP β et SIRP γ , qui partagent des domaines extracellulaires homologues de type immunoglobuline, mais se distinguent par leurs domaines transmembranaires et cytoplasmiques uniques (**Barclay and Brown, 2006**). Ces protéines sont essentielles pour réguler les réponses immunitaires, en influençant les interactions entre les cellules immunitaires et leur microenvironnement. Parmi ces membres, SIRP γ est principalement exprimée sur les lymphocytes T, les cellules tueuses naturelles (NK) CD56^{bright} et toutes les cellules NK activées (**Luo et al., 2024**).

CD47 est une molécule ubiquitaire, exprimée par la majorité des cellules de l'organisme, y compris les thymocytes, les lymphocytes T et B, les monocytes, les érythrocytes et les cellules nerveuses (**Liao and Niu, 2022; Su et al., 2023**). Elle interagit avec les membres de la famille SIRP, en particulier SIRP γ , pour réguler les réponses immunitaires (**Joanne E. Nettleship et al., 2013**). L'interaction entre SIRP γ et CD47 joue un rôle important dans la régulation de la migration des lymphocytes T à travers l'endothélium, contribuant ainsi aux réponses immunitaires et inflammatoires (**Stefanidakis et al., 2008**).

Une étude récente a montré que l'interaction SIRP γ -CD47 régule l'adhésion cellulaire et module l'activation des lymphocytes T, jouant ainsi un rôle clé dans la réponse immunitaire (**Dehmani et al., 2021a; Sharp et al., 2021a; van Helden et al., 2023**). De plus, SIRP γ intervient dans la migration trans-endothéliale des lymphocytes T, favorisant leur circulation vers les tissus inflammatoires et intervient également dans la migration trans-endothéliale des lymphocytes T, favorisant leur circulation vers les tissus inflammatoires (**Stefanidakis et al., 2008**), et participe à l'adhésion des macrophages ainsi qu'à la phagocytose des cellules cancéreuses (**van Beek et al., 2005**).

SIRP γ joue un rôle clé dans la modulation des réponses immunitaires (**Sinha et al., 2020a**) et l'échappement immunitaire des cellules tumorales. Il participe à la régulation de voies de signalisation critiques, comme la cascade Hippo/YAP, qui influence la survie et la prolifération des cellules cancéreuses (**C. Xu et al., 2022a**).

Introduction

Ces mécanismes font de SIRP γ une cible potentielle pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques visant à restaurer la réponse immunitaire antitumorale (**Joanne E. Nettleship et al., 2013**).

les polymorphismes mononucléotidiques (SNPs), définis par la substitution d'un seul nucléotide dans la séquence génomique, représentent la forme la plus courante de variation dans le génome humain (**Azizzadeh-Roodpish et al., 2021**). Bien que la plupart des SNP soient sans conséquence fonctionnelle, certains peuvent altérer l'expression des gènes, la structure des protéines ou la stabilité de l'ARN messenger, contribuant ainsi à des pathologies (**Azizzadeh-Roodpish et al., 2021; Edwards et al., 2007; Xiong et al., 2019**).

Ces variations influencent des traits physiques, la réponse aux médicaments et la susceptibilité à des maladies complexes comme le cancer, le diabète et les troubles psychiatriques (**Choura and Rebaï, 2009 ; Shastry, 2009**).

Plusieurs SNPs dans le gène *SIRPG*, tels que rs2281808 et rs6043409, ont été associés à une susceptibilité accrue au diabète de type 1 et à d'autres maladies auto-immunes (**Sharp et al., 2021a**). Ces variants pourraient influencer l'expression de SIRP γ en favorisant des isoformes alternatives, altérant ainsi sa fonction immunorégulatrice, notamment dans la modulation de l'activation des lymphocytes T et NK (**Smith et al., 2022**).

Les analyses *in silico* représentent une approche puissante pour évaluer l'impact potentiel de ces variations., notamment ceux qui affectent les protéines. Elle offre une prédiction précise des SNP délétères en examinant leurs effets sur la structure, la stabilité et l'activité biologique des protéines (**Dabhi and Mistry, 2014b**).

Le présent travail s'inscrit dans cette perspective, en analysant les conséquences structurelles et fonctionnelles de SNPs délétères dans SIRP γ , à l'aide des outils bio-informatiques intégrant les modifications post-traductionnelles et la modélisation moléculaire.

Chapitre I : Revue de la littérature

Chapitre I : Revue de la littérature

1.1. SIRP γ

1.1.1 Généralités

La famille des Signal Regulatory Proteins (SIRP) regroupe des glycoprotéines transmembranaires de type I impliquées dans la régulation des réponses immunitaires innées et adaptatives (**Piccio et al., 2005a**). Elle comprend trois membres principaux SIRP α , SIRP β et SIRP γ (**van Beek et al., 2005**) qui partagent une structure commune composée d'un domaine extracellulaire à motifs immunoglobulines (Ig), d'une région transmembranaire et d'un domaine cytoplasmique de longueur variable (**Joanne E. Nettleship et al., 2013; Visser et al., 2023**).

Les SIRP sont exprimées principalement par les cellules immunitaires (macrophages, cellules dendritiques, neutrophiles) ainsi que dans le système nerveux central (**Barclay and Brown, 2006**). Elles jouent un rôle clé dans l'immunité anticancéreuse en modulant la phagocytose des cellules tumorales et la présentation des antigènes au système immunitaire adaptatif. Par exemple, SIRP α interagit fortement avec CD47, agissant comme un « signal de protection contre la phagocytose » (**Eladl et al., 2020; Koga et al., 2021**), tandis que SIRP- β 2 favorise l'adhésion, la différenciation et la phagocytose des cellules cancéreuses par les macrophages, tout en amplifiant l'activation des cellules T via DAP12 (**Lanier, 2009**).

SIRP γ , quant à elle, exprimée préférentiellement sur les lymphocytes T (**Luo et al., 2024**), ainsi que sur les cellules NK CD56^{bright} et les cellules NK activées (**van Helden et al., 2023**). Elle interagit faiblement avec CD47 et favorise l'adhésion cellulaire via des mécanismes indépendants des intégrines. Bien qu'elle ne possède pas de fonction de signalisation intrinsèque en raison de son domaine cytoplasmique très court, SIRP γ joue un rôle essentiel dans la détermination du phénotype des cellules souches cancéreuses (CSC) et contribue à leur capacité à échapper à la phagocytose (**C. Xu et al., 2022a**).

1.1.2 Gène de SIRP γ

La protéine codée par le segment d'ADN *SIRPG* (Sharp et al., 2021a) est composée de 387 acides aminés et est issue de 6 séquences codantes (exons), codant pour une protéine de la famille SIRP, et situé sur le chromosome 20, plus précisément dans la région 20p13 (Visser et al., 2023a). Cette région chromosomique abrite des gènes impliqués dans des processus clés comme l'adhésion cellulaire et la régulation immunitaire (C. Xu et al., 2022a)(figure 1.1).

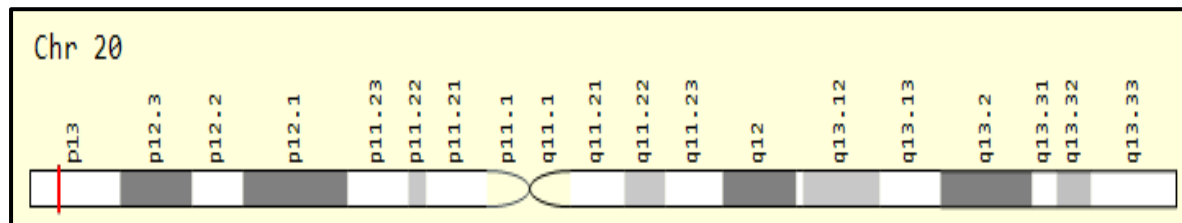


Figure 1.1. Localisation chromosomique du gène SIRP γ (selon Genecards)

1.1.3. Expression du gène *SIRPG*

Le gène *SIRPG*, codant pour la protéine SIRP γ , présente une expression tissulaire principalement localisée dans le foie, avec des niveaux plus faibles observés dans le cerveau, le cœur, les poumons, le pancréas, les reins, le placenta et les muscles squelettiques (Ichigotani et al., 2000). Son expression est spécifique aux primates, notamment chez l'humain, et absente chez les rongeurs (Luo et al., 2024; Stefanidakis et al., 2008).

Au niveau cellulaire, SIRP γ est détectée sur plusieurs sous-populations de cellules immunitaires, notamment les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺, les cellules NK CD56^{bright}, les cellules CD20⁺ (principalement des lymphocytes B), ainsi que sur toutes les cellules NK activées (Dehmani et al., 2021). L'expression varie selon les sous-types de lymphocytes T, ce qui pourrait refléter des différences dans la régulation transcriptionnelle du gène *SIRPG* (Sinha et al., 2018a).

L'étude de l'expression de *SIRPG* a été réalisée à la fois au niveau transcriptionnel et protéique. L'ARNm de SIRP γ a été détecté par RT-PCR cyclique et limitée, confirmant sa présence dans les tissus mentionnés précédemment (Ichigotani et al., 2000).

1.1.4 Structure de SIRP γ

La structure des SIRP est marquée par une homologie élevée dans les domaines extracellulaires de type Ig, qui permettent des interactions spécifiques avec des ligands tels que CD47 (Wallisch et al., 2024). Cependant, les domaines transmembranaires et cytoplasmiques varient significativement entre les membres, conférant à chaque sous-type des propriétés fonctionnelles distinctes. Par

exemple, SIRP α possède des motifs ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs) dans son domaine cytoplasmique (Seiffert et al., 2001), lui permettant de transmettre des signaux inhibiteurs (Dehmani et al., 2021). En revanche, SIRP β et SIRP γ ont des domaines cytoplasmiques courts, mais SIRP β interagit avec des protéines adaptatrices comme DAP12 pour induire une signalisation activatrice (Lanier, 2009)(figure 1.2). Cette diversité structurale reflète la complexité des rôles fonctionnels des SIRP dans la régulation immunitaire, allant de l'inhibition de la phagocytose à la modulation de l'adhésion cellulaire et de l'activation des lymphocytes T (Joanne E Nettleship et al., 2013 ;Visser et al., 2023).

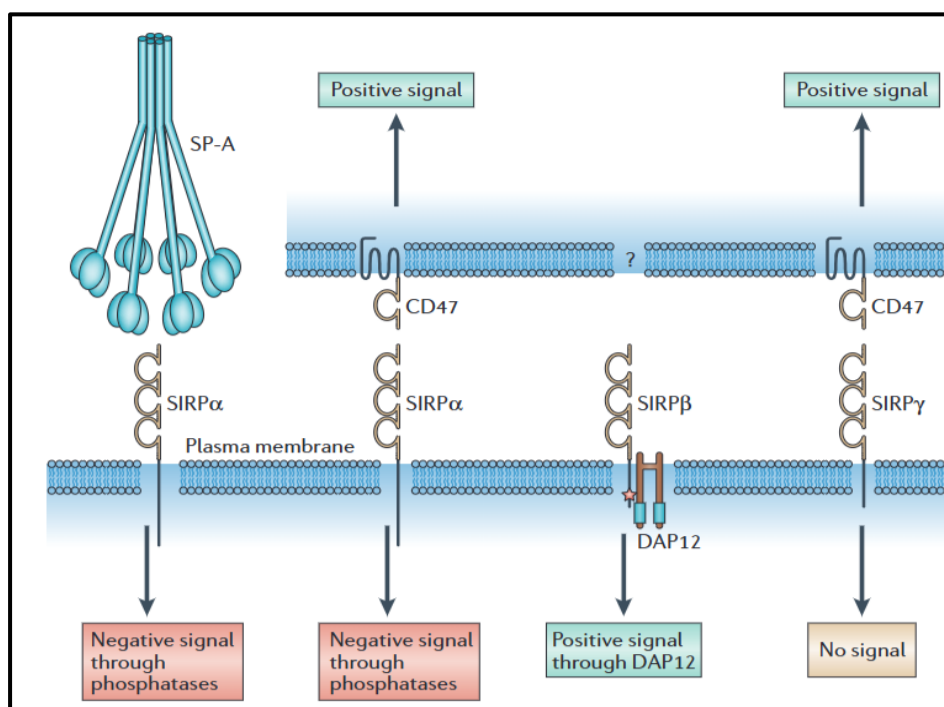


Figure 1.2. Interactions of members of the signal-regulatory protein family (Barclay and Brown, 2006)

SIRP γ , classée parmi les glycoprotéines transmembranaires de type I, présente un domaine extracellulaire constitué de trois segments Ig-like (IgV suivi de deux IgC), caractéristiques de la famille SIRP (Barclay and Brown, 2006), mais se différencie nettement au niveau de sa portion intracellulaire. Bien que SIRP γ interagisse avec CD47, cette liaison est caractérisée par une affinité significativement plus faible ($K_d \approx 23 \mu\text{M}$) comparée à celle de SIRP α ($K_d \approx 2 \mu\text{M}$), ce qui appuie l'hypothèse d'un rôle modulateur plutôt qu'inhibiteur (Dehmani et al., 2021).

Chapitre I : revue de la littérature

La spécificité majeure de SIRP γ réside dans son domaine cytoplasmique extrêmement court, composé de seulement quatre acides aminés. Cette configuration exclut la présence de motifs ITIM (Sharp et al., 2021a) ou de sites de liaison pour des adaptateurs de signalisation, la rendant incapable de transduire un signal de manière autonome (Smith et al., 2022). Contrairement à SIRP β , SIRP γ ne s'associe pas avec DAP12 et ne participe pas à l'initiation de signaux activateurs intracellulaires (Barclay and Brown, 2006). Néanmoins, en interagissant avec CD47 via un mécanisme indépendant des intégrines, elle contribue à l'adhésion intercellulaire, en particulier au niveau des lymphocytes T et des cellules NK activées (Piccio et al., 2005a). Cette propriété pourrait jouer un rôle dans la formation de synapses immunologiques et dans la modulation de l'activation lymphocytaire, bien que les mécanismes sous-jacents restent à approfondir (van Helden et al., 2023; Visser et al., 2023a) (figure 1.3).

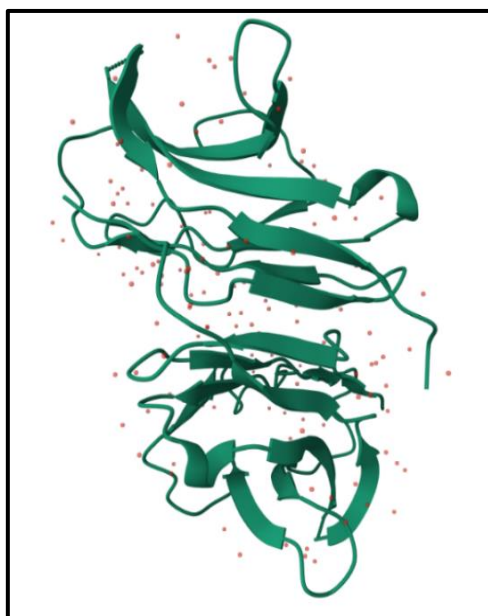


Figure 1.3. Structure 3D de la protéine régulatrice du signal humaine gamma

PDB DOI: <https://doi.org/10.2210/pdb2JJW/pdb>

1.1.5. L'interaction de CD47-CD172g

Le CD47, une protéine transmembranaire appartenant à la superfamille des immunoglobulines, est exprimé de manière ubiquitaire à la surface de divers types cellulaires (Kaur et al., 2021), notamment les thymocytes, les cellules T et B, les monocytes, les érythrocytes et les cellules nerveuses (Su et al., 2023). Cette protéine joue un rôle central dans la reconnaissance de soi en interagissant avec plusieurs ligands, dont SIRP α , SIRP γ , chacun ayant des affinités et des fonctions distinctes (Joanne E. Nettleship et al., 2013).

Chapitre I : revue de la littérature

CD47 interagit principalement avec SIRP α , un récepteur exprimé à la surface des macrophages. Cette interaction, caractérisée par une affinité élevée, inhibe la phagocytose, protégeant ainsi les cellules saines de la destruction immunitaire (Fenalti et al., 2021; Li et al., 2021). En plus de son rôle dans la reconnaissance de soi, CD47 est impliqué dans des processus biologiques variés, tels que la prolifération cellulaire, la migration (Stefanidakis et al., 2008), l'apoptose et la régulation de l'homéostasie immunitaire (Eladl et al., 2020; Hai et al., 2022).

les cellules tumorales détournent le mécanisme de CD47 en augmentant son expression, ce qui leur permet de contourner la surveillance immunitaire et de favoriser leur survie ainsi que leur dissémination métastatique. Cette surexpression de CD47 constitue un mécanisme clé d'échappement immunitaire dans de nombreux cancers (Su et al., 2023).

Des recherches récentes ont démontré que le blocage de l'interaction entre CD47 et SIRP α , via l'utilisation d'anticorps ciblant CD47, rétablit la capacité des macrophages à phagocyter les cellules tumorales et active une réponse immunitaire dirigée contre le cancer (J. Wang et al., 2025), ouvrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques pour le traitement des cancers solides et hématologiques (Fenalti et al., 2021; Hai et al., 2022).

En comparaison, SIRP γ , un autre membre de la famille des protéines SIRP, se distingue par son affinité plus faible pour CD47 par rapport à SIRP α . Contrairement à SIRP α , qui inhibe principalement la phagocytose, SIRP γ joue un rôle plus subtil dans la régulation de l'activation des cellules T et dans la signalisation intracellulaire (Sharp et al., 2021a).

Cette interaction médiatise l'adhésion cellulaire plutôt que des signaux inhibiteurs. Par exemple, l'adhésion entre SIRP γ sur les cellules T et CD47 sur les cellules présentatrices d'antigènes (APCs) favorise la prolifération des cellules T spécifiques de l'antigène et stimule leur activation (Piccio et al., 2005a).

SIRP γ facilite aussi la déphosphorylation de MST1 par PP2A dans le cancer, activant ainsi la cascade de signalisation Hippo/YAP. Cette voie régule à la hausse l'expression de CD47, conduisant à un échappement immunitaire accru (Dehmani et al., 2021a; Luo et al., 2024) (figure 1.4).

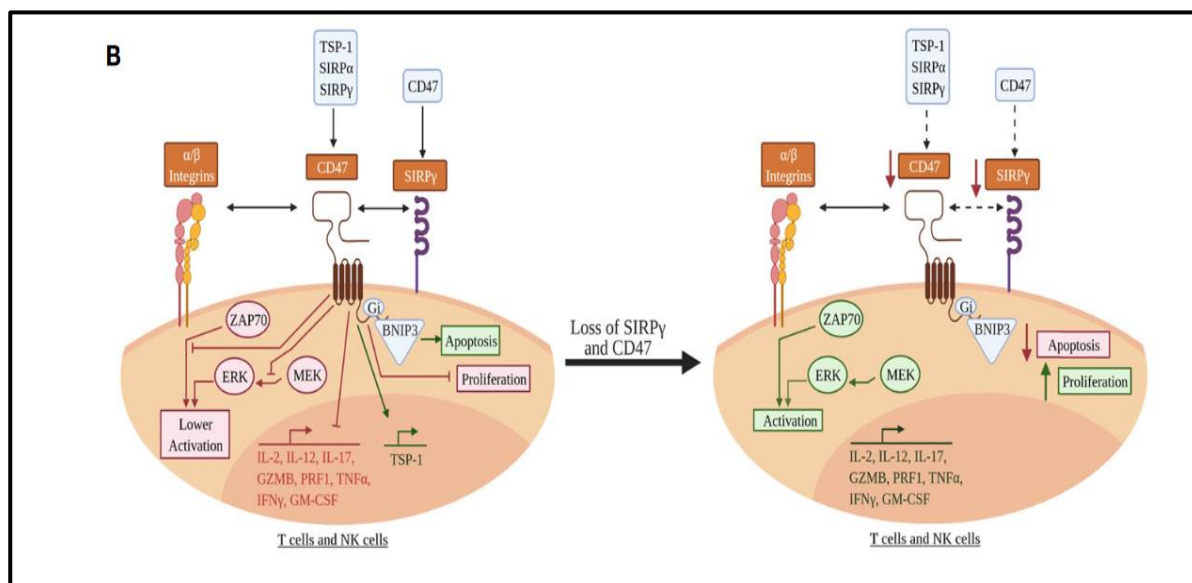


Figure 1.4. Rôle immunomodulateur de l'axe SIRP γ -CD47 dans les cellules T et NK

Le schéma illustre le rôle inhibiteur de l'axe SIRP γ -CD47 dans l'activation des cellules T et NK. Leur co-expression bloque la signalisation via ZAP70, MEK et ERK, réduisant ainsi l'activation, la prolifération et la production de cytokines pro-inflammatoires. De plus, l'activation de BNIP3 favorise l'apoptose et la perte de SIRP γ et/ou CD47 restaure l'activation des voies de signalisation, stimule la réponse cytotoxique, diminue l'apoptose et favorise la prolifération. Cela suggère que l'inhibition de cet axe pourrait renforcer l'immunité antitumorale (Sharp et al., 2021a).

