

Studi di dinamica molecolare sulla fosfatasi oncogenica SHP2: caratterizzazione della transizione allosterica e progettazione di inibitori delle sue interazioni proteina-proteina

La fosfatasi SHP2, codificata dal gene *PTPN11*, media la trasduzione del segnale a valle di vari recettori tirosin chinasi, è coinvolta nella regolazione di proliferazione sopravvivenza, differenziazione e migrazione cellulare e svolge quindi un ruolo fondamentale nel cancro. Mutazioni somatiche in *PTPN11* causano neoplasie ematologiche e tumori solidi. Mutazioni germinali in *PTPN11* si verificano nel ~50% degli individui con sindrome di Noonan, un disturbo dello sviluppo legato anche a malattie ematologiche pediatriche. SHP2 è necessaria per la sopravvivenza di molte cellule tumorali, è un nodo centrale nella resistenza intrinseca e acquisita ai farmaci antitumorali mirati ed è un effettore chiave a valle dei checkpoint immunitari, che possono essere sfruttati dalle cellule tumorali per evitare le difese immunitarie. Per tutti questi motivi, SHP2 è un bersaglio molecolare chiave per le terapie oncologiche e l'immunoterapia.

Nell'ambito di progetti finanziati da PNRR (Centro nazionale di ricerca per l'HPC, i big data e il calcolo quantistico), AIRC e MUR, il nostro gruppo sta utilizzando diversi approcci simulativi di dinamica molecolare classica per comprendere il meccanismo allosterico che controlla l'attività di SHP2 e per progettare nuovi farmaci mirati a inibire le interazioni proteina-proteina di SHP2. Stiamo cercando degli studenti di Bioinformatica entusiasti e motivati, per coinvolgerli in questa entusiasmante attività ricerca durante il loro tirocinio.

Controllo allosterico dell'attività di SHP2

La struttura di SHP2 comprende tre domini: il dominio catalitico PTP e due domini di omologia a Src, di tipo 2 (SH2), chiamati N-SH2 e C-SH2, che mediano l'associazione di SHP2 ai suoi partner di legame. In condizioni basali, il dominio N-SH2 blocca il sito attivo del dominio PTP, e la proteina è inattiva. L'associazione ad altre proteine attraverso i domini SH2 stabilizza una conformazione diversa, in cui il sito attivo è accessibile e SHP2 è attiva. Il meccanismo di questa transizione e la sua regolazione da parte dell'associazione di ligandi ai domini SH2 sono ancora poco chiari. Simulazioni di dinamica molecolare possono chiarire tutti i dettagli di questo processo, che non sono accessibili sperimentalmente. Tuttavia, le elevate dimensioni della proteina e la scala temporale in cui avviene la transizione allosterica costituiscono un problema formidabile per i metodi computazionali. Per questo motivo, stiamo impiegando un approccio multiscala, sfruttando diversi metodi all'avanguardia (all atoms, coarse-grained, replica exchange, metadynamics, etc.) per caratterizzare completamente la transizione allosterica.

Inibizione delle interazioni proteina-proteina di SHP2 come strategia farmacologica

Interazioni anomale di SHP2 con i suoi partner di legame sono la principale conseguenza delle mutazioni di *PTPN11* che portano alla patogenesi. Di recente, abbiamo sviluppato fosfopeptidomimetici non defosforilabili (NDP) che inibiscono le interazioni proteina-proteina di SHP2, piuttosto che la sua attività catalitica. Queste molecole, che sono oggetto di un brevetto internazionale, forniscono una nuova via per le terapie mirate a SHP2 e offrono un nuovo strumento per indagare il ruolo delle interazioni proteina-proteina nella funzione di SHP2. Attualmente stiamo impiegando simulazioni di dinamica molecolare di complessi SH2/fosfopeptide e calcoli di energia libera (calcoli di potenziale di forza media, con umbrella sampling) per progettare nuovi analoghi con attività e selettività ottimizzate.

Contatti: Prof. Lorenzo Stella (stella@uniroma2.it), Prof. Gianfranco Bocchinfuso (gianfranco.bocchinfuso@uniroma2.it), Dr. Paolo Calligari (paolo.calligari@uniroma2.it).

Chimica Fisica, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Settore F, livello 1.

Molecular dynamics studies of the oncogenic phosphatase SHP2: characterization of the allosteric transition and design of peptide-based inhibitors of its protein-protein interactions

SHP2, encoded by the *PTPN11* gene, mediates signal transduction downstream of various receptor tyrosine kinases (RTKs) and is involved in the regulation of cell proliferation, survival, differentiation and migration. Therefore, this phosphatase plays a pivotal role in cancer. Somatic gain of function mutations in *PTPN11* cause hematological malignancies and solid tumors. Germline missense mutations in *PTPN11* occur in ~50% of individuals with Noonan syndrome, a developmental disorder prone to pediatric hematological diseases. SHP2 is required for survival of RTK-driven cancer cells, is a central node in intrinsic and acquired resistance to targeted cancer drugs and is a key downstream effector of immune checkpoint pathways, mediated by PD-1 and SIRP α /CD47, which can be hijacked by cancer cells to evade antitumor defenses. All these findings clearly indicate SHP2 as a central molecular target for cancer therapy and immunotherapy.

Within the framework of projects funded by PNRR (National research center for HPC, big data and quantum computing), AIRC, MUR, our group is using multiple classical molecular dynamics simulative approaches to understand the allosteric mechanism controlling SHP2 activity, and to design peptide-based drug candidates aimed at inhibiting SHP2's protein-protein interactions. We are looking for enthusiastic candidates to participate in this exciting research during their traineeship.

Allosteric control of SHP2 activity

The structure of SHP2 includes three domains: the catalytic PTP domain and two Src homology 2 (SH2) domains, called N-SH2 and C-SH2, that mediate the association of SHP2 to its binding partners. Under basal conditions, the N-SH2 domain blocks the active site of the PTP domain, and the protein is inactive. Association to other proteins through the SH2 domains stabilizes a different conformation, in which the active site is accessible and SHP2 is active. The mechanism of this transition, and how it is regulated by ligand binding to the SH2 domains is debated. The size of the protein, and the timescale of the process provide a formidable problem for computational methods. For this reason, we are employing a multiscale approach, exploiting all atoms, coarse-grained and enhanced sampling approaches, to fully characterize the allosteric transition.

Inhibition of SHP2 protein-protein interactions as a pharmacological target

Abnormal interaction of SHP2 with its binding partners is the major consequence of pathogenic mutations, leading to pathway hyperactivation, and pathogenesis. Recently, we developed non dephosphorylatable phosphopeptidomimetics (NDPs) targeting SHP2 protein-protein interactions, rather than its catalytic activity. These

molecules, which are the object of an international patent, provide a novel route for SHP2-targeted therapies, and offer a new tool to investigate the role of protein-protein interactions in the function of SHP2. We are currently employing molecular dynamics simulations of SH2 domain/phosphopeptide complexes, and free energy calculations (potential of mean force calculations, with umbrella sampling) to design new analogues with improved activity and selectivity.

Contacts: Prof. Lorenzo Stella (stella@uniroma2.it), Prof. Gianfranco Bocchinfuso (gianfranco.bocchinfuso@uniroma2.it), Dr. Paolo Calligari (paolo.calligari@uniroma2.it)

Physical Chemistry, Department of Chemical Science and Technologies.

