

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la
Terre et de l'Univers

Département Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

SALMI KARIMA

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Thème

*Analyse in silico des SNPs a conséquences fonctionnelles
sur CD172g*

Soutenu le 23/07/2024, devant le jury composé de:

Président	ARIBI Mourad	(Professeur)	Abou Bakr Belkaid
Encadrant	Hadjidj Zeyneb	(MCB)	Abou Bakr Belkaid
Examineur	Ysmail Dahlouk Lamia	(MCB)	Université de Boumerdes
Examineur	Dahou Sara	(PhD.Immunologie)	Abou Bakr Belkaid

Année universitaire 2023/2024

Résumé

Le SIRP γ est un membre de famille des SIRP qui se lie avec le CD47. L'interaction SIRP γ -CD47 favorise une adhésion cellule-cellule et prend en charge le contact cellule T-APC améliorant la présentation antigénique, l'activation et la prolifération des lymphocytes T. D'autre part cette interaction peut transmettre un signal d'échappement au système immunitaire et favorise la libération des cytokines responsable de l'inhibition de la phagocytose et la promotion tumorigénèse.

L'objectif de cette étude était de prédire, à l'aide d'une approche *in silico*, les nsSNP qui ont un effet délétère sur la protéine SIRP γ .

L'analyse *in silico* des nsSNP a été réalisée grâce à des outils bio-informatiques accessibles en ligne. Nous avons analysé 448 nsSNP dans le gène SIRPG pour déterminer leurs effets sur la stabilité et la fonction de la protéine.

Cette étude nous a permis de sélectionner 3 nsSNP à haut risque pour le gène SIRPG.

Mots clés : Cancer ,SIRPG ,CD47,nsSNP,analyse *in silico*

Abstract

SIRP γ is a member of the SIRP family that binds with CD47. The SIRP γ -CD47 interaction promotes cell-cell adhesion and supports T cell-APC contact improving antigen presentation, activation and proliferation of T lymphocytes. On the other hand, this interaction can transmit an escape signal to the immune system and promotes the release of cytokines responsible for the inhibition of phagocytosis and the promotion of tumorigenesis.

The objective of this study was to predict by using *in silico* approaches the nsSNPs which have a deleterious effect on the SIRP γ protein.

The *in silico* analysis of nsSNPs was carried out using bioinformatics tools accessible online. We analyzed 448 nsSNPs in the SIRPG gene to determine their effects on protein stability and function.

This study allowed us to select 3 high-risk nsSNPs for the SIRPG gene.

Keywords: Cancer, SIRPG, CD47, nsSNP, *in silico* analysis

ملخص

SIRP γ هو عضو في عائلة SIRP التي ترتبط بـ CD47. يعزز التفاعل SIRP γ -CD47 التصاق الخلايا الخلوية ويدعم الاتصال بالخلايا التائية-APC مما يحسن عرض المستضد وتنشيط وانتشار الخلايا الليمفاوية التائية. من ناحية أخرى، يمكن لهذا التفاعل أن ينقل إشارة هروب إلى الجهاز المناعي ويعزز إطلاق السيتوكينات المسؤولة عن تثبيط البلعمة وتعزيز تكوين الأورام.

كان الهدف من هذه الدراسة هو التنبؤ بالـ nsSNPs التي لها تأثير ممرض في جين SIRPG بطريقة السيليكو. تم إجراء التحليل السيليكو لـ nsSNPs باستخدام أدوات المعلوماتية الحيوية التي يمكن الوصول إليها عبر الإنترنت. قمنا بتحليل 448 nsSNPs في جين SIRPG لتحديد آثارها على استقرار البروتين ووظيفته.

سمحت لنا هذه الدراسة باختيار 3 nsSNPs عالية الخطورة لجين SIRPG.

الكلمات المفتاحية: السرطان، SIRPG، CD47، nsSNP، *In silico* analysis

Remerciements :

Au début de cette thèse, Je voudrai d'abord remercier ALLAH, qui me donné la force et la patience de faire ce modeste travail, et qui me a guidé sur le bon chemin.