1.1.6. Rôle de SIRP γ dans la réponse immunitaire

1.1.6.1. Rôle de SIRP γ dans la réponse immunitaire innée

SIRP γ participe à la réponse immunitaire innée en interagissant avec DAP12, une protéine adaptatrice clé qui amplifie les signaux activateurs dans les cellules immunitaires. Cette interaction favorise le recrutement de DAP12 par SIRP γ , conduisant à une régulation positive de la phagocytose et de l'adhésion cellulaire dans les macrophages et les granulocytes (Visser et al., 2023).

De plus, l'expression de SIRP γ sur les cellules THP-1 (un modèle de monocytes / macrophages humains) améliore leur capacité à présenter des antigènes via les molécules du CMH de classe II, renforçant ainsi l'activation des lymphocytes T auxiliaires (Dehmani et al., 2021b). SIRP γ module aussi la réponse inflammatoire en stimulant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN- γ , dont la production dépend de l'engagement de DAP12 dans les cellules myéloïdes (Piccio et al., 2005).

1.1.6.2. Effets de SIRP γ sur la fonction des lymphocytes T

Dans les lymphocytes T, SIRP γ potentialise l'activation en synergie avec les molécules du CMH de classe I présentées par les cellules dendritiques, améliorant ainsi la reconnaissance des antigènes tumoraux ou viraux (Andrejeva et al., 2021). L'interaction SIRP γ -CD47 sur les cellules THP-1 favorise également la formation de synapses immunologiques stables, nécessaires à une activation prolongée des lymphocytes T (Dehmani et al., 2021b). Par ailleurs, le recrutement de DAP12 par SIRP γ dans les lymphocytes T NK-like contribue à leur cytotoxicité contre les cellules cibles exprimant le CMH de classe I altéré (Piccio et al., 2005b). Bien que SIRP γ soit exprimé sur les lymphocytes T régulateurs, son inhibition n'affecte pas leur fonction suppressive, suggérant un rôle spécifique dans les réponses effectrices plutôt que régulatrices (Visser et al., 2023c).

1.1.7. Implications de SIRP γ dans le cancer

1.1.7.1. L'immunité anticancéreuse

SIRP γ s'impose récemment comme un régulateur majeur dans divers processus oncogéniques (Visser et al., 2023), notamment par sa participation à la modulation de la réponse immunitaire antitumorale et à la dynamique du microenvironnement tumoral (Luo et al., 2024). Sa surexpression dans certaines tumeurs malignes suggère une contribution potentielle à la progression tumorale et aux mécanismes d'échappement au système immunitaire (Xu et al., 2022). Dans le cancer du poumon non à petites cellules, cette molécule suscite un intérêt croissant, notamment en raison de son implication potentielle dans les principaux sous-types histologiques : l'adénocarcinome pulmonaire et le carcinome épidermoïde pulmonaire (Mao et al., 2024; C. Xu et al., 2022a).

1.1.7.2. Rôle de SIRP γ dans l'adénocarcinome pulmonaire (LUAD)

L'adénocarcinome pulmonaire (LUAD) constitue le sous-type le plus fréquent du cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC), en particulier chez les non-fumeurs (Chang et al., 2025). Bien que les thérapies ciblées et l'immunothérapie aient permis des avancées notables, la survie reste faible aux stades avancés. Cette situation s'explique par la persistance de cellules tumorales résistantes, la formation de métastases et l'échappement aux défenses immunitaires (Guo et al., 2025).

Les cellules souches cancéreuses (CSC) jouent un rôle central dans ces processus en orchestrant la progression tumorale, la résistance thérapeutique et l'immunoévasion (Chen et al., 2014). Récemment, SIRP γ a été identifié comme un régulateur clé des CSC dans le LUAD. Un niveau élevé d'expression de favorise à la fois le maintien des CSC et l'échappement immunitaire via l'induction de CD47 (Mao et al., 2024), une molécule de surface impliquée dans le signal "Don't eat me" transmis aux macrophages par interaction avec SIRP α (Wang et al., 2025 ; Che et al., 2025).

SIRP γ recrute alors la phosphatase PP2A, entraînant la déphosphorylation de MST1 (Luo et al., 2024), ce qui inhibe l'axe MST1/LATS1 et active la voie Hippo/YAP (Brosseau, 2023). Cette activation conduit à la translocation nucléaire de YAP, favorisant l'expression de gènes pro-tumoraux tels que SOX2 (Basu-Roy et al., 2015) et CYR61, ainsi que de cytokines immunosuppressives IL-1 β et GM-CSF. Ces cytokines, sécrétées par les CSC, renforcent l'expression de CD47, établissant une boucle autocrine/paracrine essentielle à l'inhibition de la phagocytose et à la tumorigénicité. L'ajout exogène d'IL-1 β et de GM-CSF à des cellules déficientes en SIRP γ restaure complètement ces phénomènes, démontrant leur rôle clé (C. Xu et al., 2022a) (figure 1.5).

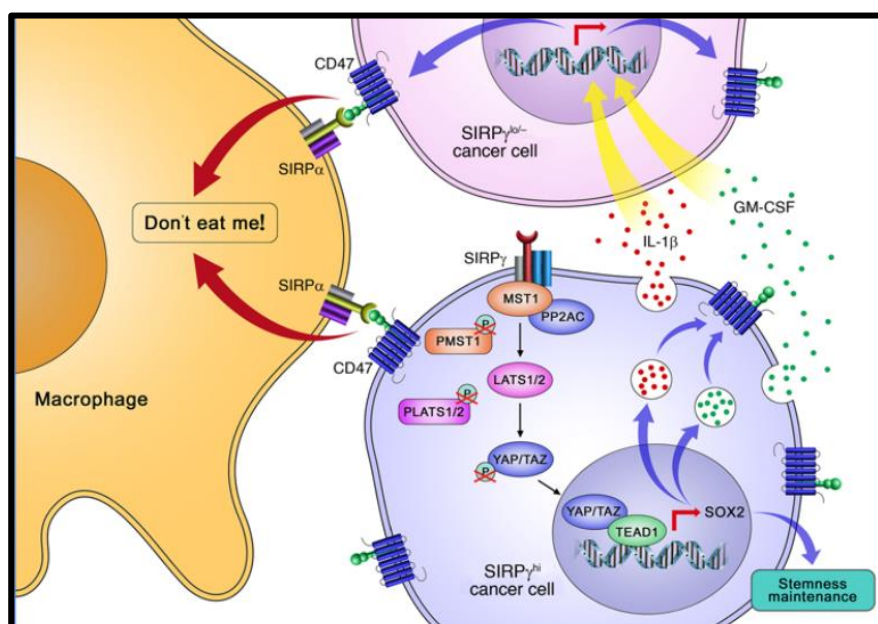


Figure 1.5. Implication de SIRP γ dans le maintien des cellules souches cancéreuses et l'échappement immunitaire dans l'adénocarcinome pulmonaire (C. Xu et al., 2022a)

1.1.7.3. Rôle de SIRP γ dans le carcinome épidermoïde pulmonaire (LUSC)

Dans le carcinome épidermoïde pulmonaire (LUSC), SIRP γ régule de manière déterminante la réponse immunitaire antitumorale en modulant la polarisation des macrophages. L'interaction entre SIRP γ et ses ligands membranaires active des voies de signalisation favorisant la différenciation des macrophages vers le phénotype M1 (Mao et al., 2024), caractérisé par une capacité accrue à éliminer les cellules tumorales (Peranzoni and Donnadiu, 2019). Ces macrophages M1 sécrètent des médiateurs pro-inflammatoires (IL-12, TNF- α) et des espèces réactives de l'oxygène, induisant une réponse cytotoxique directe contre les cellules cancéreuses tout en recrutant des lymphocytes T effecteurs (Cendrowicz et al., 2021; Zheng et al., 2017) (figure 1.6). Des données précliniques récentes indiquent que l'expression

de *SIRPG* est fréquemment altérée dans le microenvironnement tumoral du LUSC, entraînant un déséquilibre en faveur des macrophages M2 immunosuppresseurs (Mao et al., 2024).

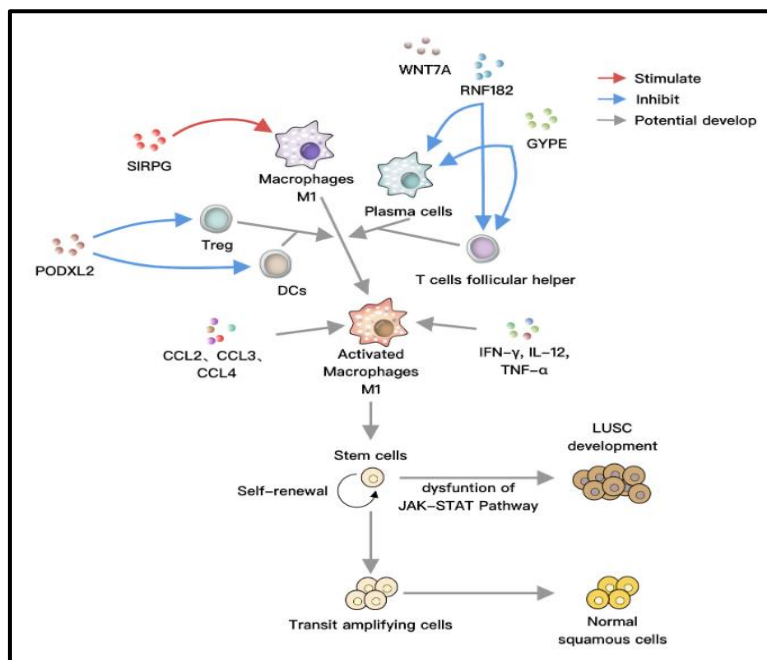


Figure 1.6. Implication de SIRP γ dans l'immunomodulation du microenvironnement tumoral du carcinome épidermoïde pulmonaire (Mao et al., 2024)

1.1.8 SIRP γ dans les maladies auto-immunes

1.1.8.1 SIRP γ et diabète de type 1

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune polygénique caractérisée par une attaque des lymphocytes T contre les cellules β pancréatiques (Yazdanpanah et al., 2022). Des études d'association pangénomique (GWAS) ont identifié *SIRPG*, codant pour la protéine SIRP γ , comme un locus de susceptibilité au DT1, aux côtés de gènes clés de co-signalisation T, tels que CD226 et CTLA4 (Sinha et al., 2020a).

Parmi les variantes associées, le SNP rs6043409 (G>A) provoque une substitution d'une alanine par une valine en position 263 dans l'exon 4, ce qui peut altérer la structure de la protéine, avec des effets potentiellement fonctionnels sur l'activation des lymphocytes T (Sharp et al., 2021a). En parallèle, le SNP intronique rs2281808 (C>T), situé entre les exons 5 et 6, est lié à une modulation de l'épissage alternatif, ce qui modifie la distribution des isoformes de SIRP γ (Sinha et al., 2018a). Des analyses *in silico* suggèrent que cette variation pourrait favoriser l'épissage d'isoformes tronquées, réduisant ainsi l'expression de SIRP γ à la surface cellulaire. Ces modifications pourraient perturber l'équilibre de la régulation immunitaire, un mécanisme clé dans le développement du DT1 (Yazdanpanah et al., 2022).

Les immunothérapies pourraient permettre d'augmenter l'expression de SIRP γ et/ou de CD47 sur les lymphocytes T pour des thérapies cellulaires adoptives, ou de CD47 sur les cellules β dérivées de cellules souches avant transplantation, dans le but de limiter la récurrence de l'auto-immunité (Sharp et al., 2021a) (figure 1.7).

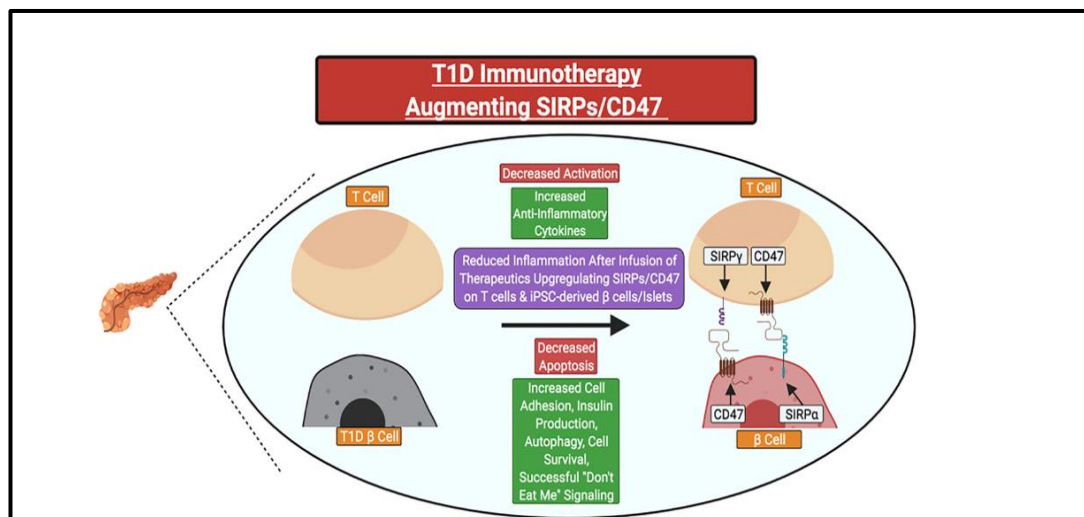


Figure 1.7. Approches immunothérapeutiques ciblant SIRPs et CD47 pour la prévention ou le contrôle du diabète de type 1 (Sharp et al., 2021a)

1.1.8.2. SIRP γ et la sclérose en plaques

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie inflammatoire auto-immune chronique et dégénérative (Daneshvar et al., 2025), caractérisée par une démyélinisation et des lésions axonales au niveau du cerveau et de la moelle épinière (Hartung et al., 2015). Des études récentes ont mis en évidence une implication de SIRP γ dans la pathogenèse de la SEP, notamment par l'association du polymorphisme rs2281808 avec une hyperactivation des lymphocytes T et une expression réduite de SIRP γ sur les sous-populations T CD4⁺ et CD8⁺ (Sinha et al., 2018a). Cette altération du profil immunitaire suggère un rôle potentiel de SIRP γ dans la dérégulation de la réponse immunitaire, contribuant à la progression de la maladie (Sinha et al., 2020a).

1.1.8.3. SIRP γ et lupus érythémateux systémique

Le lupus érythémateux disséminé (LED) est une maladie auto-immune systémique caractérisée par une activation aberrante des lymphocytes T et B (Zhidong Wang et al., 2025), associée à une perte de tolérance immunitaire et à la production d'auto-anticorps dirigés contre des antigènes nucléaires, entraînant des atteintes inflammatoires multi-organes (Quan et al., 2024). Cette pathologie serait liée à des polymorphismes du gène *SIRPG* (rs2281808 et rs6043409), comme l'ont démontré des études

génétiques établissant un lien avec diverses maladies auto-immunes (**Sharp et al., 2021b**), impliquant particulièrement la protéine SIRP γ dans la dysrégulation des réponses immunitaires (**Sinha et al., 2018b**).

Un mécanisme clé suggéré implique l'activation accrue des lymphocytes T via l'interaction CD47-SIRP γ , particulièrement marquée durant les phases actives de la maladie (**Kawasaki et al., 2009**). Ces observations sont corroborées par des données montrant une expression altérée de SIRP γ chez les patients, susceptible de modifier la signalisation cellulaire et d'induire une auto-réactivité anormale (**Sinha et al., 2020b**). Bien que des incertitudes persistent quant aux mécanismes moléculaires précis, l'ensemble de ces résultats souligne le rôle central de SIRP γ dans l'auto-immunité, ouvrant la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblées pour le LED et d'autres pathologies similaires (**Sharp et al., 2021b**).

1.1.9. Potentiel thérapeutique

Plusieurs stratégies émergentes cherchent à exploiter SIRP γ comme levier thérapeutique, notamment via son rôle dans l'activation lymphocytaire et son interaction avec CD47 (**Choi et al., 2021**). Bien que l'axe CD47-SIRP γ ait montré un fort potentiel en immunothérapie, son efficacité demeure limitée dans certains cancers, notamment les tumeurs solides non hématopoïétiques, et son utilisation peut induire des effets indésirables tels que l'anémie (**Zhu et al., 2023**). Dans ce contexte, SIRP γ pourrait représenter une alternative prometteuse pour contourner ces limitations, en contribuant à renforcer l'immunité antitumorale sans provoquer les effets secondaires associés aux thérapies actuelle (**Luo et al., 2024**).

1.1.9.1 Cible thérapeutique par un nanocage antagoniste Ferritine-SIRP γ

Des travaux récents ont exploré l'utilisation thérapeutique de variants de SIRP γ dans le cadre de l'immunothérapie anticancéreuse (**Visser et al., 2023a**; **C. Xu et al., 2022b**). Des nanocages de ferritine humaine (HF n) fonctionnalisées avec des variants de SIRP γ (FS γ V) ont été conçues pour bloquer l'interaction CD47-SIRP α (**Choi et al., 2021b**). Ce blocage neutralise le signal "Don't eat me" exprimé par les cellules tumorales (**Khalaji et al., 2023**), permettant ainsi la restauration de l'activité phagocytaire des macrophages et des cellules dendritiques. Cette phagocytose induit une activation secondaire des lymphocytes T CD8 $^+$ via la présentation croisée d'antigènes tumoraux (**Deng et al., 2023**).

Afin de renforcer cette réponse immunitaire, un agoniste du récepteur TLR9 (CpG) a été associé à cette stratégie. Ce dernier stimule les cellules myéloïdes vers un profil pro-inflammatoire, favorisant la sécrétion de cytokines et l'activation des lymphocytes T cytotoxiques (Choi et al., 2021b; Nierkens et al., 2009). Cette combinaison synergiques démontre une efficacité antitumorale notable, y compris dans des modèles précliniques résistants aux anticorps anti-CD47 conventionnels (Liu et al., 2023; Yang et al., 2023). Bien que ces approches utilisent des formes modifiées de SIRP γ , elles illustrent l'intérêt d'explorer les impacts structurels et fonctionnels des mutations naturelles de SIRP γ dans un contexte thérapeutique (figure 1.8).

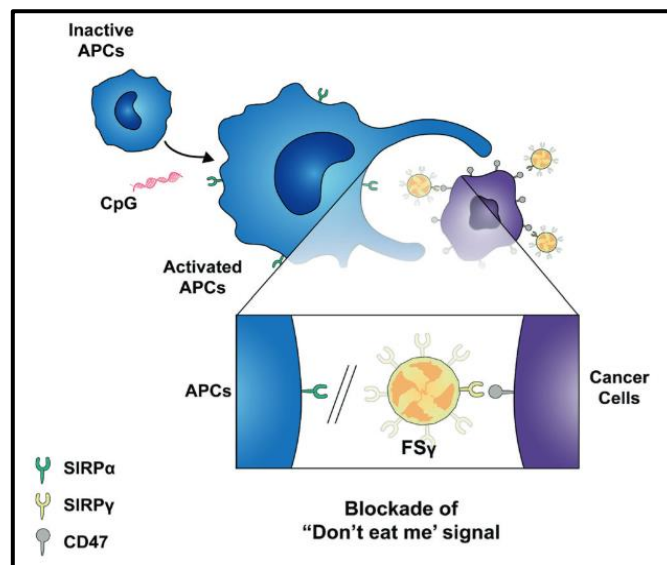


Figure 1.8. Les FS γ V et le CpG potentialisent l'immunité antitumorale via une phagocytose efficace des cellules cancéreuses par les cellules présentatrices d'antigènes (APCs) (Choi et al., 2021)

1.2. Polymorphisme nucléotidique simple

1.2.1. Généralités

Les polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs) représentent la forme la plus fréquente de variation génétique au sein de la population humaine (Abdelazim et al., 2025a). Ils résultent de la substitution d'une seule base nucléotidique dans la séquence d'ADN et contribuent à la diversité phénotypique, à la susceptibilité aux maladies, ainsi qu'à la variabilité des réponses aux traitements (M. Xu et al., 2022). Localisés aussi bien dans les régions codantes (exons) que non codantes (introns, régions régulatrices), les SNPs peuvent altérer la structure d'une protéine ou moduler l'expression génique (Cui et al., 2017). Leur identification constitue aujourd'hui un enjeu majeur en médecine personnalisée, notamment grâce à des approches bio-informatiques capables de distinguer les variants fonctionnels impliqués dans diverses pathologies de ceux considérés comme neutres sur le plan génétique (Ali et al., 2024; Majeed et al., 2025).

1.2.2. Classification des SNPs

Les SNPs sont classés selon leur localisation génomique en variants codants, non codants et intergéniques. Les SNPs codants peuvent influencer directement la séquence ou la stabilité des protéines (synonymes, faux-sens, non-sens), tandis que les SNPs non codants ou intergéniques modulent l'expression génique via l'épissage, la traduction ou la régulation transcriptionnelle (Al-Shuhaib, 2024; Farajzadeh-Dehkordi et al., 2024).

1.2.2.1. Les SNPs dans les régions codantes

1.2.2.1.1. SNPs synonymes

Ces variations n'altèrent pas la séquence en acides aminés en raison de la redondance du code génétique. Un codon peut être remplacé par un autre codon codant pour le même acide aminé (Kimchi-Sarfaty et al., 2007). Toutefois, plusieurs travaux ont mis en évidence que ces polymorphismes peuvent modifier la structure secondaire de l'ARN messager, peuvent influencer son épissage ou encore altérer sa stabilité et son efficacité de traduction (Sauna and Kimchi-Sarfaty, 2011).