*Un grand merci à mon encadrante **Dr. HADJIDJ Zeyneb**, d'avoir dirigé mes travaux avec disponibilité sans faiblesse, une infinie bienveillance, pour sa profonde gentillesse et ces précieux conseils. Je remercie **Pr. Mourad ARIBI**, Directeur du Laboratoire **BIOMOLIM**, UABT (Faculté SNV/STU) de m'avoir permis de travailler dans Laboratoire BIOMOLIM.*

*Je voudrai remercier les membres de mes jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail et de m'avoir consacré du temps, en l'occurrence **Pr Aribi Mourad**, **Dr Ysmail Dahlouk Lamia**, **Dr Dahou Sara**.*

Dédicace

*Grace à dieu tout puissant et en signe de reconnaissance à tous les sacrifices consentis pour ma réussite et la volonté pour mener à bien ce modeste travail qui me dédie : Aux personnes les plus chères à mon cœur et qui ont attendu avec patience les fruits de leur bonne éducation, à mes chers parents. A mon cher frère Mohammed et ma chère sœur Amel qu'on admire tant pour leurs parcours de formation que pour leurs réussites professionnelles qui me soutenus et encouragés. A tous mes amis (es) qui ont toujours été là pour me soutenir et me booster aller de l'avant .À toutes la famille de **SALMI**. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à rendre ce projet possible.*

Liste Des Abréviations :

- ADN** :Acide désoxyribonucléique.
- APC** :Antigen-presenting cell.
- ARNm** :Acide ribonucléique messenger.
- CSLCs** :Cancer stem-like cells.
- CMH 1** :Complexe majeur d'histocompatibilité de classe 1.
- CD 172g** :Cluster de différenciation 172gamma.
- CD56** :Cluster de différenciation56.
- CD47** :Cluster de différenciation47.
- CD19+** : Cluster de différenciation19.
- DAP12** :DNAX activation protein of 12 kd.
- dbSNP** :Single nucléotide polymorphimedatabase.
- DHPLC** :Denaturing high performance liquide chromatographie.
- FS γ** :Ferritine-SIRPy
- GM-CSF** :Granulocyte-Macrophage colony stimulating factor.
- GWAS** :Genome-wide association studies.
- GWLS** :Genome-wide linkage scans.
- ITAM** :Immunoreceptor tyrosine based activation motif.
- IgSF** :Immunoglobulin superfamily.
- IFN- γ** :Interféron gamma.
- IL-1 β** :Interleukine 1 beta.
- LUAD** :Lung adenocarcinoma.
- MST1** :Macrophage stimulating 1.
- NCBI** :National center for biotechnologie information.
- NFAT** :Nuclear factor of activated T.
- NK** :Natural killer.
- nSNP** :Non synonyme single nucléotide polymorphisme
- PP2A** :Proteine phosphatase2.

PMut :Pathogenic mutation prediction.

SNP :Single nucléotide polymorphisme.

SIRP α :Signal regulation proteine alpha.

SIRP γ : Signal regulation proteine gamma.

SIFT :Sorting intolerant from tolerant.

TCR :T cell receptor

YAP :Yes-associated protein.

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 :La localisation de gène SIRP γ amma.

Figure 1.2 :Structure de la protéine SIRP γ .

Figure 1.3 :Comparaison de la structure de SIRP α et SIRP γ

Figure 1.4 : Interactions of members of the signal-regulatory protein family

Figure 1.5 : L'inhibition de la croissance tumorale in vivo par l'anticorps neutralisant SIRP γ

Figure 1.6 :FS γ V and CpG potentiate antitumor immunity through efficient cancer cells engulfment by phagocytes.

Figure 1.7:Single nucléotide polymorphisme

Figure 2.1: Study design.

Figure 2.2:Recherche des nsSNP sur la base de donnée DbSNP.

Figure 2.3:Recherche des nsSNP sur la base de donnée DbSNP.

Figure 2.4:Recherche sur laBase de donnée UniProt.

Figure 2.5: CD172g dansla base de donnée UniProt.

Figure 2.6:Analyse de la séquence protéique par SIFT.

Figure 2.7: Résultats de l'analyse par SIFT.

Figure 2.8:Analyse par Polyphen2

Figure 2.9: Résultats d'analyse par Polyphen2

Figure 2.10: Analyse par Provean .

Figure 2.11: Résultats d'analyse par Provean.

Figure 2.12: Analyse par Panther.

Figure 2.13: Résultats d'analyse par Panther .

Figure 2.14: Recherche sur la base de donnée Interpro.

Figure 2.15: Résultats de la recherche sur la base de donnée Interpro.

Figure 2.16:Recherche sur Pmut.

Figure 2.17:Résultats de la recherche sur Pmut.

Figure 2.18:Recherche sur Imutant-2.0.

Figure 2.19 :Résultats de la recherche sur Imutant-2.0

Figure 2.20:Recherche sur le serveur Consurf .

Figure 2.21 :Résultats obtenus par le serveur Consurf.

Figure 3.1 :Distribution des nsSNPs dans le gène SIRP γ basée sur les effets estimés prédits par quatre outils fonctionnels.

Figure 3.2 :Distribution des nsSNPs dans le gène SIRP γ basée sur les effets estimés prédits par quatre outils fonctionnels.

Figure 3.3 :Résultats final des analyses.

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1.1 : Signal-regulatory protein (SIRP)-family members and their ligands.

Tableau 3.2 : Résultats des nsSNPs à haut risques identifiés par quatre méthodes *in silico* pour le SIRP γ .

Tableau 3.3 : Identification de divers domaines dans le SIRP γ .

Tableau 3.4 : Prédiction des nsSNPs à haut risque dans la protéine SIRP γ par PMut, I-Mutant 2.0 et ConSurf.

Table des matières

Résumé :	II
Abstarct:	III
ملخص:	IV
Remerciment :	V
Dédicace :	VI
Liste des Abréviations :	VII
Liste des figures :	IX
Liste des tableaux :	XI
Introduction :	2
I .Revue de la littérature	5
1. SIRP γ :.....	5
1.1 Généralité :.....	5
1.2 Gène et Structure de SIRP γ :	6
1.3 Comparaison entre SIRP γ et SIRP a :	7
1.4 Expression de SIRP γ :	8
1.5 Interaction SIRP γ /CD47:	8
1.6 SIRP γ dans la réponse immunitaire :	9
1.6.1 Rôle de SIRP γ dans réponce innée :	9
1.6.2 Effet de SIRP γ sur les lymphocytes T :	10
1.6.3 La polarisation de SIRP γ a la synapse immunitaire :	10
1.7 SIRP γ et risque de diabète de type 1 :.....	11
1.8 Implication de SIRP γ dans le cancer :	11
1.8.1 L'immunité anticancereuse :	11
1.8.2 Effet de SIRP γ sur le cancer de poumon :	11
1.9 L'immunothérapie:	13
1.9.1La thérapie anticancereuse:	13

1.9.2Cible thérapeutique par un nanocage antagoniste Ferritine-SIRPy (FS γ) :.....	13
2. Single nucléotide polymorphisme :	14
2.1 Généralité :	14
2.2 La découverte de SNPs :	15
2.3 L'intérêt de l'étude des SNPs :	15
2.4 Les types de SNPs:	16
2.5 Etude d'association a l'échelle du génome (GWAS):	17
3 .Analyse <i>in silico</i> des SNPs :	17
II. Matériels et Méthodes :	19
2.1. Recherche des nsSNPs et la séquence protéique:	19
2.2. Prédiction des nsSNPs délétères:	21
2.3. L'identification de nsSNPsappartenant aux domaines conservés.	27
2.4. Analyse de l'effet des nsSNPs sur la stabilité des proteins:	28
III. Résultats et interpretation:	34
3.1 Identification des nsSNPsdélétères.....	34
3.2 Identification des nsSNPs appartenant aux domaines conservés de SIRPy	36
3.3 Prédiction des impacts fonctionnels des nsSNPs par PMut	37
3.4Détermination de la stabilité structurelle de la protéine par I-Mutant2.0. ..	37
3.5. Analyse de la conservation évolutive par ConSurf ..	38
3.6 .Récapitulatifs.....	40
IV. Discussion	44
V. Conclusion	47
VI. Bibliographies	48
VII. Annex	58

INTRODUCTION

Introduction :

Signal Regulatory Protein γ (SIRP γ) également appelé SIRP β 2,CD 172g ou bA77C3.1 est un récepteur de nature glycoprotéique qui fait partie de la famille des SIRP(**Barclay et Brown 2006**).SIRP γ est le seul membre de la famille SIRP exprimé par les lymphocytes T, les cellules tueuses naturelles (NK) CD56bright, toutes les cellules NK activées et un petit sous-ensemble de lymphocytes B CD19+. SIRP γ codé par SIRPGse lie avec le CD47, mais avec une affinité 10 fois inférieure à celle de SIRP α et ne possède qu'une queue cytoplasmique de quatre acides aminés(**Brooke et al. 2004**).En effet le SIRP γ ne délivre pas de signal d'activation ou d'inhibition car il n'a pas de domaine cytoplasmique avec un motifs ou un résidu transmembranaire permettant l'association avec DAP12 mais l'expression ectopique de SIRP γ offre une opportunité aux lymphocytes T de s'engager avec le CD47, augmente le contact cellule-cellule(**Z.-H. Wu et al. 2022**)et facilite la différenciation des macrophages et des granulocytes(**Visser et al. 2023**). SIRP γ est aussi impliqué dans l'apoptose et la migration trans-endothéliale des cellules T et joue le rôle d'une molécule co-stimulatrice accessoire des lymphocytes T(**Piccio et al. 2005; Stefanidakis et al. 2008; Brooke et al. 2004**).