1.2.2.1.2. SNPs non synonymes

- **Les variants faux-sens** entraînent la substitution d'un acide aminé par un autre dans la séquence protéique. Leur impact varie selon la nature de l'acide aminé substitué et sa localisation dans la protéine. Certains variants n'ont aucun effet notable sur la structure ou la fonction de la protéine (mutations neutres), d'autres altèrent modérément sa fonction, tandis que certains peuvent gravement perturber sa structure ou son activité enzymatique, contribuant ainsi au développement de maladies génétiques (Thusberg et al., 2011).
- **Les variations non-sens**, à l'origine d'un codon stop prématuré, interrompant la traduction du polypeptide et générant souvent une protéine incomplète et non fonctionnelle.

1.2.2.2. Les SNPs dans les régions non codantes

Les SNPs situés dans les régions non codantes n'affectent pas directement la séquence des protéines, mais peuvent perturber la régulation de l'expression génique. Ils influencent des mécanismes tels que la transcription, la stabilité de l'ARNm ou sa traduction. Ces altérations peuvent aussi être impliquées dans le développement de diverses pathologies (Giral et al., 2018; Sarkar et al., 2024).

1.2.3. Analyse *in silico* des SNP

L'analyse *in silico* des polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) est une approche bio-informatique permettant d'évaluer l'impact potentiel de ces variations génétiques sur la structure et la

fonction des protéines (Abdelazim et al., 2025a). Contrairement aux méthodes traditionnelles *in vivo* et *in vitro*, souvent longues et coûteuses, cette technique utilise des algorithmes avancés pour évaluer rapidement les effets structuraux et fonctionnels des SNPs (Dabhi and Mistry, 2014a). Elle permet notamment d'identifier les variants potentiellement pathogènes associés à des maladies (Kamal et al., 2024; Pavithran and Kumavath, 2021), en analysant systématiquement des données génomiques à grande échelle. Bien que ne remplaçant pas totalement les validations expérimentales, l'analyse *in silico* constitue une étape cruciale pour prioriser les variants à étudier, optimisant ainsi la recherche en génétique médicale et en pharmacogénomique et trouve également des applications prometteuses en immunopharmacologie, notamment dans l'identification de cibles immunitaires et la conception de thérapies personnalisées (Ali et al., 2022).

1.3. Modification post traductionnelle

1.3.1. Généralités

Les modifications post-traductionnelles (MPT) jouent un rôle clé dans la régulation de la biologie des protéines, influençant leur stabilité, leur activité enzymatique et leur pathogénicité (Abdelazim et al., 2025a). Plus de 200 types de MPT ont été identifiés, incluant la phosphorylation, la méthylation, la carbonylation et l'ubiquitination (Audagnotto and Dal Peraro, 2017; Zeyu Wang et al., 2025).

Pour prédire les sites de MPT, plusieurs outils bio-informatiques ont été utilisés, permettant d'interpréter les effets biologiques de ces modifications (Pavithran and Kumavath, 2021). Ces prédictions sont essentielles pour comprendre l'impact des MPTs sur les fonctions protéiques et leurs implications dans les maladies (Esmaili et al., 2023).

1.3.2. Phosphorylation

La phosphorylation, l'une des modifications post-traductionnelles les plus courantes et les plus étudiées (Zeyu Wang et al., 2025), joue un rôle critique chez les eucaryotes en régulant divers processus biologiques clés (X. Wang et al., 2022). Elle consiste en l'ajout d'un groupe phosphate à des résidus spécifiques, principalement la sérine, la thréonine et la tyrosine. Cette modification régule des fonctions cellulaires clés, comme la signalisation, la prolifération et la différenciation (Esmaili et al., 2023).

Cependant, des dysrégulations de la phosphorylation sont impliquées dans plusieurs maladies, notamment les cancers, le diabète, et d'autres maladies neurodégénératives (Zeyu Wang et al., 2025; Yang et al., 2021), pour mieux comprendre ces mécanismes, des outils de prédiction des sites de phosphorylation, comme NetPhos, Musite ont été développés. Ces outils combinent des informations de séquence et de structure pour améliorer la précision des prédictions, contribuant ainsi à explorer le rôle de la phosphorylation dans les pathologies (Esmaili et al., 2023).

1.3.3. Méthylation

La méthylation est un processus biochimique universel impliquant l'ajout covalent de groupes méthyle (-CH₃) à des molécules cibles, telles que les protéines, l'ADN, les lipides et les neurotransmetteurs (Menezo et al., 2020). En tant que mécanisme central de régulation moléculaire, elle module de manière réversible ou irréversible la fonction des molécules cibles, ce qui en fait un processus clé dans de nombreux aspects de la biologie cellulaire (Deng et al., 2017; Zou et al., 2021).

1.3.4. Ubiquitination

L'ubiquitination est une MPT des protéines, jouant un rôle central dans la régulation de multiples fonctions cellulaires, tels que le cycle cellulaire et la réparation de l'ADN (X. Li et al., 2024). Cette modification consiste en l'attachement covalent de la petite protéine ubiquitine à des résidus lysine spécifiques sur les protéines cibles, influençant ainsi leur stabilité, localisation ou activité (W. Li et al., 2024). Les approches de prédiction *in silico*, basées sur l'apprentissage automatique, permettent d'identifier efficacement les sites d'ubiquitination à partir de données de séquence, en complément des méthodes expérimentales plus coûteuses (Pourmirzaei et al., 2023).

1.3.5. Carbonylation

La carbonylation des protéines est une modification oxydative majeure, largement utilisée comme marqueur des dommages cellulaires (Wehr and Levine, 2013). Elle consiste à introduire du monoxyde de carbone (CO) dans des molécules organiques, soit par insertion dans une liaison covalente (C-X), soit par addition à des alcènes/alcynes (Gautam and Bhanage, 2017). Ce processus résulte de l'attaque par des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou des produits de peroxydation lipidique formant des groupes carbonyles sur des acides aminés tels que la lysine, l'arginine et la proline. Ces modifications, souvent irréversibles, sont impliquées dans le vieillissement et des maladies neurodégénératives, soulignant son importance comme cible thérapeutique potentielle (Ouznadji and Desmons, 2020).

Les méthodes traditionnelles de détection (spectrophotométrie, techniques immunochimiques après dérivatisation par la DNPH) ont été progressivement optimisées par des approches plus sensibles. Par ailleurs, l'intégration d'outils bioinformatiques permet aujourd'hui d'envisager la prédiction *in silico* des sites de carbonylation, constituant ainsi un complément prometteur aux approches expérimentales classiques (Wehr and Levine, 2013).

1.3.6. Nitration de la tyrosine

La nitration de la tyrosine résulte de l'ajout d'un groupe nitro sur le noyau aromatique du résidu, souvent sous l'action du peroxydite formé en conditions de stress oxydatif (Kang et al., 2025). Cette

Chapitre I : revue de la littérature

modification conduit à la formation de 3-nitrotyrosine (**Franco and Estévez, 2014**), altérant potentiellement la fonction des protéines. Elle est particulièrement associée aux états inflammatoires et aux maladies neurodégénératives, où elle contribue à la dysrégulation cellulaire (**Radi, 2013**).

1.3.7. S-nitrosylation

La S-nitrosylation est l'ajout covalent d'un groupe nitrosyle (NO) à un atome de soufre d'un résidu thiol de cystéine (**Wang et al., 2024**). Ce processus redox est médié par le monoxyde d'azote (NO), régule l'activité et les interactions des protéines, modifiant ainsi leur fonction et leur conformation (**Gao et al., 2025**). Étant réversible, il permet une régulation fine des processus biologiques, jouant un rôle indispensable dans la réponse immunitaire, la vasodilatation et la modulation des voies de signalisation cellulaires, tant chez les plantes que chez les animaux (**Chakraborty et al., 2025**).

1.3.8. Effets des SNPs sur les modifications post-traductionnelles

Les polymorphismes mononucléotidiques (SNPs), en particulier les SNPs non synonymes, peuvent altérer les sites de PTMs des protéines (**Gulzar et al., 2017**), affectant ainsi leur fonction, leur stabilité et leurs interactions cellulaires (**Peng et al., 2020**).

Ces altérations sont associées à diverses pathologies, notamment les maladies neurodégénératives et les cancers (**Martin et al., 2018**). Des outils bio-informatiques tels que GPS-MSP, PRmePred, MusiteDeep ont été développés pour prédire l'impact des SNPs sur les PTMs, facilitant ainsi l'identification de mutations potentiellement pathogènes (**Peng et al., 2020; Yang et al., 2019**). Certaines variations nucléotidiques peuvent altérer des sites de modifications post-traductionnelles, affectant ainsi la maturation ou la dégradation des protéines. Cela souligne l'importance d'intégrer l'analyse des SNPs impactant les PTMs dans l'étude des mécanismes moléculaires des maladies humaines (**Gulzar et al., 2017; Martin et al., 2018**).

Problématique

Comment les variations génétiques identifiées dans la protéine SIRP γ influencent-elles sa structure tridimensionnelle, ses modifications post-traductionnelles et ses interactions avec d'autres protéines impliquées dans des pathologies immunitaires complexes ? En 2023, sous la direction de Mme Hadjidj Zeyneb, Salmi Karima a mené une étude préliminaire utilisant des outils *in silico* pour identifier des SNP potentiellement délétères dans SIRP γ . Cette étude a mis en évidence trois SNP fonctionnellement significatifs : rs1383846293 (P175L), rs2091802407 (W182S) et rs980811811 (W182C). Dans le cadre de notre propre analyse, nous avons élargi cette étude en intégrant un quatrième variant, rs6043409 (V263A), décrit dans la littérature pour son implication possible dans certaines maladies auto-immunes. Ces altérations pourraient compromettre l'intégrité structurale de la protéine ainsi que ses propriétés fonctionnelles, perturbant ainsi ses interactions et son rôle dans les réponses immunitaires. Notre travail poursuit l'exploration de leurs conséquences en recourant à des approches *in silico* pour prédire les modifications post-traductionnelles et modéliser la conformation des formes mutées.

Objectif

Ce mémoire vise à identifier et caractériser, par une analyse *in silico*, les polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) à conséquences fonctionnelles sur le gène *SIRPG*. L'objectif est d'explorer l'impact de ces variants génétiques sur l'expression, la structure tridimensionnelle, les modifications post-traductionnelles et la fonction de SIRP γ , ainsi que leur implication dans des pathologies immunitaires complexes, notamment les maladies auto-immunes et le cancer.

But

Le but de cette étude d'identifier les SNPs de la protéine SIRP γ susceptibles d'altérer sa structure et/ou sa fonction, et pouvant ainsi contribuer au développement de divers pathologies. Cette identification pourrait ouvrir de nouvelles pistes pour le diagnostic, la prévention et le traitement, en ciblant spécifiquement les mécanismes moléculaires impliquant SIRP γ .

Chapitre II :

Matériels et Méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

2.1. Plan d'étude

Les travaux réalisés s'inscrivent dans la continuité des recherches menées par **Salmi Karima** en 2024 sous la direction du **Dr. Hadjidj Zeyneb**, portant sur l'analyse *in silico* des SNPs ayant des conséquences structurelles et/ou fonctionnelles sur la protéine SIRP γ . Ces recherches ont permis d'identifier les mutations rs1383846293 (P175L), rs2091802407 (W182S) et rs980811811 (W182C), nous avons choisi d'étendre l'analyse en y intégrant une quatrième variation, rs6043409 (V263A). Ce dernier SNP, rapporté dans la littérature, est suspecté de jouer un rôle dans certaines maladies auto-immunes telles que le diabète de type 1 et la sclérose en plaques.

Notre étude s'articule autour de deux axes complémentaires :

Le premier consiste à prédire l'apparition ou la disparition de modifications post-traductionnelles (PTMs) induites par ces mutations, à l'aide d'outils bio-informatiques spécialisés tels que GPS 6.0 et NetPhos. Le second axe porte sur la modélisation tridimensionnelle des variants protéiques, réalisée à l'aide de Swiss-Model et Phyre2, dans le but de détecter d'éventuelles altérations structurales. Une fois ces structures 3D obtenues en format pdb, leurs qualités ont été évaluées à l'aide des serveurs ERRAT et PROCHECK, afin de vérifier leurs validités et leurs fiabilités respectives, les modèles tridimensionnels ont ensuite été comparés et superposés à l'aide de TM-align, puis visualisés et analysés à l'aide du logiciel Chimera, permettant une appréciation fine des différentes déviations structurales induites par les mutations étudiées. Ces travaux sont menés au sein du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie, dirigé par le **Professeur ARIBI Mourad**.

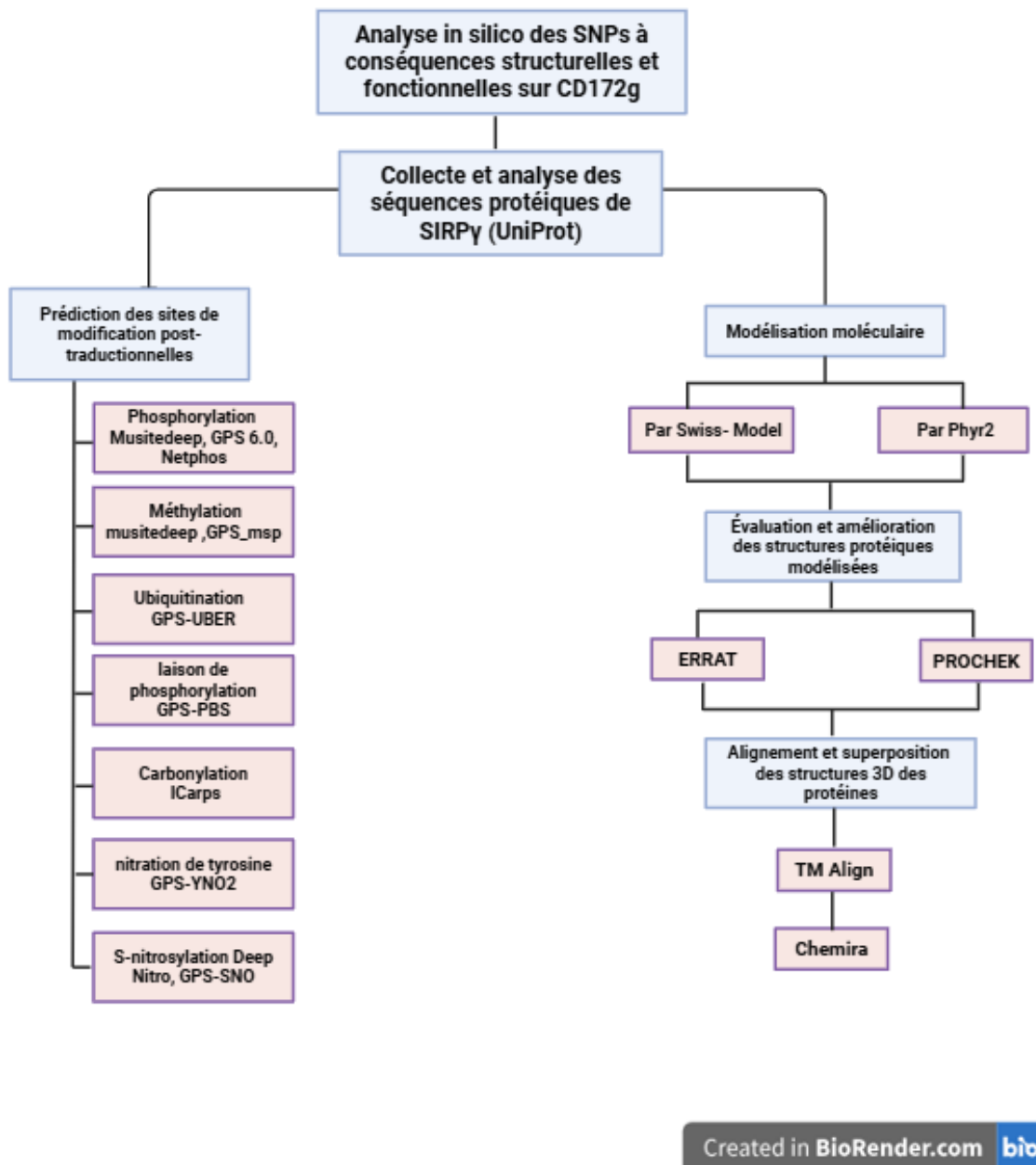


Figure 2.1. study design

2.2. Collecte de données et sélection de séquences de protéines

Afin d'analyser les conséquences fonctionnelles des variants non synonymes identifiés au sein du gène *SIRPG*, nous avons dans un premier temps récupéré la séquence primaire de la protéine correspondante au format FASTA depuis la base de données UniProt (<https://www.uniprot.org>), sous le numéro d'accèsion **Q9P1W8**.

Cette séquence de référence a ensuite été modifiée *in silico* pour intégrer les substitutions d'acides aminés spécifiques aux variants étudiés. Pour chaque mutation, l'acide aminé natif a été remplacé par son équivalent muté à la position correspondante, générant ainsi des séquences mutées destinées à l'analyse structurale et fonctionnelle comparée.

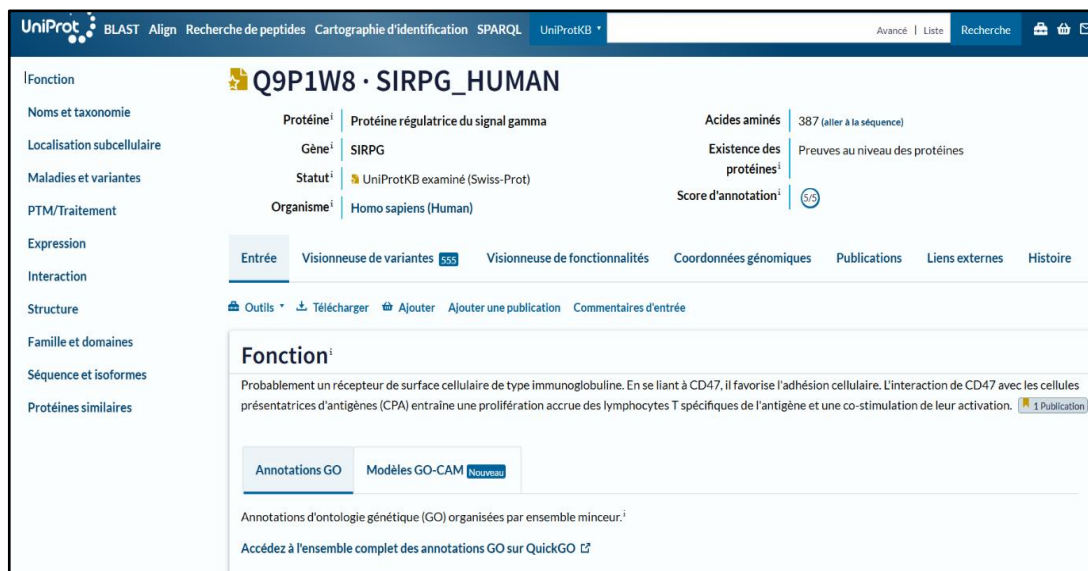


Figure 2.2. Recherche des séquences sur la base de données UniProt

2.3. Prédiction des modifications post traductionnelles

Pour étudier les effets fonctionnels des mutations de SIRP γ , plusieurs outils bio-informatiques ont été utilisés afin de prédire les modifications post-traductionnelles (PTMs) potentielles. Ces logiciels, fondés sur des algorithmes d'apprentissage automatique ou des bases de données expérimentales, permettent d'identifier des sites de phosphorylation, méthylation, ubiquitination, nitration, S-nitrosylation, carbonylation, ainsi que les domaines de liaison aux phosphoprotéines. Chaque type de modification a été exploré à l'aide d'outils spécialisés, tels que GPS, NetPhos, MusiteDeep, ou encore iCarPS et DeepNitro. L'objectif était d'évaluer comment les mutations non synonymes pourraient altérer la régulation ou la fonction de SIRP γ via ces modifications.

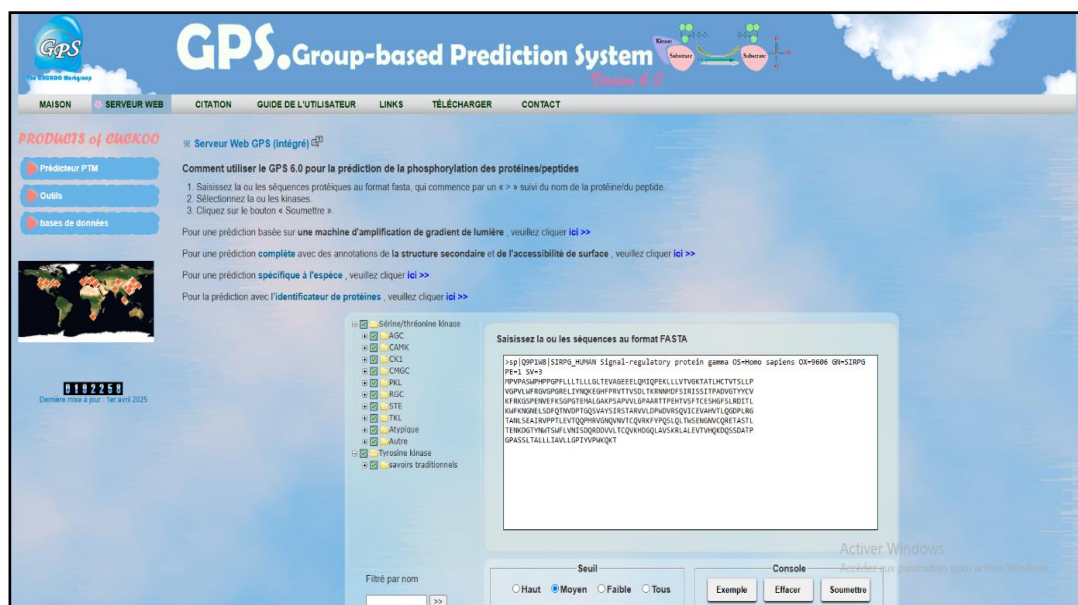
2.3.1. Prédictions des sites de phosphorylation

GPS 6.0

GPS 6.0 ou Group-based Prediction System, est un outil dédié à la prédiction des modifications post-traductionnelles (PTM) des protéines, en se concentrant particulièrement sur les sites de phosphorylation des résidus de sérine (S), thréonine (T) et tyrosine (Y) . Il repose sur des algorithmes d'apprentissage automatique et des réseaux neuronaux pour identifier les sites de phosphorylation potentiels au sein des protéines. L'outil prend en compte plusieurs paramètres, notamment la séquence en acides aminés, la structure tridimensionnelle et les propriétés physico-chimiques locales autour du site ciblé (C. Wang et al., 2020).