Les mutations au niveau de SIRP γ affectent l'adhésion cellulaire, l'expression de CD47 et peuvent être responsable de certaine pathologie (**Smith et al. 2022**).Les chercheurs ont montré que le SIRP γ est régulé positivement dans 15 des 36 types de cancer.La surexpression de SIRP γ pourrait favoriser la croissance tumorale et les métastases in vivo et donne un mauvais pronostic en matière de survie. Cette protéine régulatrice permet aux cellules cancéreuses de transmettre un signal d'échappement au système immunitaire grace a des protéine qui due a l'activation de voie de signalisation qui conduise a la libération des cytokines par les cellules cancéreuses qui favorise l'inhibition de la phagocytose et la promotion tumorigénèse(**Xu et al. 2022**).

Un polymorphisme nucléotidique unique (SNP) est un changement de base dans l'ADN d'un seul nucléotide dans un site bien précis qui peut être causé par une mutation(**Azizzadeh-Roodpish, Garzon, et Mainali 2021**).Seuls les SNPs non synonymes (nsSNPs) appelés aussi variants faux-sens, sont particulièrement importants car ils entraînent des modifications dans la séquence des résidus d'acides aminés traduits. Les nsSNPs possèdent un rôle important dans la diversité fonctionnelle des protéines humaines et sont associés à de nombreuses maladies. Les nsSNPs peuvent affecter la fonction des protéines en diminuant la solubilité des protéines ou en déstabilisant leur structure,et peuvent également influencer la régulation de transcription des

gènes et la traduction (**Dabhi et Mistry 2014**). Les approches *in silico* c'est toute expérimentation réalisée par ordinateur et est lié aux termes biologiques. Ils impliquent l'acquisition des connaissances grâce à la simulation informatique. Ils représentent l'outil préalable pour analyser l'effet des nSNP sur la stabilité et la fonction des protéines car les techniques expérimentales pour montrer leur effet sont très onéreuses, laborieuses et prennent beaucoup de temps (**Garcia, de Andrade, et Palmero 2022; Ekins, Mestres, et Testa 2007; Venkata Subbiah, Ramesh Babu, et Subbiah 2020**).

L'objectif de notre étude est de réaliser une analyse *in silico* des nSNPs à conséquences fonctionnelles sur le CD172g, déterminer les SNPs qui ont un effet sur la stabilité de la protéine et qui affecte leur conservation.

Le but de notre étude est d'identifier des SNPs à conséquence fonctionnelles sur la protéine CD172G.

Chapitre I:Revue de la littérature

I.Revue de la littérature :

1/(SIRP γ) :

1.1 Généralité :

Signal Regulatory Protein γ (SIRP γ)(Sinha et al. 2019)est un membre de la famille des SIRPs qui comprend également SIRP α , SIRP β (SIRP β 1 et soluble sirp δ)(Brooke et al. 2004; Van Beek et al. 2005).C'est le seul membre de la famille des SIRPs exprimé par les lymphocytes T, cellules natural killer (NK) CD56bright et toutes les cellules NK activées.Il est impliqué dans le contact entre les lymphocytes et les cellules présentatrices d'antigène (Nettleship et al. 2013), et dans la régulation négative des processus de signalisation couplés au récepteur tyrosine kinase(Smith et al. 2022).Le SIRP γ a été décrit récemment(Ichigotani et al. 2000)peut être parce que le gène SIRP γ est présent uniquement chez l'homme et les primates(Brooke et al. 2004). Le SIRP γ interagit avec CD47 exactement comme le SIRP α (Ichigotani et al. 2000; Piccio et al. 2005), mais le SIRP α -CD47 possède une l'affinité 10 fois plus forte que celle de SIRP γ -CD47 (Kd 2 μ M versus Kd 23 μ M) (Stefanidakis et al. 2008). Les transcrits SIRP γ sont exprimées de manière différente dans de nombreux tissus, y compris le cerveau, les poumons et le placenta, et sont plus élevé dans le foie (Piccio et al. 2005).

Family member	Other names	NCBI Entrez Gene ID	Expression	Extracellular ligands	Function
SIRP α	CD172A, SHPS1, P84, MYD-1, BIT, PTPNS1	140885 (human), 25528 (rat), 19261 (mouse), 327666 (bovine)	Myeloid cells, neurons	CD47, SP-A, SP-D	Inhibitory
SIRP β	CD172b	10326 (human), 310212 (rat), 381484 (mouse)	Macrophages, neutrophils	ND	Activating
SIRP γ	CD172g, SIRP β 2	55423 (human)	Lymphocytes, natural killer cells	CD47	No signal

Table 1.1 : Signal-regulatory protein (SIRP)-family members and their ligands (Barclay et Brown 2006).