Il permet également à l'utilisateur de sélectionner les kinases spécifiques impliquées dans la phosphorylation et de personnaliser les paramètres de prédiction, notamment le seuil de score (cutoff) servant à distinguer les vrais sites de phosphorylation des faux positifs. Les séquences doivent être soumises au format FASTA, et les résultats sont affichés sous forme d'une liste de sites prédits accompagnés de leurs scores de confiance (M. Chen et al., 2023). Dans notre étude, nous avons utilisé le seuil de prédiction "medium", afin d'optimiser l'équilibre entre sensibilité et spécificité des résultats.

Site web: <https://gps.biocuckoo.cn/>



The screenshot displays the GPS 6.0 web interface. At the top, the logo 'GPS Group-based Prediction System' is visible, along with navigation links: MAISON, SERVEUR WEB, CITATION, GUIDE DE L'UTILISATEUR, LINKS, TÉLÉCHARGER, and CONTACT. Below the navigation bar, there are several sections:

- PRODUCTS of CUCKOO**: A list of tools including 'Prédicteur PTM', 'Outils', and 'bases de données'.
- Comment utiliser le GPS 6.0 pour la prédiction de la phosphorylation des protéines/peptides**: A numbered list of instructions: 1. Saisissez la ou les séquences protéiques au format fasta, qui commence par un '>' suivi du nom de la protéine/du peptide. 2. Sélectionnez la ou les kinases. 3. Cliquez sur le bouton « Soumettre ».
- Instructions for specific predictions**: Links for predictions based on a light gradient amplification machine, complete predictions with secondary structure and surface accessibility, species-specific predictions, and predictions using protein identifiers.
- Kinase Selection**: A list of kinases with checkboxes, including 'Sérine/thréonine kinase', 'AGC', 'CAMK', 'CKI', 'CKGC', 'PKL', 'RGC', 'STE', 'TKL', 'Atypique', 'Autre', 'Tyrosine kinase', and 'autres traditionnels'.
- FASTA Input**: A text area containing a sample protein sequence:

```
>sp|Q9PLU8|SIRP6_HUMAN|Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SIRP6 PE=4 SV=3
MPVPSAMHPDPGFLLLTLLGLTEVAGEEELQIQDFEKLIVTVKATLHCTVSLLP
VQVPLAFRAGVQRELLYVQKEGHPFVITVSDLTANNWDFSIISSTFPADVETYYCV
HFNQSDPFWIEFISQPTALGAPVAPVSGPABTFFHVFVTECPHGLRDEL
HAFKQRELSDFQVWDFIQGVAVSIRARVLDPAQVRSQVIEVAPATLQDPLRG
TALSSAQRPFLENTGPHRQVQVITLQKAVFPEGLQLTCDGMAQCQETLSTL
TENKQITWTSISFLVNSQVQDQVLTQVHQDQLAPRDELVTVNQDQSDATP
GPASLTALLLIVLQPTVYPAQKQT
```
- Seuil (Threshold)**: Radio buttons for 'Haut', 'Moyan', 'Faible', and 'Tous'. 'Moyan' is selected.
- Console**: Buttons for 'Exemple', 'Effacer', and 'Soumettre'.

Figure 2.3. Prédictions des sites de phosphorylation par GPS 6.0

MusiteDeep

MusiteDeep est un serveur web dédié à la prédiction des sites de PTM des protéines (**Laskar et al., 2023**), tels que la phosphorylation, la méthylation et l'ubiquitination. Il repose sur des réseaux de neurones profonds entraînés à partir de grandes bases de données de séquences annotées, permettant de prédire les sites de PTM directement à partir de la séquence d'acides aminés avec une précision élevée (**Wang et al., 2017**). Les résultats sont affichés au niveau des résidus spécifiques, avec intégration d'annotations connues et, lorsque disponibles, de structures tridimensionnelles.

De plus, MusiteDeep propose une base de données locale d'annotations PTM issues d'UniProt/Swiss-Prot, ainsi que des API (Interface de Programmation d'Application) pour une utilisation locale, en faisant un outil multifonctionnel et évolutif. Ces fonctionnalités en font une référence pour l'étude des PTM et leur rôle dans les fonctions physiologiques et pathologiques (**D. Wang et al., 2020**).

Dans notre étude, un seuil de score compris entre 0,4 et 0,5 a été appliqué afin de distinguer les sites de phosphorylation potentiels des faux positifs.

Site web: <https://www.musite.net/>

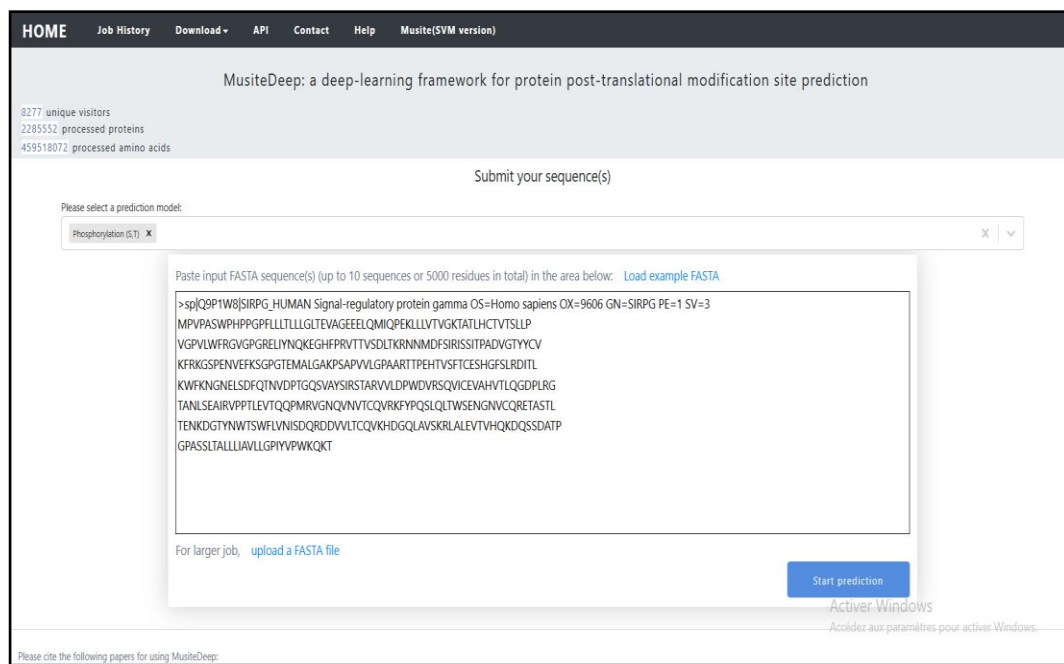


Figure 2.4. Prédiction des sites de phosphorylation par MusiteDeep

NETPHOS

NETPHOS est un outil bio-informatique avancé basé sur des réseaux neuronaux artificiels (ANN), conçu pour prédire les sites potentiels de phosphorylation sur les résidus de sérine, thréonine et tyrosine dans les séquences protéiques (**Blom et al., 1999**). La version 3.1 de NetPhos permet de prédire les sites de phosphorylation pour 17 kinases différentes, offrant une analyse à la fois générale et spécifique aux kinases (**Li et al., 2018**). Cet outil génère une liste de sites prédits avec des scores de confiance, facilitant l'identification des MPT qui régulent la stabilité, l'activité enzymatique et la pathogénicité des protéines (**Abdelazim et al., 2025b**). NetPhos 3.1 a été utilisé dans diverses études *in silico* pour identifier des sites consensus de phosphorylation, contribuant à une meilleure compréhension des mécanismes de signalisation cellulaire et des implications pathologiques des MPTs (**Naureen et al., 2023; Ruel and Hammond, 2025**). En combinant précision et efficacité, NetPhos reste un outil essentiel pour les chercheurs étudiant les MPTs et leurs impacts biologiques (**Biswas et al., 2010**).

Site web: <https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1>



Figure 2.5. Prédictions des sites de phosphorylation par NetPhos 3.1

2.3.2. Prédictions des sites de méthylation

GPS-MSP

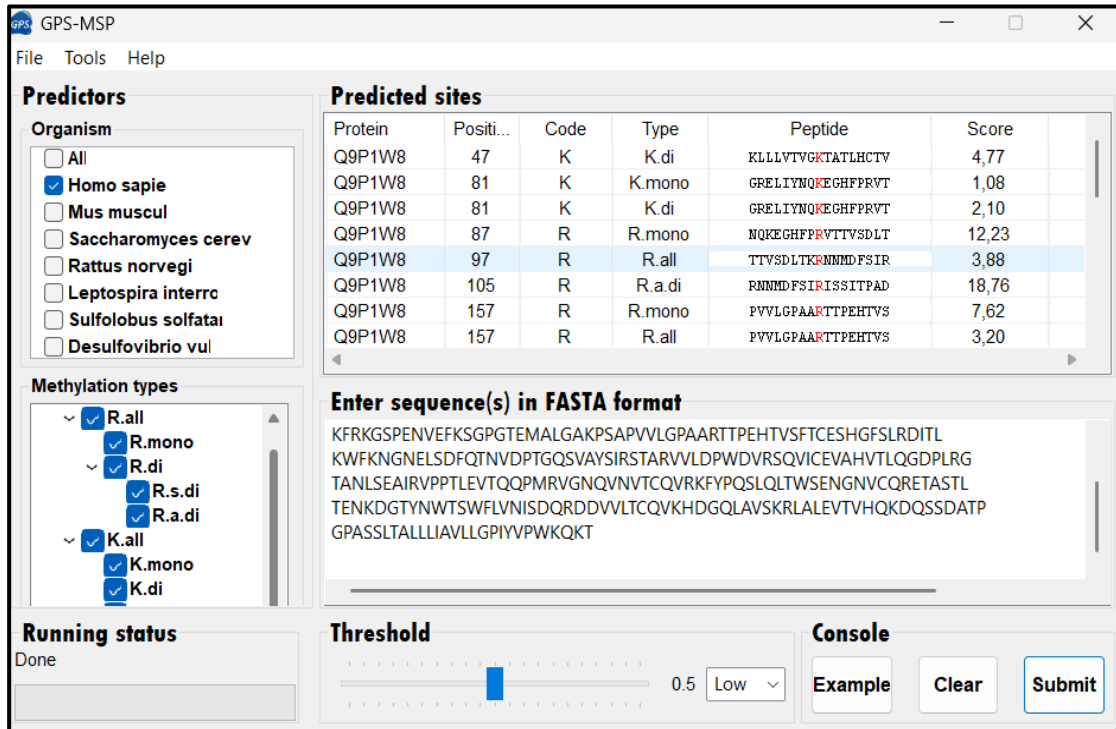
GPS-MSP est un outil bio-informatique puissant dédié à la prédiction des sites de méthylation des protéines, une modification post-traductionnelle cruciale dans la régulation cellulaire et les maladies. Il combine des algorithmes avancés avec des données expérimentales issues de la spectrométrie de masse, ce qui permet d'améliorer à la fois la précision et la reproductibilité dans l'identification des peptides modifiés (**Hossain et al., 2020**).

Chapitre II : Matériels et méthodes

Il utilise également une approche basée sur le groupe, en s'appuyant sur des motifs de séquences conservées observés dans des groupes de protéines similaires, afin d'augmenter la fiabilité des prédictions des sites de méthylation.

Accessible en ligne, GPS-MSP constitue une solution robuste pour les études protéomiques à grande échelle, offrant une cartographie fine et précise des modifications protéiques (Uddin et al., 2024).

Site web : <http://msp.biocuckoo.org/online.php>



The screenshot displays the GPS-MSP web interface. On the left, the 'Predictors' section includes 'Organism' (with 'Homo sapie' selected) and 'Methylation types' (with 'R.all', 'R.mono', 'R.di', 'R.s.di', 'R.a.di', 'K.all', 'K.mono', and 'K.di' selected). The 'Running status' shows 'Done'. The main area features a 'Predicted sites' table and a 'Console' with 'Example', 'Clear', and 'Submit' buttons. The table lists predicted sites for protein Q9P1W8, with the following data:

Protein	Positi...	Code	Type	Peptide	Score
Q9P1W8	47	K	K.di	KLLLVTVGKTATLHCTV	4,77
Q9P1W8	81	K	K.mono	GRELIYNQKEGHFPRVT	1,08
Q9P1W8	81	K	K.di	GRELIYNQKEGHFPRVT	2,10
Q9P1W8	87	R	R.mono	NQKEGHFPRVTTVSDLT	12,23
Q9P1W8	97	R	R.all	TTVSDLTKRNMDFSIK	3,88
Q9P1W8	105	R	R.a.di	RNMDFSIKISSITPAD	18,76
Q9P1W8	157	R	R.mono	PVVLGPAARTTPEHTVS	7,62
Q9P1W8	157	R	R.all	PVVLGPAARTTPEHTVS	3,20

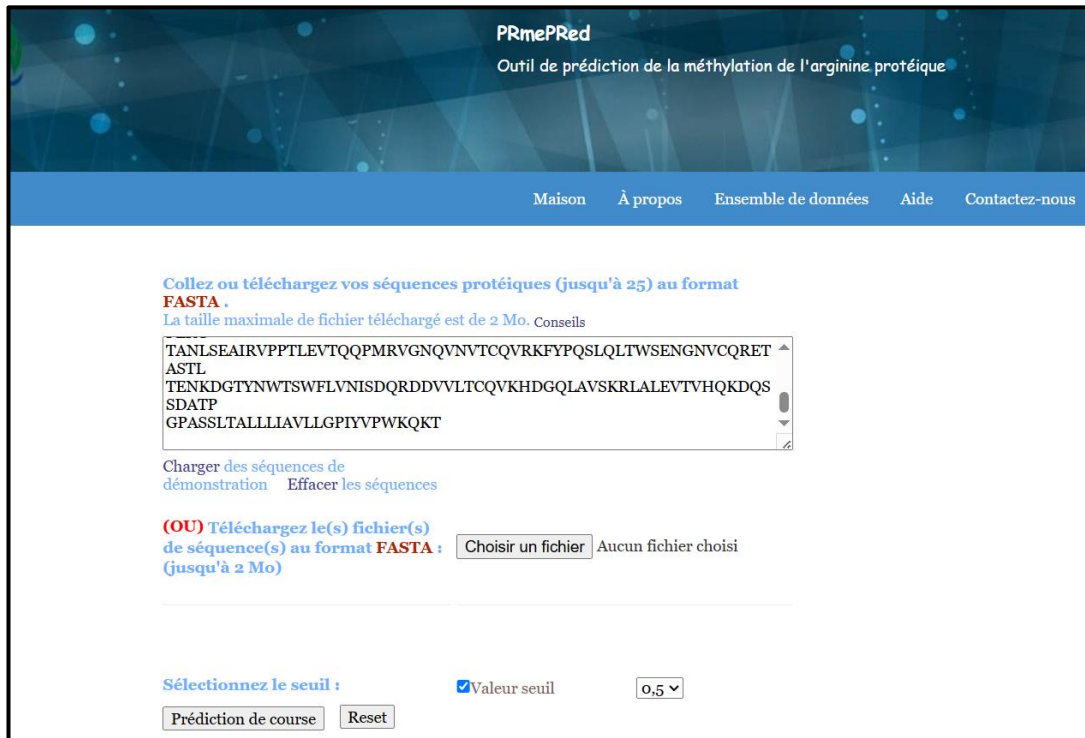
The 'Enter sequence(s) in FASTA format' section contains the following sequence:

```
KFRKGSPEVFEKSGPGTEMLGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSLRDITL
KWFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVVDLPWDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRG
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPSLQLTWSENGNVCQRETASTL
TENKDGTYNWTSWFLVNISDQRDDVLTQCQKHDGQLAVSKRLALEVTVHQKQSSDATP
GPASSLTALLIIVLLGPIVVPWKQKT
```

Figure 2.6. Prédiction des sites de méthylation par GPS-MSP

PRmePRed

PRmePRed est un outil en ligne gratuit qui prédit les sites de méthylation des arginines dans les protéines (P et al., 2017). Utilisant des algorithmes d'apprentissage automatique, il analyse la séquence et la structure des protéines pour identifier ces modifications avec précision (Mendoza et al., 2023). Simple et efficace, il aide les chercheurs à étudier les protéomes sans recourir à des méthodes expérimentales complexes (Mendoza et al., 2023; P et al., 2017).



The screenshot shows the PRmePRed web interface. At the top, the title is "PRmePRed" with the subtitle "Outil de prédiction de la méthylation de l'arginine protéique". A navigation bar contains links for "Maison", "À propos", "Ensemble de données", "Aide", and "Contactez-nous". The main content area has a heading "Collez ou téléchargez vos séquences protéiques (jusqu'à 25) au format FASTA". Below this, it states "La taille maximale de fichier téléchargé est de 2 Mo. Conseils". A text input field contains the following protein sequences: TANLSEAIRVPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPSLQLTWSENGNVCQRET, ASTL, TENKDGTYNWTSWFLVNISDQRDDVVLTCQVKHDGQLAVSKRLALEVTVHQDKQS, SDATP, and GPASSLTALLLIAVLLGPIYVPWKQKT. Below the input field are links for "Charger des séquences de démonstration" and "Effacer les séquences". There is a section for uploading files: "(OU) Téléchargez le(s) fichier(s) de séquence(s) au format FASTA : Choisir un fichier" with a button "Choisir un fichier" and the text "Aucun fichier choisi". At the bottom, there is a "Sélectionnez le seuil :" section with a checked checkbox "Valeur seuil" and a dropdown menu set to "0,5". There are also buttons for "Prédiction de course" and "Reset".

Figure 2.7. Prédictions des sites de méthylation par PRmePRed

2.3.3. Prédictions des sites d'ubiquitination

GPS-Uber

GPS-Uber est un outil bio-informatique hybride basé sur l'apprentissage automatique et le deep Learning, conçu pour prédire les sites d'ubiquitination sur les lysines dans les protéines. Il combine trois algorithmes (régression logistique pénalisée, réseau de neurones profond et réseau de neurones convolutif) et dix types de caractéristiques séquentielles et structurales pour offrir une prédiction précise, à la fois générale et spécifique à certaines enzymes E3 ubiquitine ligases. GPS-Uber est accessible en ligne gratuitement pour la recherche académique (C. Wang et al., 2022).

Dans notre étude, un seuil de score de 0,5 a été utilisé afin de distinguer les sites d'ubiquitination potentiels des faux positifs.

Site web: <http://gpsuber.biocuckoo.cn/>

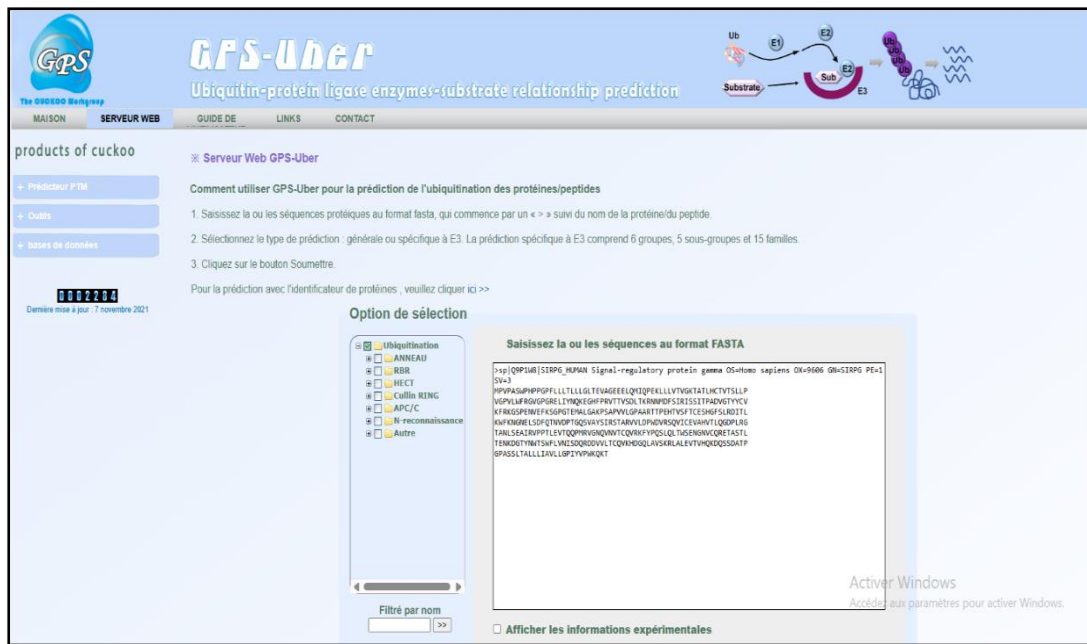


Figure 2.8. Prédictions des sites d'ubiquitination par GPS-Uber

2.3.4. Prédictions des sites de carbonylation

iCarPS

iCarPS est un outil bio-informatique en ligne destiné à la prédiction des sites de carbonylation au sein des protéines, ciblant les résidus lysine (K), proline (P), arginine (R) et thréonine (T). Il constitue une alternative rapide aux méthodes expérimentales classiques, notamment dans le contexte de l'étude du stress oxydatif lié à diverses pathologies.

L'outil repose sur un algorithme de forêt aléatoire (Random Forest), combiné à un codage de caractéristiques intégrant plusieurs propriétés physico-chimiques des acides aminés. Cette approche permet une prédiction fiable et précise des sites modifiés, avec des taux de précision supérieurs à 85 % selon les résidus ciblés (Zhang et al., 2021).

Site web : <http://lin-group.cn/server/iCarPS/webServer.html>

The screenshot shows the iCarPS web interface. At the top, there is a navigation bar with links: 'Maison', 'Serveur Web', 'Télécharger', 'Guide de l'utilisateur', 'Citation', 'À propos de nous', and 'CONTACT'. The main heading is 'iCarPS' with the 'Lindig Group' logo. A message states: 'Vous pouvez visiter le groupe Lindig pour découvrir davantage de réalisations scientifiques.' Below the navigation bar, a grey box contains the text: 'Lorsque vous saisissez ou importez des séquences de protéines au format fasta, un résultat de prédiction sera renvoyé en quelques secondes.' The main content area is titled 'Saisissez la ou les séquences au format FASTA :'. It features a text input field containing a FASTA sequence for 'Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens'. To the right of the input field, there is a section titled 'Veuillez choisir un type approprié pour la prédiction' with four radio button options: 'Sites de carbonylation : K (lysine)', 'Sites de carbonylation : P (proline)', 'Sites de carbonylation : R (arginine)', and 'Sites de carbonylation : T (thréonine)'. Below the input field, there is a section 'Ou téléchargez un fichier au format FASTA :' with a 'Choisir un fichier' button and the text 'Aucun fichier choisi'. At the bottom right, there is a 'Console' section with three buttons: 'Exemple', 'Effacer', and 'Soumettre'. The footer contains the text: 'Centre de biologie informationnelle, Université des sciences et technologies électroniques de Chine, Sichuan, Chengdu 611731, Chine.'

Figure 2.9. Prédictions des sites de carbonylation par ICarpS

2.3.5. Prédiction des sites de nitration de tyrosine

GPS-YN02

GPS-YN02 est un outil bioinformatique conçu pour prédire les sites de nitration sur les résidus de tyrosine dans les protéines. Il repose sur une approche basée à la fois sur des caractéristiques de séquences et de structures locales. Contrairement aux méthodes expérimentales souvent longues et coûteuses, cet outil permet une prédiction rapide et efficace des sites potentiels. GPS-YN02 utilise la plateforme GPS (Group-based Prediction System) (Liu et al., 2011), combinée à des techniques d'apprentissage supervisé et à des matrices de scoring spécifiques à la position (PSSM), qui permettent d'évaluer la probabilité de nitration en fonction de l'environnement local de chaque résidu de tyrosine. Il a montré de bonnes performances, avec une précision de 76,51 %.

Dans notre étude, nous avons utilisé le seuil de prédiction "medium", afin d'optimiser l'équilibre entre sensibilité et spécificité des résultats. Ce logiciel est accessible en ligne gratuitement et constitue une ressource utile pour orienter des recherches expérimentales plus ciblées (Kolbert et al., 2017).

Site web : <http://yno2.biocuckoo.org/>

Outil téléchargeable: <https://gps-yno2.software.informer.com/>

Position	Peptide	Score	Cutoff	Cluster
78	GPGRELIY N QKEGHF	0,816	0	Cluster D
117	TPADVGT Y CVKFRK	0,161	0	Cluster C
118	PADVGT Y CVKFRKG	0,379	0	Cluster E
205	PTGQSV A YSIRSTAR	1,085	0	Cluster D
277	TCQVR K FYPQSLQLT	0,193	0	Cluster A
308	TENKDG T YNWTSWFL	0,336	0	Cluster A
380	AVLLG P IYVPWKQKT	1,623	0	Cluster B

Enter sequence(s) in FASTA format

```
SV=3>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SIRPG PE=1 SV=3
MPVPASWPHPPGPFLLLTLGLTEVAGEEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP
VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYYCV
KFRKGSFENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSPRDITL
KWFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVLDPWDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRG
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPQSLQLTWSGENVVCQRETASTL
TENKDGTYNWTWFLVNIQDQDDWLTQVVKHGDQLAVSKRLALEVTVHQKQDQSSDATP
GPASSLTALLLIIVLLGPIYVPWKQKT
```

Threshold: High Medium Low All

Console:

Figure 2.10. Prédiction des sites de nitration de tyrosine par GPS-YNO2

DeepNitro

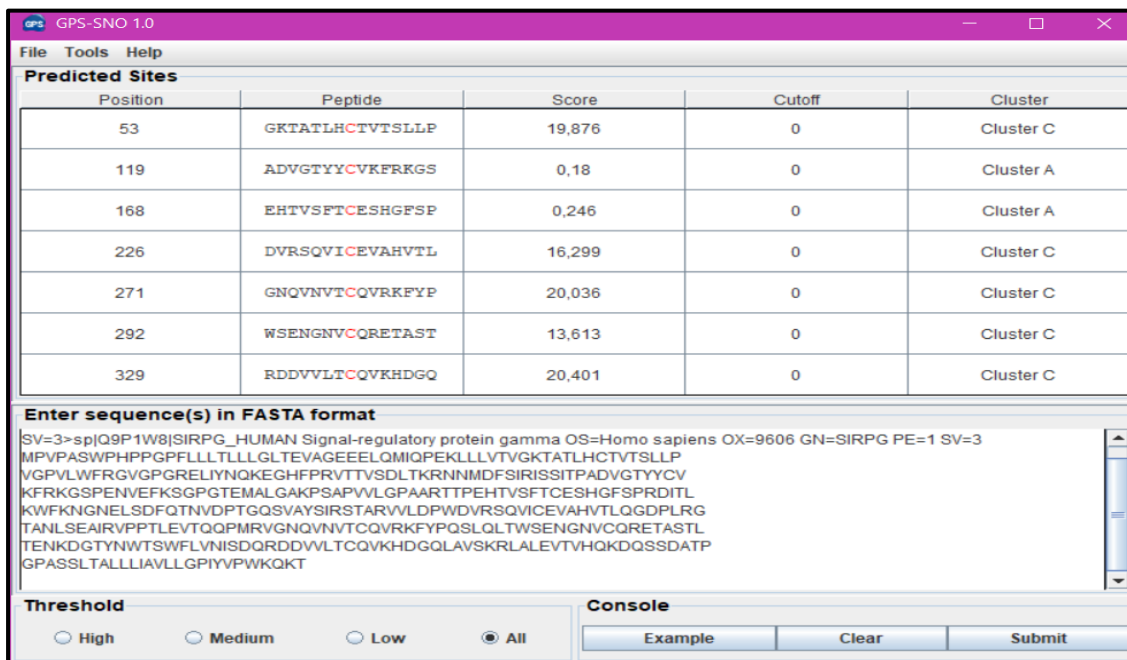
DeepNitro identifie les résidus tyrosine susceptibles de subir une nitration (ajout d'un groupement -NO₂), grâce à des algorithmes d'intelligence artificielle qui analysent les séquences protéiques (Kolbert and Lindermayr, 2021; Xie et al., 2018). Cependant, la fiabilité des prédictions reste tributaire de la structure 3D des protéines et du contexte redox, nécessitant une confirmation expérimentale (Kolbert and Lindermayr, 2021). Cet outil s'avère particulièrement pertinent pour explorer le rôle de la nitration des tyrosines dans des pathologies telles que le diabète ou les maladies neurodégénératives (Xie et al., 2018).

Site web : <http://deepnitro.renlab.org/>

2.3.6. Prédiction des sites de S-nitrosylation

GPS-SNO

Le programme GPS-SNO est un outil bio-informatique développé pour prédire les sites de S-nitrosylation (SNO) dans les protéines. Il utilise un algorithme basé sur la matrice de substitution d'acides aminés pour calculer les scores des séquences peptidiques nitrosylées. GPS-SNO intègre des méthodes telles que le clustering *kk*-means, la sélection de peptides (PS), l'entraînement des poids (WT) et la mutation de matrice (MaM) pour améliorer ses performances. Avec une précision de 75,80 % et une spécificité de 80,14 %, cet outil a démontré sa capacité à identifier efficacement les sites potentiels de S-nitrosylation (Zhao et al., 2021).



The screenshot shows the GPS-SNO 1.0 software interface. The main window displays a table of predicted sites with the following data:

Position	Peptide	Score	Cutoff	Cluster
53	GKTATLHCTVTSLLP	19,876	0	Cluster C
119	ADVGTYYCVKFRKGS	0,18	0	Cluster A
168	EHTVSFTCESHGFPSP	0,246	0	Cluster A
226	DVRSQVICEVAHVTL	16,299	0	Cluster C
271	GNQVNTCQVRKFYP	20,036	0	Cluster C
292	WSENGNVCQRETAST	13,613	0	Cluster C
329	RDDVVLTCQVKHDGQ	20,401	0	Cluster C

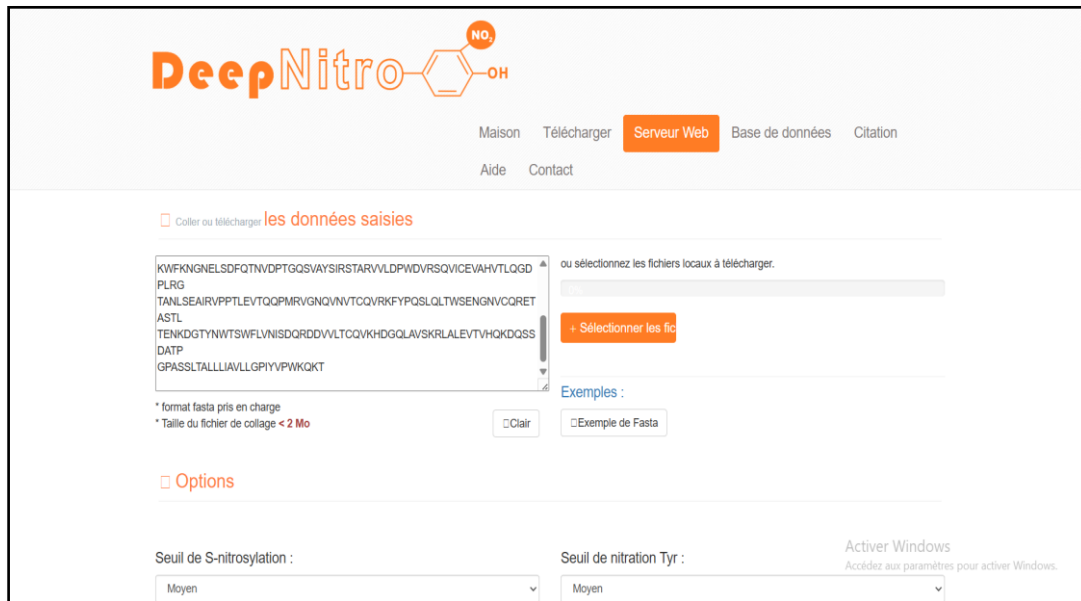
Below the table, there is a section for entering the sequence in FASTA format, showing a sample sequence for Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens. At the bottom, there are controls for the threshold (High, Medium, Low, All) and a console area with buttons for Example, Clear, and Submit.

Figure 2.11. Prédiction des sites de S-nitrosylation par GPS-SNO

DeepNitro

DeepNitro est un outil bio-informatique développé pour prédire les sites de S-nitrosylation, une modification réversible des résidus cystéine par l'oxyde nitrique (NO) (Xie et al., 2018). Il s'appuie sur un algorithme d'apprentissage profond (deep learning) pour identifier les motifs de séquences caractéristiques de cette modification (Xie et al., 2018). Cependant, comme la plupart des prédicteurs actuels, il ne tient pas compte de la structure tridimensionnelle des protéines, ce qui peut limiter la précision de ses prédictions (Kolbert and Lindermayr, 2021). Malgré cette limite, DeepNitro reste

utile pour étudier le rôle de la S-nitrosylation dans des maladies comme les troubles cardiovasculaires (Xie et al., 2018).



The screenshot shows the DeepNitro web application interface. At the top, there is a logo for DeepNitro with a chemical structure of a tyrosine residue (a benzene ring with an -OH group and an -NO group). Below the logo is a navigation menu with links: 'Maison', 'Télécharger', 'Serveur Web' (highlighted in orange), 'Base de données', 'Citation', 'Aide', and 'Contact'. The main content area is titled 'Coller ou télécharger les données saisies'. It features a text input field containing a protein sequence: 'KWFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVLDPWVRSQVICEVAHVTLQGD PLRG TANLSEAIRVPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYQSLQLTWSNGNVCOQRET ASTL TENKDGTYNWTSWFLVNSDORDDVLTCQVHKHDGQLAVSKRLALEVTYVHKQDOSS DATP GPASSLTALLLAVLLGPIYVPWKQKT'. To the right of the input field is a button labeled 'Sélectionner les fichiers' and a note: 'ou sélectionnez les fichiers locaux à télécharger.'. Below the input field are two small text boxes: '* format fasta pris en charge' and '* Taille du fichier de collage < 2 Mo'. There are also 'Clair' and 'Exemple de Fasta' buttons. Below this is an 'Options' section with two dropdown menus: 'Seuil de S-nitrosylation : Moyen' and 'Seuil de nitration Tyr : Moyen'. In the bottom right corner, there is a 'Activer Windows' notification: 'Accédez aux paramètres pour activer Windows.'

Figure 2.12. Prédiction des sites de S-nitrosylation par DeepNitro

2.4. Modélisation moléculaire

2.4.1. Modélisation moléculaire par SWISS-MODEL

Le serveur SWISS-MODEL est un outil automatisé de modélisation tridimensionnelle de structures protéiques par homologie (Schwede et al., 2003). Il repose sur le principe selon lequel deux protéines partageant une forte similarité de séquence auront des structures tridimensionnelles comparables. Le processus commence par l'identification d'un modèle (ou Template) (Waterhouse et al., 2018a), approprié dans les bases de données de structures connues, principalement la Protein Data Bank (PDB). Une fois le modèle choisi, l'alignement entre la séquence cible et la structure modèle est réalisé, puis la structure 3D est générée par transfert des coordonnées atomiques, suivi d'une étape de raffinement géométrique pour corriger les contraintes stériques ou les erreurs locales (Bienert et al., 2017).

Deux scores d'évaluation intégrés dans SWISS-MODEL permettent de juger la fiabilité des modèles générés :

Le **GMQE (Global Model Quality Estimate)**, variant entre 0 et 1, combine la similarité de séquence et la couverture du modèle. Une valeur élevée indique une meilleure fiabilité (Waterhouse et al., 2018b).

Chapitre II : Matériels et méthodes

Le **QMEAN Z-score**, quant à lui, évalue la qualité structurale absolue du modèle en le comparant à des structures expérimentales. Un score proche de 0 reflète une structure fiable, tandis qu'un écart négatif signale de possibles erreurs (**Benkert et al., 2011; Studer et al., 2020**)

SWISS-MODEL constitue ainsi un outil central en bioinformatique structurale, permettant de prédire la structure de protéines non résolues et d'analyser l'effet de mutations sur leur conformation.

Site web: <https://swissmodel.expasy.org/>

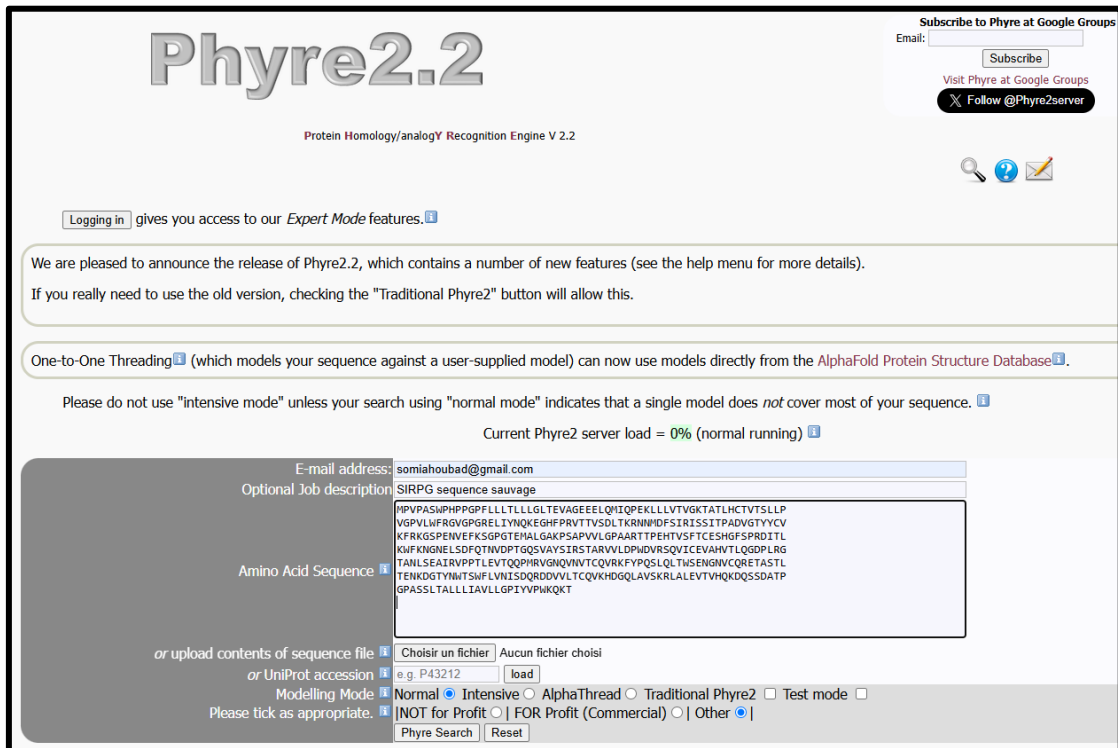


Figure 2.13. Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par SWISS-MODEL

2.4.2. Modélisation moléculaire par Phyre2

Phyre2 est un outil puissant et accessible pour prédire la structure tridimensionnelle de protéines à partir de leur séquence d'acides aminés (**Kelley et al., 2015**). Son utilisation est simple : l'utilisateur soumet une séquence protéique via l'interface web, et le serveur analyse cette séquence en la comparant à des bases de données de structures connues (comme la PDB) ainsi qu'aux prédictions d'AlphaFold (**Powell et al., 2025**). Grâce à des algorithmes de modélisation par homologie et de machine learning, Phyre2 génère un modèle 3D même pour des protéines sans homologue structural évident (**Kelley et al., 2015**). Les résultats, obtenus en quelques heures, incluent une évaluation de la qualité du modèle, des prédictions de sites fonctionnels et des analyses de mutations potentielles (**Powell et al., 2025**). Cet outil est particulièrement utile pour les chercheurs en biologie structurale, offrant une première approche fiable et intuitive sans nécessiter de compétences avancées en bioinformatique (**Kelley et al., 2015**).

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



The screenshot shows the Phyre2.2 web interface. At the top, the title "Phyre2.2" is displayed in a large, stylized font. Below it, the subtitle "Protein Homology/analogy Recognition Engine V 2.2" is visible. The page includes a "Subscribe to Phyre at Google Groups" section with an email input field and a "Subscribe" button. There are also links to "Visit Phyre at Google Groups" and "Follow @Phyre2server". A "Logging in" link is present, along with a message about the release of Phyre2.2 and a link to "Traditional Phyre2". A "One-to-One Threading" link is also visible. A server load indicator shows "Current Phyre2 server load = 0% (normal running)". The main form area contains an "E-mail address" field with "somialhoubad@gmail.com", an "Optional Job description" field with "SIRPG sequence sauvage", and an "Amino Acid Sequence" field containing a long sequence of amino acids. Below the sequence field, there are options to "upload contents of sequence file" or "or UniProt accession" with a "load" button. The "Modelling Mode" section includes radio buttons for "Normal" (selected), "Intensive", "AlphaThread", "Traditional Phyre2", and "Test mode". There are also checkboxes for "NOT for Profit", "FOR Profit (Commercial)", and "Other". At the bottom of the form, there are "Phyre Search" and "Reset" buttons.

Figure 2.14. Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par Phyre2

2.5. Évaluations de la qualité des structures des protéines modélisées

ERRAT

ERRAT est un algorithme de vérification des structures protéiques qui évalue la distribution statistique des interactions non covalentes entre les atomes afin d'identifier les erreurs de modélisation. Cet outil permet de quantifier la qualité globale d'un modèle en calculant un score exprimé en pourcentage, où une valeur élevée indique une structure plus fiable. L'utilisation d'ERRAT permet de valider efficacement les prédictions de modélisation et d'optimiser la précision des modèles protéiques, confirmant ainsi son utilité dans les études structurales en bioinformatique (Al-Khayyat and Al-Dabbagh, 2016).

Site web: <https://saves.mbi.ucla.edu/>

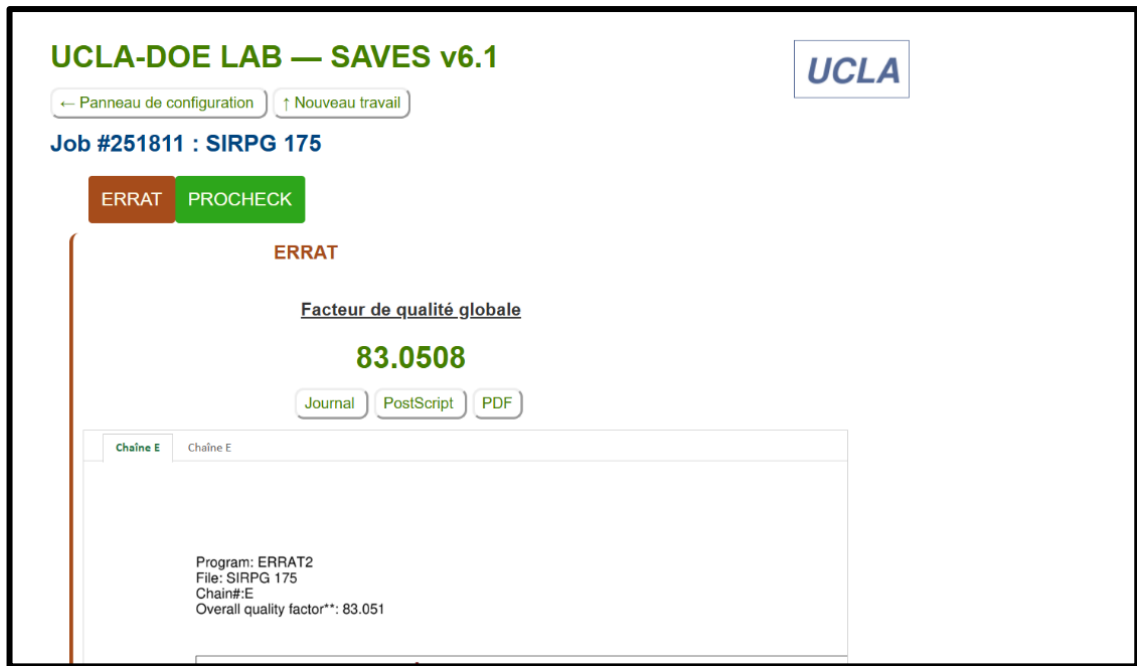


Figure 2.15. Évaluations de la qualité des structures des protéines par ERRAT

PROCHECK

PROCHECK est un outil bio-informatique développé par l'équipe de Janet Thornton, avec la contribution notable de Roman Laskowski. Il permet d'évaluer la qualité des structures protéiques expérimentales en vérifiant leur conformité aux règles stéréochimiques, notamment via l'analyse des angles de torsion et les diagrammes de Ramachandran.

Le diagramme de Ramachandran est une représentation des angles phi (ϕ) et psi (ψ) du squelette peptidique, permettant d'identifier les conformations géométriquement plausibles ou non pour chaque acide aminé.

En identifiant les anomalies géométriques, il facilite la détection d'erreurs et l'optimisation des modèles. Malgré l'apparition d'outils plus récents, PROCHECK reste une référence dans le domaine de la validation structurale (Dhillon and Thornton, 2020).

Site web: <https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/PROCHECK/>

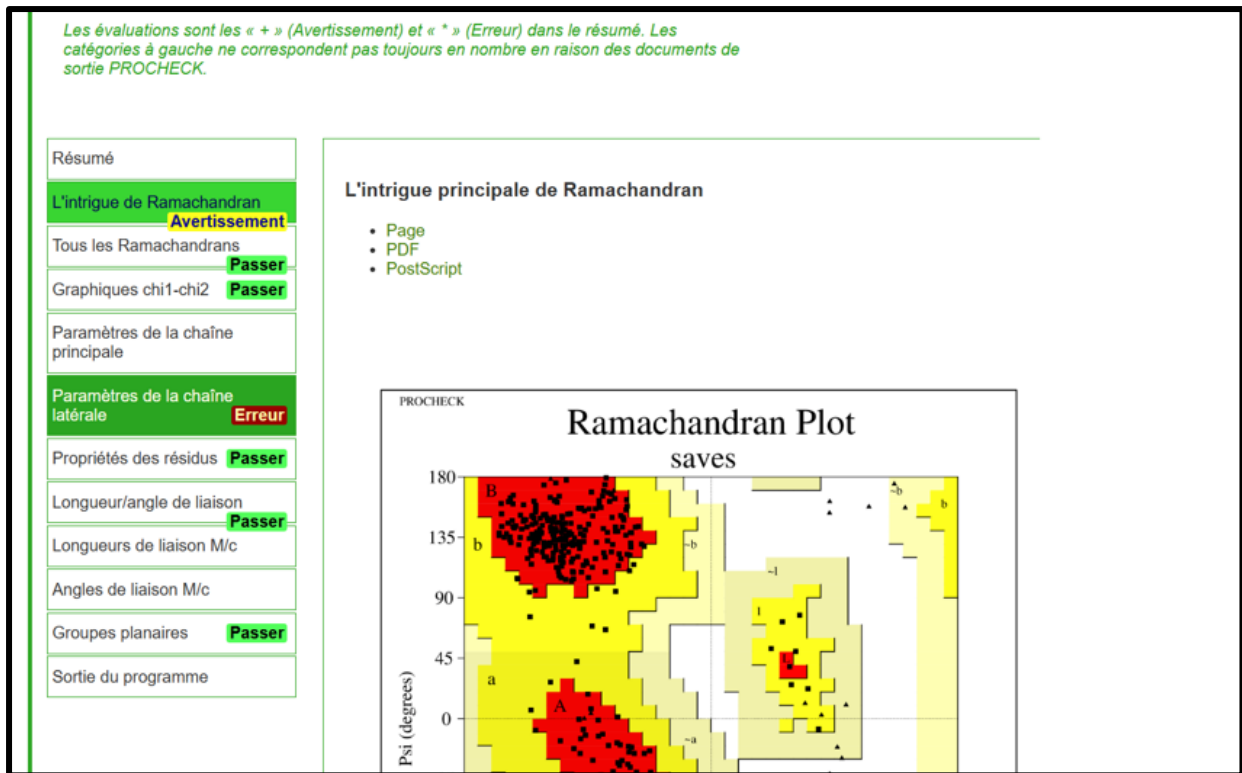


Figure 2.16. Évaluations de la qualité des structures des protéines par PROCHECK

2.6. Alignement et superposition des structures tridimensionnelles des protéines

TM-align

TM-align est un algorithme pionnier pour l'alignement structural de protéines, développé par Zhang et Skolnick en 2005. Il utilise le TM-score, une métrique robuste normalisée par la longueur de la protéine, permettant des comparaisons précises même entre protéines de tailles différentes. Contrairement au RMSD (Root Mean Square Deviation), qui calcule la moyenne quadratique des distances entre les atomes correspondants après superposition et est très sensible aux différences locales ou aux régions désordonnées, le TM-score pondère davantage les distances courtes entre résidus. Cela permet de mieux refléter la similarité topologique globale entre les structures. TM-align combine une matrice de rotation optimisée avec une programmation dynamique, offrant une rapidité supérieure (4x plus rapide que CE, 20x que DALI), tout en maintenant une haute précision (Zhang and Skolnick, 2005).

Il est largement utilisé pour l'évaluation de modèles prédits, la classification des repliements protéiques et l'identification d'homologies structurales distantes (Dong et al., 2018). Des améliorations, comme Fr-TM-align, ont ensuite été proposées pour détecter des similarités plus subtiles (Pandit and

Chapitre II : Matériels et méthodes

Skolnick, 2008). Son accessibilité et sa performance en font un outil incontournable en bio-informatique structurale.

Site web: <https://zhanggroup.org/TM-align/>

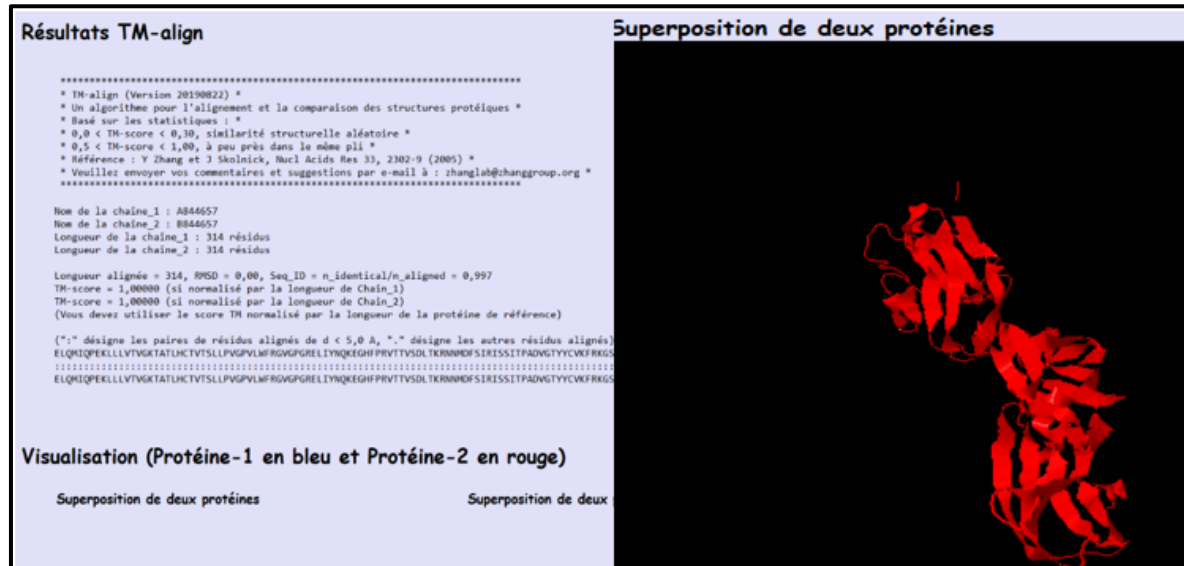


Figure 2.17. Alignement des structures des protéines par TM-align

Chimera

UCSF ChimeraX est un outil puissant pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires, largement utilisé en recherche biomoléculaire (Pettersen et al., 2021). Ce logiciel combine des capacités graphiques avancées avec une interface conviviale, permettant une exploration détaillée des protéines, de l'ADN et d'autres macromolécules. Son utilisation dans diverses études, notamment en modélisation moléculaire, met en évidence son rôle clé dans l'analyse des interactions ligand-protéine et la préparation des structures pour le docking (S. Chen et al., 2023).

Site web : <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>



Figure 2.18. Superposition de la structure 3D de SIRP γ réalisée avec Chimera

Chapitre III : Résultats et interprétation

CONFIDENTIEL

Chapitre IV : Discussion

Chapitre IV : Discussion

Discussion

Le bon fonctionnement du système immunitaire repose sur un équilibre délicat entre activation des réponses de défense et mécanismes de régulation, afin d'éviter les réactions auto-immunes ou excessives (Visser et al., 2023a). Ce contrôle repose sur de nombreuses interactions cellulaires médiées par des protéines membranaires, dont SIRP γ , exprimée principalement sur les lymphocytes T (Luo et al., 2024). En interagissant avec CD47, un ligand largement exprimé dans l'organisme d'une manière ubiquitaire (Kaur et al., 2021), SIRP γ participe à la modulation des réponses immunitaires, notamment dans l'activation de lymphocyte T et leur migration Transendothéliale (Piccio et al., 2005a). Par conséquent, toute altération de cette protéine, en particulier d'origine génétique pourrait perturber l'homéostasie immunitaire et favoriser l'apparition de diverses pathologies.

Dans ce contexte, notre étude a visé à explorer, par approche *in silico*, l'impact de quatre variants non synonymes (SNPs) situés dans la séquence codante de SIRP γ : P175L, W182S, W182C (déjà identifiés dans un travail antérieur par Selmi Karima) et V263A, rapporté dans la littérature pour son effet potentiel. Contrairement aux travaux précédents qui se concentraient uniquement sur les SNPs délétères, notre approche a combiné la prédiction des modifications post-traductionnelles et la modélisation tridimensionnelle des formes mutées, afin d'évaluer les conséquences structurales et/ou fonctionnelles de ces mutations sur notre protéine.

Pour explorer les conséquences fonctionnelles de ces mutations, nous avons utilisé plusieurs outils de prédiction des PTMs. L'analyse des sites de phosphorylation à l'aide de GPS 6.0, MusiteDeep et NetPhos a révélé que, dans la structure sauvage, les résidus 165S, 170S et 174S étaient fortement susceptibles d'être phosphorylés. La mutation P175L n'a pas modifié significativement ce profil, maintenant la probabilité de phosphorylation sur les résidus 165S et 170S. En revanche, la mutation W182S a induit l'apparition d'un nouveau site de phosphorylation en position 182, absent dans la forme sauvage, ce qui pourrait avoir des conséquences importantes sur la signalisation intracellulaire ou les interactions protéiques. À l'inverse, la mutation W182C n'a généré aucun nouveau site phosphorylable.

L'évaluation de la méthylation par GPS-MSP, PRmePRed et MusiteDeep a montré un potentiel de méthylation élevé sur le résidu 184S dans le mutant W182S (score de 1,61 avec GPS-MSP), tandis que les autres outils n'ont pas confirmé ce résultat, soulignant une divergence des prédictions. De même, l'analyse des sites d'ubiquitination a révélé la conservation des résidus 181K et 184K dans les formes sauvage et mutées, selon MusiteDeep. En ce qui concerne les autres PTMs (carbonylation, nitration, liaison aux phosphoprotéines, S-nitrosylation), aucun site prédictif n'a été détecté, à l'exception notable de la S-nitrosylation pour la mutation W182C, identifiée par GPS-SNO et DeepNitro, suggérant un effet spécifique induit par cette substitution.

Sur le plan structural, la modélisation tridimensionnelle réalisée via SWISS-MODEL, en utilisant comme matrice la structure 4i2x.1.C, a permis d'obtenir des modèles fiables tant pour la forme sauvage que pour les variants mutés. Les scores de qualité obtenus (GMQE = 0,77 ; QMEAN Z-score compris entre -0,04 et -0,38) confirment la validité des structures générées.

L'analyse stéréochimique, basée sur les diagrammes de Ramachandran, a montré que plus de 96 % des résidus se situent dans des régions favorables, traduisant une conformation correcte des protéines. De plus, les valeurs de TM-score élevées (entre 0,99 et 1) ainsi que les RMSD très faibles (~0,13 Å) suggèrent une superposition quasi parfaite entre les formes mutées et la forme sauvage.

Les résultats de Phyre2 confirment globalement ceux obtenus par SwissModel. Les TM-scores étaient égaux à 1 pour toutes les mutations, sauf pour W182C, dont le score était légèrement inférieur (0,99683), indiquant une très légère déviation structurale. L'analyse stéréochimique, basée sur les diagrammes de Ramachandran, a montré que plus de 96 % des résidus se situent dans des régions favorables, traduisant une conformation correcte des protéines. De plus, Les valeurs de RMSD nulles renforcent l'idée que les mutations n'affectent que peu la structure tridimensionnelle globale.

Nos résultats *in silico* sur le variant V263A (rs6043409) indiquent une superposition parfaite avec la structure sauvage (TM-score = 1 ; RMSD = 0), suggérant aucune altération majeure de la conformation globale. Pourtant, des études de grande ampleur (GWAS) ont montré une association significative entre ce SNP et le risque de diabète de type 1 (T1D), ainsi que d'autres maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminé et la polyarthrite rhumatoïde (**Sharp et al., 2021a; Sinha et al., 2018c**).

Plus précisément, le variant rs6043409 entraîne une substitution dans la position 263 (V263A), localisée dans le domaine D3 extracellulaire de SIRP γ . Ce domaine, bien que peu étudié, est proche des domaines D1/D2 responsables de la liaison avec CD47 (**Sharp et al., 2021a**), molécule centrale dans la régulation des réponses immunitaires. Des hypothèses avancées dans la littérature suggèrent que cette mutation pourrait altérer la conformation du domaine D3 et, par conséquent, nuire à l'interaction SIRP γ -CD47, même si la structure globale reste inchangée (RMSD nul).

Néanmoins, il est essentiel de souligner que nos résultats reposent sur des prédictions *in silico*. Ainsi, des validations expérimentales supplémentaires, à la fois *in silico* (docking, dynamique moléculaire) et *in vitro*, sont indispensables pour confirmer les effets réels de ces SNPs sur la fonction de SIRP γ . Ce travail constitue une première étape exploratoire, ouvrant la voie à des recherches plus approfondies sur les mécanismes immunitaires impliquant cette protéine.

Chapitre V :

Conclusion et perspectives

Chapitre V : Conclusion et Perspectives

Chapitre V : Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail a porté sur l'analyse *in silico* de quatre polymorphismes non synonymes (SNPs) susceptibles d'altérer la structure de la protéine SIRP γ , un régulateur membranaire impliqué dans les interactions immunitaires, notamment via sa liaison avec CD47. Les mutations P175L, W182S, W182C (issues de travaux antérieurs) ainsi que V263A (rapportée dans la littérature) ont été sélectionnées pour leur potentiel impact fonctionnel.

Les résultats ont révélé des effets distincts selon les mutations : W182S a généré de nouveaux sites de phosphorylation et de méthylation susceptibles d'influencer la fonction de la protéine, tandis que W182C et P175L ont induit des altérations structurales localisées.

Cette étude constitue un premier pas significatif dans l'identification de variants génétiques susceptibles d'altérer la structure et la fonction de SIRP γ . L'approche *in silico*, rapide et économique, s'est révélée pertinente pour présélectionner rationnellement les mutations d'intérêt. En perspective, ce travail pourrait être enrichi par des analyses complémentaires de docking moléculaire et de dynamique structurale, afin de mieux comprendre l'impact des mutations sur l'interaction SIRP γ -CD47. Ces données, qui devront être validées *in vitro*, pourraient à terme contribuer à l'identification de nouvelles cibles diagnostiques ou thérapeutiques dans les pathologies immuno-inflammatoires ou tumorales.

Chapitre VI : Bibliographies

Chapitre VI : Bibliographies

A

- Abdelazim, A.A., Maged, M., Abdelmaksoud, A.I., Hassanein, S.E., 2025a. In-silico screening and analysis of missense SNPs in human CYP3A4/5 affecting drug-enzyme interactions of FDA-approved COVID-19 antiviral drugs. *Sci Rep* 15, 2153. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-85595-x>
- Abdelazim, A.A., Maged, M., Abdelmaksoud, A.I., Hassanein, S.E., 2025b. In-silico screening and analysis of missense SNPs in human CYP3A4/5 affecting drug-enzyme interactions of FDA-approved COVID-19 antiviral drugs. *Sci Rep* 15, 2153. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-85595-x>
- Ali, A., Rehman, M.U., Ahmad, S.M., Mehraj, T., Hussain, I., Nadeem, A., Mir, M.U.R., Ganie, S.A., 2022. *In silico* Tools for Analysis of Single-Nucleotide Polymorphisms in the Bovine Transferrin Gene. *Animals* 12, 693. <https://doi.org/10.3390/ani12060693>
- Ali, E.W., Adam, K.M., Elangeeb, M.E., Ahmed, E.M., Abuagla, H.A., MohamedAhmed, A.A.E., Edris, A.M., Eltieb, E.I., Osman, H.M.A., Idris, E.S., 2024. Exploring the Structural and Functional Consequences of Deleterious Missense Nonsynonymous SNPs in the EPOR Gene: A Computational Approach. *J Pers Med* 14, 1111. <https://doi.org/10.3390/jpm14111111>
- Al-Khayyat, M.Z.S., Al-Dabbagh, A.G.A., 2016. *In silico* Prediction and Docking of Tertiary Structure of LuxI, an Inducer Synthase of *Vibrio fischeri*. *Rep Biochem Mol Biol* 4, 66–75.
- Al-Shuhaib, M.B.S., 2024. Classification of Single-Nucleotide Polymorphisms (SNPs): Tips from the Basic Knowledge to the Clinical Outcomes 1–33. https://doi.org/10.1007/16833_2024_259
- Andrejeva, G., Capoccia, B.J., Hiebsch, R.R., Donio, M.J., Darwech, I.M., Puro, R.J., Pereira, D.S., 2021. Novel SIRP α Antibodies That Induce Single-Agent Phagocytosis of Tumor Cells while Preserving T Cells. *J Immunol* 206, 712–721. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2001019>
- Audagnotto, M., Dal Peraro, M., 2017. Protein post-translational modifications: *In silico* prediction tools and molecular modeling. *Comput Struct Biotechnol J* 15, 307–319. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2017.03.004>
- Azizzadeh-Roodpish, S., Garzon, M.H., Mainali, S., 2021. Classifying single nucleotide polymorphisms in humans. *Mol Genet Genomics* 296, 1161–1173. <https://doi.org/10.1007/s00438-021-01805-x>

B

- Barclay, A.N., Brown, M.H., 2006. The SIRP family of receptors and immune regulation. *Nat Rev Immunol* 6, 457–464. <https://doi.org/10.1038/nri1859>
- Basu-Roy, U., Bayin, N.S., Rattanakorn, K., Han, E., Placantonakis, D.G., Mansukhani, A., Basilico, C., 2015. Sox2 antagonizes the Hippo pathway to maintain stemness in cancer cells. *Nat Commun* 6, 6411. <https://doi.org/10.1038/ncomms7411>
- Benkert, P., Biasini, M., Schwede, T., 2011. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics* 27, 343–350. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq662>
- Bienert, S., Waterhouse, A., de Beer, T.A.P., Tauriello, G., Studer, G., Bordoli, L., Schwede, T., 2017. The SWISS-MODEL Repository—new features and functionality. *Nucleic Acids Research* 45, D313–D319. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1132>
- Biswas, A.K., Noman, N., Sikder, A.R., 2010. Machine learning approach to predict protein phosphorylation sites by incorporating evolutionary information. *BMC Bioinformatics* 11, 273. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-273>
- Blom, N., Gammeltoft, S., Brunak, S., 1999. Sequence and structure-based prediction of eukaryotic protein phosphorylation sites. *J Mol Biol* 294, 1351–1362. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3310>
- Brosseau, S., 2023. Implication de la voie de signalisation Hippo/YAP dans la résistance acquise au paclitaxel du cancer pulmonaire (phdthesis). Université Paris Cité.

C

- Cendrowicz, E., Sas, Z., Bremer, E., Rygiel, T.P., 2021. The Role of Macrophages in Cancer Development and Therapy. *Cancers (Basel)* 13, 1946. <https://doi.org/10.3390/cancers13081946>
- Chakraborty, S., Choudhuri, A., Mishra, A., Sengupta, R., 2025. S-nitrosylation and S-glutathionylation: Lying at the forefront of redox dichotomy or a visible synergism? *Biochemical and Biophysical Research Communications* 761, 151734. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2025.151734>
- Chang, X., Wang, C., Wang, F., Zhang, L., 2025. Global research trends of tumor microenvironment in non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor mutation: a bibliometric analysis from 2014 to 2023. *Front. Immunol.* 16, 1555216. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1555216>
- Che, Z., Wang, W., Zhang, L., Lin, Z., 2025. Therapeutic strategies targeting CD47-SIRP α signaling pathway in gastrointestinal cancers treatment. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 15, 101099. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2024.101099>
- Chen, M., Zhang, W., Gou, Y., Xu, D., Wei, Y., Liu, D., Han, C., Huang, X., Li, C., Ning, W., Peng, D., Xue, Y., 2023. GPS 6.0: an updated server for prediction of kinase-specific phosphorylation sites in proteins. *Nucleic Acids Res* 51, W243–W250. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad383>
- Chen, S., Li, B., Chen, L., Jiang, H., 2023. Uncovering the mechanism of resveratrol in the treatment of diabetic kidney disease based on network pharmacology, molecular docking, and experimental validation. *Journal of Translational Medicine* 21, 380. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04233-0>
- Chen, Z., Fillmore, C.M., Hammerman, P.S., Kim, C.F., Wong, K.-K., 2014. Non-small-cell lung cancers: a heterogeneous set of diseases. *Nat Rev Cancer* 14, 535–546. <https://doi.org/10.1038/nrc3775>
- Choi, Y., Nam, G.-H., Kim, G.B., Kim, S., Kim, Y.K., Kim, S.A., Kim, H.-J., Lee, E.J., Kim, I.-S., 2021a. Nanocages displaying SIRP gamma clusters combined with phagocytic stimulus of phagocytes potentiate anti-tumor immunity. *Cancer Gene Ther* 28, 960–970. <https://doi.org/10.1038/s41417-021-00372-y>
- Choi, Y., Nam, G.-H., Kim, G.B., Kim, S., Kim, Y.K., Kim, S.A., Kim, H.-J., Lee, E.J., Kim, I.-S., 2021b. Nanocages displaying SIRP gamma clusters combined with phagocytic stimulus of phagocytes potentiate anti-tumor immunity. *Cancer Gene Ther* 28, 960–970. <https://doi.org/10.1038/s41417-021-00372-y>
- Choura, M., Rebaï, A., 2009. Applications of computational tools to predict functional SNPs effects in human ErbB genes. *J Recept Signal Transduct Res* 29, 286–291. <https://doi.org/10.1080/10799890902911948>
- Cui, M., Xiao, X., Zhao, M., Zheng, B., 2017. Detection of single nucleotide polymorphism by measuring extension kinetics with T7 exonuclease mediated isothermal amplification. *Analyst* 143, 116–122. <https://doi.org/10.1039/C7AN00875A>

D

- Dabhi, B., Mistry, K.N., 2014a. In silico analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) in human TNF- α gene. *Meta Gene* 2, 586–595. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.07.005>
- Dabhi, B., Mistry, K.N., 2014b. In silico analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) in human TNF- α gene. *Meta Gene* 2, 586–595. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.07.005>
- Daneshvar, S., Moradi, F., Rahmani, M., Golshaniniya, P., Frounchi, N., Seifimansour, S., Talebi, M., Sanaie, S., Naseri, A., 2025. Association of serum levels of inflammation and oxidative stress markers with cognitive outcomes in multiple sclerosis; a systematic review. *Journal of Clinical Neuroscience* 132. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2024.110990>
- Dehmani, S., Nerrière-Daguin, V., Néel, M., Elain-Duret, N., Heslan, J.-M., Belarif, L., Mary, C., Thepenier, V., Biteau, K., Poirier, N., Blancho, G., Haspot, F., 2021a. SIRP γ -CD47 Interaction Positively Regulates the Activation of Human T Cells in Situation of Chronic Stimulation. *Front. Immunol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.732530>
- Dehmani, S., Nerrière-Daguin, V., Néel, M., Elain-Duret, N., Heslan, J.-M., Belarif, L., Mary, C., Thepenier, V., Biteau, K., Poirier, N., Blancho, G., Haspot, F., 2021b. SIRP γ -CD47 Interaction

- Positively Regulates the Activation of Human T Cells in Situation of Chronic Stimulation. *Front. Immunol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.732530>
- Dehmani, S., Nerrière-Daguin, V., Néel, M., Elain-Duret, N., Heslan, J.-M., Belarif, L., Mary, C., Thepenier, V., Biteau, K., Poirier, N., Blancho, G., Haspot, F., 2021c. SIRP γ -CD47 Interaction Positively Regulates the Activation of Human T Cells in Situation of Chronic Stimulation. *Front Immunol* 12, 732530. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.732530>
- Deng, G., Li, Y., Liang, N., Hu, P., Zhang, Yan, Qiao, L., Zhang, Yingying, Xie, J., Luo, H., Wang, F., Chen, F., Liu, F., Xu, D., Zhang, J., 2023. Ferritin in cancer therapy: A pleiotropic tumoraffin nanocage-based transport. *Cancer Med* 12, 11570–11588. <https://doi.org/10.1002/cam4.5778>
- Deng, W., Wang, Y., Ma, L., Zhang, Y., Ullah, S., Xue, Y., 2017. Computational prediction of methylation types of covalently modified lysine and arginine residues in proteins. *Briefings in Bioinformatics* 18, 647–658. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw041>
- Dhillon, P., Thornton, J.M., 2020. In conversation with Janet Thornton. *FEBS J* 287, 4106–4113. <https://doi.org/10.1111/febs.15567>
- Dong, R., Pan, S., Peng, Z., Zhang, Y., Yang, J., 2018. mTM-align: a server for fast protein structure database search and multiple protein structure alignment. *Nucleic Acids Res* 46, W380–W386. <https://doi.org/10.1093/nar/gky430>

E

- Edwards, D., Forster, J.W., Chagné, D., Batley, J., 2007. What Are SNPs?, in: Oraguzie, N.C., Rikkerink, E.H.A., Gardiner, S.E., De Silva, H.N. (Eds.), *Association Mapping in Plants*. Springer, New York, NY, pp. 41–52. https://doi.org/10.1007/978-0-387-36011-9_3
- Eladl, E., Tremblay-LeMay, R., Rastgoo, N., Musani, R., Chen, W., Liu, A., Chang, H., 2020. Role of CD47 in Hematological Malignancies. *J Hematol Oncol* 13, 96. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00930-1>
- Esmaili, F., Pourmirzaei, M., Ramazi, S., Shojaeilangari, S., Yavari, E., 2023. A Review of Machine Learning and Algorithmic Methods for Protein Phosphorylation Site Prediction. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 21, 1266–1285. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2023.03.007>
- Farajzadeh-Dehkordi, M., Mafakher, L., Harifi, A., Haghdoost-Yazdi, H., Piri, H., Rahmani, B., 2024. Unraveling the function and structure impact of deleterious missense SNPs in the human OX1R receptor by computational analysis. *Sci Rep* 14, 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49809-4>
- 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. *Nat Commun* 12, 5218. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25475-w>
- Franco, M.C., Estévez, A.G., 2014. Tyrosine nitration as mediator of cell death. *Cell Mol Life Sci* 71, 3939–3950. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1662-8>

G

- Gao, X., Tie, J., Yang, X., Yang, J., Wang, G., Lyu, J., Hu, L., Yu, J., 2025. La S- nitrosylation de la fructose-1,6-bisphosphate aldolase induite par *les* brassinostéroïdes a augmenté la synthèse d'ATP à basse température dans les mini-plants de chou chinois. *International Journal of Biological Macromolecules* 308, 142626. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142626>
- Gautam, P., Bhanage, B.M., 2017. carbonylative et carboxylative C H catalysées par le palladium, in: Kapdi, A.R., Maiti, D. (Eds.), *Strategies for Palladium-Catalyzed Non-Directed and Directed C-H Bond Functionalization*. Elsevier, pp. 233–274. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805254-9.00006-2>
- Giral, H., Landmesser, U., Kratzer, A., 2018. Into the Wild: GWAS Exploration of Non-coding RNAs. *Front. Cardiovasc. Med.* 5. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00181>
- Gulzar, N., Dingerdissen, H., Yan, C., Mazumder, R., 2017. Impact of Nonsynonymous Single-Nucleotide Variations on Post-Translational Modification Sites in Human Proteins, in: Wu, C.H., Arighi, C.N., Ross, K.E. (Eds.), *Protein Bioinformatics, Methods in Molecular Biology*. Springer New York, New York, NY, pp. 159–190. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6783-4_8

Guo, R.-Q., Li, Y.-M., Bie, Z.-X., Peng, J.-Z., Li, X.-G., 2025. Microwave ablation of non-small cell lung cancer enhances local T-cell abundance and alters monocyte interactions. *BMC Cancer* 25, 605. <https://doi.org/10.1186/s12885-025-14002-5>

H

Hai, Z., Shucheng, C., Junwei, M., Hongwei, X., Zhiyong, Y., 2022. CD47 as a promising therapeutic target in oncology. *Front. Immunol.* 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.757480>

Hartung, H.-P., Aktas, O., Boyko, A.N., 2015. Alemtuzumab: a new therapy for active relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 21, 22–34. <https://doi.org/10.1177/1352458514549398>

Hossain, Md.S., Roy, A.S., Islam, Md.S., 2020. In silico analysis predicting effects of deleterious SNPs of human RASSF5 gene on its structure and functions. *Sci Rep* 10, 14542. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71457-1>

I

Ichigotani, Y., Matsuda, S., Machida, K., Oshima, K., Iwamoto, T., Yamaki, K., Hayakawa, T., Hamaguchi, M., 2000. Molecular cloning of a novel human gene (SIRP-B2) which encodes a new member of the SIRP/SHPS-1 protein family. *J Hum Genet* 45, 378–382. <https://doi.org/10.1007/s100380070013>

K

Kamal, Md.M., Mia, Md.S., Faruque, Md.O., Rabby, Md.G., Islam, Md.N., Talukder, Md.E.K., Wani, T.A., Rahman, M.A., Hasan, Md.M., 2024. In silico functional, structural and pathogenicity analysis of missense single nucleotide polymorphisms in human MCM6 gene. *Sci Rep* 14, 11607. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62299-2>

Kang, J.S., Kim, H., Baek, J.H., Song, M., Park, H., Jeong, W., Chung, H.J., Yoo, D.Y., Lee, D.K., Park, S.W., Kim, H.J., 2025. Activation of glutamine synthetase (GS) as a new strategy for the treatment of major depressive disorder and other GS-related diseases. *Acta Pharmacol Sin* 46, 880–891. <https://doi.org/10.1038/s41401-024-01441-2>

Kaur, S., Isenberg, J.S., Roberts, D.D., 2021. CD47 (Cluster of Differentiation 47). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* 25, 83–102.

Kawasaki, M., Sekigawa, I., Nozawa, K., Kaneko, H., Takasaki, Y., Takamori, K., Ogawa, H., 2009. Changes in the gene expression of peripheral blood mononuclear cells during the menstrual cycle of females is associated with a gender bias in the incidence of systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 27, 260–266.

Kelley, L.A., Mezulis, S., Yates, C.M., Wass, M.N., Sternberg, M.J.E., 2015. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat Protoc* 10, 845–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.053>

Khalaji, A., Yancheshmeh, F.B., Farham, F., Khorram, A., Sheshbolouki, S., Zokaei, M., Vatankhah, F., Soleymani-Goloujeh, M., 2023. Don't eat me/eat me signals as a novel strategy in cancer immunotherapy. *Heliyon* 9, e20507. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20507>

Kimchi-Sarfaty, C., Oh, J.M., Kim, I.-W., Sauna, Z.E., Calcagno, A.M., Ambudkar, S.V., Gottesman, M.M., 2007. A “silent” polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science* 315, 525–528. <https://doi.org/10.1126/science.1135308>

Koga, N., Hu, Q., Sakai, A., Takada, K., Nakanishi, R., Hisamatsu, Y., Ando, K., Kimura, Y., Oki, E., Oda, Y., Mori, M., 2021. Clinical significance of signal regulatory protein alpha (SIRP α) expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 112, 3018–3028. <https://doi.org/10.1111/cas.14971>

Kolbert, Z., Feigl, G., Bordé, Á., Molnár, Á., Erdei, L., 2017. Protein tyrosine nitration in plants: Present knowledge, computational prediction and future perspectives. *Plant Physiology and Biochemistry* 113, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.028>

Kolbert, Z., Lindermayr, C., 2021. Computational prediction of NO-dependent posttranslational modifications in plants: Current status and perspectives. *Plant Physiol Biochem* 167, 851–861. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.09.011>

L

- Lanier, L.L., 2009. DAP10- and DAP12-associated receptors in innate immunity. *Immunological Reviews* 227, 150–160. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00720.x>
- Laskar, F.S., Bappy, Md.N.I., Hossain, Md.S., Alam, Z., Afrin, D., Saha, S., Ali Zinnah, K.Md., 2023. An In silico Approach towards Finding the Cancer-Causing Mutations in Human MET Gene. *International Journal of Genomics* 2023, 9705159. <https://doi.org/10.1155/2023/9705159>
- Li, F., Li, C., Marquez-Lago, T.T., Leier, A., Akutsu, T., Purcell, A.W., Ian Smith, A., Lithgow, T., Daly, R.J., Song, J., Chou, K.-C., 2018. Quokka: a comprehensive tool for rapid and accurate prediction of kinase family-specific phosphorylation sites in the human proteome. *Bioinformatics* 34, 4223–4231. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty522>
- Li, W., Chen, N., Wang, J., Luo, Y., Liu, H., Ding, J., Jin, Q., 2024. Species-specific model based on sequence and structural information for ubiquitination sites prediction. *J Mol Biol* 436, 168781. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2024.168781>
- Li, X., Yuan, Z., Chen, Y., 2024. UbNiRF: A Hybrid Framework Based on Null Importances and Random Forest that Combines Multiple Features to Predict Ubiquitination Sites in *Arabidopsis thaliana* and *Homo sapiens*. *Front Biosci (Landmark Ed)* 29, 197. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2905197>
- Li, Z., Li, Y., Gao, J., Fu, Y., Hua, P., Jing, Y., Cai, M., Wang, H., Tong, T., 2021. The role of CD47-SIRP α immune checkpoint in tumor immune evasion and innate immunotherapy. *Life Sci* 273, 119150. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119150>
- Liao, H., Niu, C., 2022. Role of CD47-SIRP α Checkpoint in Nanomedicine-Based Anti-Cancer Treatment. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.887463>
- Liu, Y., Weng, L., Wang, Y., Zhang, J., Wu, Q., Zhao, P., Shi, Y., Wang, P., Fang, L., 2023. Deciphering the role of CD47 in cancer immunotherapy. *J Adv Res* 63, 129–158. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.10.009>
- Liu, Z., Cao, J., Ma, Q., Gao, X., Ren, J., Xue, Y., 2011. GPS-YNO2: computational prediction of tyrosine nitration sites in proteins. *Mol Biosyst* 7, 1197–1204. <https://doi.org/10.1039/c0mb00279h>
- Luo, L., Jiang, M., Wu, H., Liu, Y., Wang, H., Zhou, C., Ren, S., Chen, X., Jiang, T., Xu, C., 2024. SIRPG expression positively associates with an inflamed tumor microenvironment and response to PD-1 blockade. *Cancer Immunol Immunother* 73, 147. <https://doi.org/10.1007/s00262-024-03737-y>

M

- Majeed, S., Moin, H., Waseem, M., Khalid, Z., Wajid Abbasi, S., Rasool, K., 2025. Identification of candidate nsSNPs of the human FNDC5 gene and their structural and functional consequences using in silico analysis. *Sci Rep* 15, 7681. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-83254-1>
- Mao, G., Li, J., Wang, N., Yu, H., Han, S., Xiang, M., Zhang, H., Zeng, D., Jiang, J., Ma, H., 2024. SIRPG promotes lung squamous cell carcinoma pathogenesis via M1 macrophages: a multi-omics study integrating data and Mendelian randomization. *Front. Oncol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1392417>
- Martin, D.D.O., Kay, C., Collins, J.A., Nguyen, Y.T., Slama, R.A., Hayden, M.R., 2018. A human huntingtin SNP alters post-translational modification and pathogenic proteolysis of the protein causing Huntington disease. *Sci Rep* 8, 8096. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25903-w>
- Menezo, Y., Clement, P., Clement, A., Elder, K., 2020. Methylation: An Ineluctable Biochemical and Physiological Process Essential to the Transmission of Life. *Int J Mol Sci* 21, 9311. <https://doi.org/10.3390/ijms21239311>

N

- Naureen, U., Khosa, A.N., Mukhtar, M.A., Nabi, F., Ahmed, N., Saleem, M., 2023. Genetic Biodiversity and Posttranslational Modifications of Protease Serine Endopeptidase in Different Strains of *Sordaria fimicola*. *Biomed Res Int* 2023, 2088988. <https://doi.org/10.1155/2023/2088988>
- Nettleship, Joanne E., Ren, J., Scott, D.J., Rahman, N., Hatherley, D., Zhao, Y., Stuart, D.I., Barclay, A.N., Owens, R.J., 2013. Crystal structure of signal regulatory protein gamma (SIRP γ) in

complex with an antibody Fab fragment. *BMC Struct Biol* 13, 13. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-13-13>

Nettleship, Joanne E, Ren, J., Scott, D.J., Rahman, N., Hatherley, D., Zhao, Y., Stuart, D.I., Barclay, A.N., Owens, R.J., 2013. Crystal structure of signal regulatory protein gamma (SIRP γ) in complex with an antibody Fab fragment. *BMC Struct Biol* 13, 13. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-13-13>

Nierkens, S., Brok, M.H. den, Roelofsen, T., Wagenaars, J.A.L., Figdor, C.G., Ruers, T.J., Adema, G.J., 2009. Route of Administration of the TLR9 Agonist CpG Critically Determines the Efficacy of Cancer Immunotherapy in Mice. *PLOS ONE* 4, e3668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008368>

O

Ouznadji, A., Desmons, A., 2020. Les réactions d'oxydation des protéines et leurs biomarqueurs. *Revue Francophone des Laboratoires* 2020, 31–38. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30160-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30160-X)

P

Pandit, S.B., Skolnick, J., 2008. Fr-TM-align: a new protein structural alignment method based on fragment alignments and the TM-score. *BMC Bioinformatics* 9, 531. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-531>

Pavithran, H., Kumavath, R., 2021. In silico analysis of nsSNPs in CYP19A1 gene affecting breast cancer associated aromatase enzyme. *J Genet* 100, 23.

Peng, D., Li, H., Hu, B., Zhang, H., Chen, L., Lin, S., Zuo, Z., Xue, Y., Ren, J., Xie, Y., 2020. PTMsnp: A Web Server for the Identification of Driver Mutations That Affect Protein Post-translational Modification. *Front. Cell Dev. Biol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.593661>

Peranzoni, E., Donnadieu, E., 2019. L'élimination des macrophages tumoraux - Une voie pour améliorer l'efficacité de l'immunothérapie anticancéreuse. *Med Sci (Paris)* 35, 207–209. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019043>

Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Meng, E.C., Couch, G.S., Croll, T.I., Morris, J.H., Ferrin, T.E., 2021. UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers. *Protein Sci* 30, 70–82. <https://doi.org/10.1002/pro.3943>

Piccio, L., Vermi, W., Boles, K.S., Fuchs, A., Strader, C.A., Facchetti, F., Cella, M., Colonna, M., 2005a. Adhesion of human T cells to antigen-presenting cells through SIRP β -CD47 interaction costimulates T-cell proliferation. *Blood* 105, 2421–2427. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2823>

Piccio, L., Vermi, W., Boles, K.S., Fuchs, A., Strader, C.A., Facchetti, F., Cella, M., Colonna, M., 2005b. Adhesion of human T cells to antigen-presenting cells through SIRP β -CD47 interaction costimulates T-cell proliferation. *Blood* 105, 2421–2427. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2823>

Pourmirzaei, M., Ramazi, S., Esmaili, F., Shojaeilangari, S., Allahvardi, A., 2023. Machine learning-based approaches for ubiquitination site prediction in human proteins. *BMC Bioinformatics* 24, 449. <https://doi.org/10.1186/s12859-023-05581-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. *J Mol Biol* 168960. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2025.168960>

Q

Quan, L., Dai, J., Luo, Y., Wang, L., Liu, Y., Meng, J., Yang, F., You, X., 2024. The 100 top-cited studies in systemic lupus erythematosus: A bibliometric analysis. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 20, 2387461. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2387461>

R

Radi, R., 2013. Protein tyrosine nitration: biochemical mechanisms and structural basis of functional effects. *Acc Chem Res* 46, 550–559. <https://doi.org/10.1021/ar300234c>

Ruel, N.M., Hammond, J.R., 2025. Activation of protein kinase C decreases equilibrative nucleobase transporter 1-mediated substrate uptake via phosphorylation of threonine 231. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1869, 130765. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2025.130765>

S

- Sarkar, B., Mondal, M.S.A., Rahman, T., Hosen, Md.I., Rahman, A., 2024. Comprehensive characterization of high-risk coding and non-coding single nucleotide polymorphisms of human CXCR4 gene. *PLoS One* 19, e0312733. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0312733>
- Sauna, Z.E., Kimchi-Sarfaty, C., 2011. Understanding the contribution of synonymous mutations to human disease. *Nat Rev Genet* 12, 683–691. <https://doi.org/10.1038/nrg3051>
- Schwede, T., Kopp, J., Guex, N., Peitsch, M.C., 2003. SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server. *Nucleic Acids Res* 31, 3381–3385. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg520>
- Seiffert, M., Brossart, P., Cant, C., Cella, M., Colonna, M., Brugger, W., Kanz, L., Ullrich, A., Bühring, H.-J., 2001. Signal-regulatory protein α (SIRP α) but not SIRP β is involved in T-cell activation, binds to CD47 with high affinity, and is expressed on immature CD34+CD38–hematopoietic cells. *Blood* 97, 2741–2749. <https://doi.org/10.1182/blood.V97.9.2741>
- Sharp, R.C., Brown, M.E., Shapiro, M.R., Posgai, A.L., Brusko, T.M., 2021a. The Immunoregulatory Role of the Signal Regulatory Protein Family and CD47 Signaling Pathway in Type 1 Diabetes. *Front. Immunol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.739048>
- Sharp, R.C., Brown, M.E., Shapiro, M.R., Posgai, A.L., Brusko, T.M., 2021b. The Immunoregulatory Role of the Signal Regulatory Protein Family and CD47 Signaling Pathway in Type 1 Diabetes. *Front Immunol* 12, 739048. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.739048>
- Shastri, B.S., 2009. SNPs: Impact on Gene Function and Phenotype, in: Komar, A.A. (Ed.), *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 3–22. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_1
- Sinha, S., Borchering, N., Renavikar, P.S., Crawford, M.P., Tsalikian, E., Tansey, M., Shivapour, E.T., Bittner, F., Kamholz, J., Olalde, H., Gibson, E., Karandikar, N.J., 2018a. An autoimmune disease risk SNP, rs2281808, in SIRPG is associated with reduced expression of SIRP γ and heightened effector state in human CD8 T-cells. *Sci Rep* 8, 15440. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33901-1>
- Sinha, S., Borchering, N., Renavikar, P.S., Crawford, M.P., Tsalikian, E., Tansey, M., Shivapour, E.T., Bittner, F., Kamholz, J., Olalde, H., Gibson, E., Karandikar, N.J., 2018b. An autoimmune disease risk SNP, rs2281808, in SIRPG is associated with reduced expression of SIRP γ and heightened effector state in human CD8 T-cells. *Sci Rep* 8, 15440. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33901-1>
- Sinha, S., Borchering, N., Renavikar, P.S., Crawford, M.P., Tsalikian, E., Tansey, M., Shivapour, E.T., Bittner, F., Kamholz, J., Olalde, H., Gibson, E., Karandikar, N.J., 2018c. An autoimmune disease risk SNP, rs2281808, in SIRPG is associated with reduced expression of SIRP γ and heightened effector state in human CD8 T-cells. *Sci Rep* 8, 15440. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33901-1>
- Sinha, S., Renavikar, P.S., Crawford, M.P., Steward-Tharp, S.M., Brate, A., Tsalikian, E., Tansey, M., Shivapour, E.T., Cho, T., Kamholz, J., Karandikar, N.J., 2020a. Altered expression of SIRP γ on the T-cells of relapsing remitting multiple sclerosis and type 1 diabetes patients could potentiate effector responses from T-cells. *PLOS ONE* 15, e0238070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238070>
- Sinha, S., Renavikar, P.S., Crawford, M.P., Steward-Tharp, S.M., Brate, A., Tsalikian, E., Tansey, M., Shivapour, E.T., Cho, T., Kamholz, J., Karandikar, N.J., 2020b. Altered expression of SIRP γ on the T-cells of relapsing remitting multiple sclerosis and type 1 diabetes patients could potentiate effector responses from T-cells. *PLoS One* 15, e0238070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238070>
- Smith, M.J., Pastor, L., Newman, J.R.B., Concannon, P., 2022. Genetic Control of Splicing at SIRPG Modulates Risk of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 71, 350–358. <https://doi.org/10.2337/db21-0194>
- Stefanidakis, M., Newton, G., Lee, W.Y., Parkos, C.A., Lusinskas, F.W., 2008. Endothelial CD47 interaction with SIRP γ is required for human T-cell transendothelial migration under shear flow conditions in vitro. *Blood* 112, 1280–1289. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-01-134429>

Studer, G., Rempfer, C., Waterhouse, A.M., Gumienny, R., Haas, J., Schwede, T., 2020. QMEANDisCo-distance constraints applied on model quality estimation. *Bioinformatics* 36, 1765–1771. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz828>

Su, X., Jin, W., Liu, L., Zhu, Z., Li, C., 2023. Regulation of CD47 expression on CD14⁺ monocytes by interferon- α in PBC patients. *Front. Immunol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1256995>

T

Thusberg, J., Olatubosun, A., Vihinen, M., 2011. Performance of mutation pathogenicity prediction methods on missense variants. *Hum. Mutat.* 32, 358–368. <https://doi.org/10.1002/humu.21445>

U

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, e37280. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37280>

V

van Beek, E.M., Cochrane, F., Barclay, A.N., van den Berg, T.K., 2005. Signal Regulatory Proteins in the Immune System. *The Journal of Immunology* 175, 7781–7787. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.12.7781>

van Helden, M.J., Zwarthoff, S.A., Arends, R.J., Reinieren-Beeren, I.M.J., Paradé, M.C.B.C., Driessen-Engels, L., de Laat-Arts, K., Damming, D., Santegoeds-Lenssen, E.W.H., van Kuppeveld, D.W.J., Lodewijks, I., Olsman, H., Matlung, H.L., Franke, K., Mattaar-Hepp, E., Stokman, M.E.M., de Wit, B., Glaudemans, D.H.R.F., van Wijk, D.E.J.W., Joosten-Stoffels, L., Schouten, J., Boersema, P.J., van der Vleuten, M., Sanderink, J.W.H., Kappers, W.A., van den Dobbelaar, D., Timmers, M., Ubink, R., Rouwendal, G.J.A., Verheijden, G., van der Lee, M.M.C., Dokter, W.H.A., van den Berg, T.K., 2023. BYON4228 is a pan-allelic antagonistic SIRP α antibody that potentiates destruction of antibody-opsonized tumor cells and lacks binding to SIRP γ on T cells. *J Immunother Cancer* 11, e006567. <https://doi.org/10.1136/jitc-2022-006567>

Visser, N., Nelemans, L.C., He, Y., Lourens, H.J., Corrales, M.G., Huls, G., Wiersma, V.R., Schuringa, J.J., Bremer, E., 2023a. Signal regulatory protein beta 2 is a novel positive regulator of innate anticancer immunity. *Front. Immunol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1287256>

Visser, N., Nelemans, L.C., He, Y., Lourens, H.J., Corrales, M.G., Huls, G., Wiersma, V.R., Schuringa, J.J., Bremer, E., 2023b. Signal regulatory protein beta 2 is a novel positive regulator of innate anticancer immunity. *Frontiers in Immunology* 14, 1287256. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1287256>

Visser, N., Nelemans, L.C., He, Y., Lourens, H.J., Corrales, M.G., Huls, G., Wiersma, V.R., Schuringa, J.J., Bremer, E., 2023c. Signal regulatory protein beta 2 is a novel positive regulator of innate anticancer immunity. *Front. Immunol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1287256>

W

Wallisch, P., Bourne, C., Pierre, S., Kurtz, K., Scheinberg, D., 2024. Interrogating the CD47-SIRP axis in chronic T cell stimulation for the translation of Graft-vs.-Host disease therapeutics. *The Journal of Immunology* 212, 0723_6276. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.212.suppl.0723.6276>

Wang, C., Tan, X., Tang, D., Gou, Y., Han, C., Ning, W., Lin, S., Zhang, W., Chen, M., Peng, D., Xue, Y., 2022. GPS-Uber: a hybrid-learning framework for prediction of general and E3-specific lysine ubiquitination sites. *Briefings in Bioinformatics* 23, bbab574. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab574>

Wang, C., Xu, H., Lin, S., Deng, W., Zhou, J., Zhang, Y., Shi, Y., Peng, D., Xue, Y., 2020. GPS 5.0: An Update on the Prediction of Kinase-specific Phosphorylation Sites in Proteins. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 18, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2020.01.001>

- Wang, D., Liu, D., Yuchi, J., He, F., Jiang, Y., Cai, S., Li, J., Xu, D., 2020. MusiteDeep: a deep-learning based webserver for protein post-translational modification site prediction and visualization. *Nucleic Acids Res* 48, W140–W146. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa275>
- Wang, D., Zeng, S., Xu, C., Qiu, W., Liang, Y., Joshi, T., Xu, D., 2017. MusiteDeep: a deep-learning framework for general and kinase-specific phosphorylation site prediction. *Bioinformatics* 33, 3909–3916. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx496>
- Wang, J., Wu, X., Liu, X., Xu, Y., 2025. CD47 Contributes to the Proliferation of Breast Cancer. *FBL* 30, 28210. <https://doi.org/10.31083/FBL28210>
- Wang, T., Hou, X., Wei, L., Deng, Y., Zhao, Z., Liang, C., Liao, W., 2024. Protéine S-nitrosylation sous stress abiotique : rôle et mécanisme. *Plant Physiology and Biochemistry* 207, 108329. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108329>
- Wang, X., Zhang, Z., Zhang, C., Meng, X., Shi, X., Qu, P., 2022. TransPhos: A Deep-Learning Model for General Phosphorylation Site Prediction Based on Transformer-Encoder Architecture. *Int J Mol Sci* 23, 4263. <https://doi.org/10.3390/ijms23084263>
- Wang, Zhidong, Fei, G., Xue, C., Xie, P., 2025. Recent advances in light-induced carbonylation utilizing carbon monoxide as a carbonyl source: Applications and prospective developments. *Molecular Catalysis* 574, 114859. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2025.114859>
- Wang, Zeyu, Yang, X., Gao, S., Liang, Y., Shi, X., 2025. GraphPhos: Predict Protein-Phosphorylation Sites Based on Graph Neural Networks. *Int J Mol Sci* 26, 941. <https://doi.org/10.3390/ijms26030941>
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T., 2018a. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research* 46, W296–W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T., 2018b. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res* 46, W296–W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- Wehr, N.B., Levine, R.L., 2013. Quantification of protein carbonylation. *Methods Mol Biol* 965, 265–281. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-239-1_18
- ## X
- Xie, Y., Luo, X., Li, Y., Chen, L., Ma, W., Huang, J., Cui, J., Zhao, Y., Xue, Y., Zuo, Z., Ren, J., 2018. DeepNitro: Prediction of Protein Nitration and Nitrosylation Sites by Deep Learning. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 16, 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.04.007>
- Xiong, L.-L., Xue, L.-L., Al-Hawwas, M., Huang, J., Niu, R.-Z., Tan, Y.-X., Xu, Y., Su, Y.-Y., Liu, J., Wang, T.-H., 2019. Single-nucleotide polymorphism screening and RNA sequencing of key messenger RNAs associated with neonatal hypoxic-ischemia brain damage. *Neural Regen Res* 15, 86–95. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.264469>
- Xu, C., Jin, G., Wu, H., Cui, W., Wang, Y.-H., Manne, R.K., Wang, G., Zhang, W., Zhang, X., Han, F., Cai, Z., Pan, B.-S., Hsu, C.-C., Liu, Y., Zhang, A., Long, J., Zou, H., Wang, S., Ma, X., Duan, J., Wang, B., Liu, W., Lan, H., Xiong, Q., Xue, G., Chen, Z., Xu, Z., Furth, M.E., Molina, S.H., Lu, Y., Xie, D., Bian, X.-W., Lin, H.-K., 2022a. SIRP γ -expressing cancer stem-like cells promote immune escape of lung cancer via Hippo signaling [WWW Document]. <https://doi.org/10.1172/JCI141797>
- Xu, C., Jin, G., Wu, H., Cui, W., Wang, Y.-H., Manne, R.K., Wang, G., Zhang, W., Zhang, X., Han, F., Cai, Z., Pan, B.-S., Hsu, C.-C., Liu, Y., Zhang, A., Long, J., Zou, H., Wang, S., Ma, X., Duan, J., Wang, B., Liu, W., Lan, H., Xiong, Q., Xue, G., Chen, Z., Xu, Z., Furth, M.E., Molina, S.H., Lu, Y., Xie, D., Bian, X.-W., Lin, H.-K., 2022b. SIRP γ -expressing cancer stem-like cells promote immune escape of lung cancer via Hippo signaling. *J Clin Invest* 132. <https://doi.org/10.1172/JCI141797>
- Xu, M., Wang, X., Tian, J., Chen, J., Wei, X., Li, W., 2022. A clamp-improved universal amplified system for ratiometric fluorescent detection of single-nucleotide polymorphisms coupled with a novel dual-emissive silver nanocluster. *Sensors and Actuators B: Chemical* 367, 132151. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132151>

Y

- Yang, H., Wang, M., Liu, X., Zhao, X.-M., Li, A., 2021. PhosIDN: an integrated deep neural network for improving protein phosphorylation site prediction by combining sequence and protein–protein interaction information. *Bioinformatics* 37, 4668–4676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab551>
- Yang, H., Xun, Y., You, H., 2023. The landscape overview of CD47-based immunotherapy for hematological malignancies. *Biomark Res* 11, 15. <https://doi.org/10.1186/s40364-023-00456-x>
- Yang, Y., Peng, X., Ying, P., Tian, J., Li, J., Ke, J., Zhu, Y., Gong, Y., Zou, D., Yang, N., Wang, X., Mei, S., Zhong, R., Gong, J., Chang, J., Miao, X., 2019. AWESOME: a database of SNPs that affect protein post-translational modifications. *Nucleic Acids Res* 47, D874–D880. <https://doi.org/10.1093/nar/gky821>
- Yazdanpanah, N., Yazdanpanah, M., Wang, Y., Forgetta, V., Pollak, M., Polychronakos, C., Richards, J.B., Manousaki, D., 2022. Clinically Relevant Circulating Protein Biomarkers for Type 1 Diabetes: Evidence From a Two-Sample Mendelian Randomization Study. *Diabetes Care* 45, 169–177. <https://doi.org/10.2337/dc21-1049>

Z

- Zhang, D., Xu, Z.-C., Su, W., Yang, Y.-H., Lv, H., Yang, H., Lin, H., 2021. iCarPS: a computational tool for identifying protein carbonylation sites by novel encoded features. *Bioinformatics* 37, 171–177. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa702>
- Zhang, Y., Skolnick, J., 2005. TM-align: a protein structure alignment algorithm based on the TM-score. *Nucleic Acids Res* 33, 2302–2309. <https://doi.org/10.1093/nar/gki524>
- Zhao, Q., Ma, J., Xie, F., Wang, Y., Zhang, Y., Li, H., Sun, Y., Wang, L., Guo, M., Han, K., 2021. Recent Advances in Predicting Protein S-Nitrosylation Sites. *Biomed Res Int* 2021, 5542224. <https://doi.org/10.1155/2021/5542224>
- Zheng, X., Turkowski, K., Mora, J., Brüne, B., Seeger, W., Weigert, A., Savai, R., 2017. Redirecting tumor-associated macrophages to become tumoricidal effectors as a novel strategy for cancer therapy. *Oncotarget* 8, 48436–48452. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17061>
- Zhu, X., Shen, J., Xu, Y., Yang, Z., Qi, Y., Chen, J., Hong, J., Wang, L., Qin, L., Liu, G., Huang, X., Hu, J., Zhao, W., Chen, Y., Jiang, X., Jiao, L., Chen, N., Qian, C., 2023. “Armed” CEA CAR-T with a SIRP γ -CD28 chimeric co-receptor to exhibit the enhanced antitumor activity in preclinical study of colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*. https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.e14530
- Zou, G., Zou, Y., Ma, C., Zhao, J., Li, L., 2021. Development of an experiment-split method for benchmarking the generalization of a PTM site predictor: Lysine methylome as an example. *PLoS Comput Biol* 17, e1009682. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009682>

Chapitre VII : Annexes

Annexes

Les séquences FASTA des protéines sauvage et mutées

SIRP γ sauvage

>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606
GN=SIRPG PE=1 SV=3

```
MPVPASWPHPPGPFLLLTLLLGLTEVAGEEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP
VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYCYC
KFRKGPENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSRDLTL
KWFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVLDVDPWDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRG
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPQSLQLTWSSENGNVCQRETASTL
TENKDGTYNWTWFLVNIQDQDDVVLTCQVKHDLAVSKRLALEVTVHVKDQSSDTP
GPASSLTALLLIIVLLGPIYVPWKQKT
```

SIRP γ SNPs : rs1383846293 (P175L)

>>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606
GN=SIRPG PE=1 SV=3

```
MPVPASWPHPPGPFLLLTLLLGLTEVAGEEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP
VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYCYC
KFRKGPENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSRDLTL
KWFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVLDVDPWDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRG
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPQSLQLTWSSENGNVCQRETASTL
TENKDGTYNWTWFLVNIQDQDDVVLTCQVKHDLAVSKRLALEVTVHVKDQSSDTPG
PASSLTALLLIIVLLGPIYVPWKQKT
```

SIRP γ SNPs : rs2091802407 (W182S)

>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606
GN=SIRPG PE=1 SV=3

```
MPVPASWPHPPGPFLLLTLLLGLTEVAGEEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP
VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTYCYC
KFRKGPENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSRDLTL
KSFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVLDVDPWDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRG
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPQSLQLTWSSENGNVCQRETASTL
TENKDGTYNWTWFLVNIQDQDDVVLTCQVKHDLAVSKRLALEVTVHVKDQSSDTP
GPASSLTALLLIIVLLGPIYVPWKQKT
```

 **SIRP γ SNPs : rs980811811 (W182C)**

>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606
GN=SIRPG PE=1 SV=3

MPVPASWPHPPGPFLLLTLLGLTEVAGEEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP
VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTY YCV
KFRKGPENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSPRDLT
KCFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVVLDPVDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRG
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRKFYPQSLQLTWSSENGNVCQRETASTL
TENKDGTYNWTSWFLVNISDQRDDVVLTCQVKHGDGQLAVSKRLALEVTVHQKDQSSDATPGP
ASSLTALLLI AVL LGPIYVPWKQKT

 **SIRP γ SNPs : rs6043409 (V263A)**

>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606
GN=SIRPG PE=1 SV=3

MPVPASWPHPPGPFLLLTLLGLTEVAGEEELQMIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP
VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISSITPADVGTY YCV
KFRKGPENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSPRDLT
KWFKNGNELSDFQTNVDPTGQSVAYSIRSTARVVLDPVDVRSQVICEVAHVTLQGDPLRG
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPMRAGNQNVTTCQVRKFYPQSLQLTWSSENGNVCQRETASTL
TENKDGTYNWTSWFLVNISDQRDDVVLTCQVKHGDGQLAVSKRLALEVTVHQKDQSSDATP
GPASSLTALLLI AVL LGPIYVPWKQKT