1.2 Gène et Structure de SIRP γ :

Le gène de SIRPG est situé dans la position p13 du chromosome humain n°20 et il possède six exons (Brooke et al. 2004; Van Beek et al. 2005) (Figure 1.1). SIRP γ est une glycoprotéine transmembranaire qui contient des domaines extracellulaires de type immunoglobuline. Elle appartient à la famille SIRP (SIRP α , SIRP β (SIRP1 et soluble sirp δ) qui contient une immunoglobuline extracellulaire homologue (Ig) (D1-D3) mais les domaines transmembranaires et intra cytoplasmiques sont différentes ce qui donne une transduction de signal distincte (Barclay et Brown 2006; Seiffert et al. 2001). La protéine est composée de 354 acides aminés et partage environ 75 % d'identité de séquence avec SIRP β 1 (Ichigotani et al. 2000). Le SIRP γ a une queue intra cytoplasmique très courte de 4 acides aminés (aa) qui n'ont pas la capacité de transduire des signaux car il leur manque une chaîne latérale d'acide aminé chargée dans la région transmembranaire et ne s'associent donc pas à DAP12. Le DAP12 représente une protéine adaptatrice dimérique qui contient un motif d'activation à base de tyrosine des immuno-récepteurs (ITAM) et peut s'associer à SIRP β 1 (SIRP α) à l'aide d'une chaîne latérale basique dans sa région transmembranaire qui active la transmission des signaux et assure la médiation de la signalisation cellulaire (Barclay et Brown 2006).

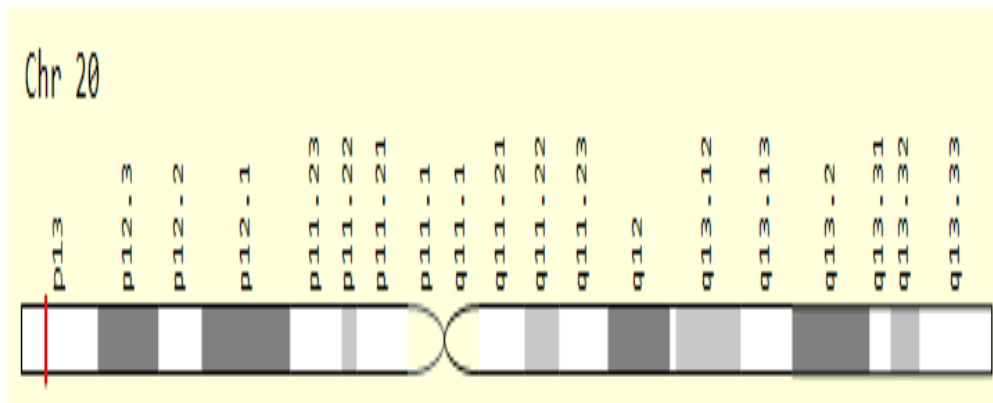


Figure 1.1 : La localisation de gène SIRP γ (GeneCards).

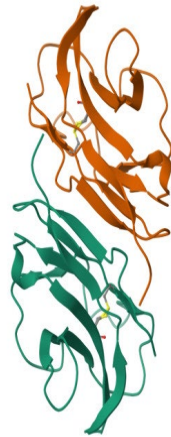


Figure 1.2 :Structure de la protéine SIRP γ (PDB)(<https://doi.org/10.2210/pdb2JJW/pdb>)

1.3. Comparaison entre SIRP γ et SIRP α :

Les chercheurs ont montré que il y'a une similarité structurelle entre SIRP γ et SIRP α dans les domaines individuels (d1-d3), la différence est au niveau de la longueur relative des brins C' et D dans les domaines d3 qui sont courts dans le SIRP γ et long dans le SIRP α .Cette différence ne change pas la topologie global des domaines d3. Il existe une différence significative dans l'orientation relative des trois domaines entre les deux structures de SIRP. Par conséquent lors de la superposition de d1 de SIRP γ sur le d1 de SIRP α les domaines d2-d3 des deux protéines subissent une rotation de 66° l'un par rapport à l'autre .Grace a la cristallisation les chercheur suggèrent qu'il existe une certaine flexibilité dans la région inter-domaines d1-d2(Nettleship et al. 2013).

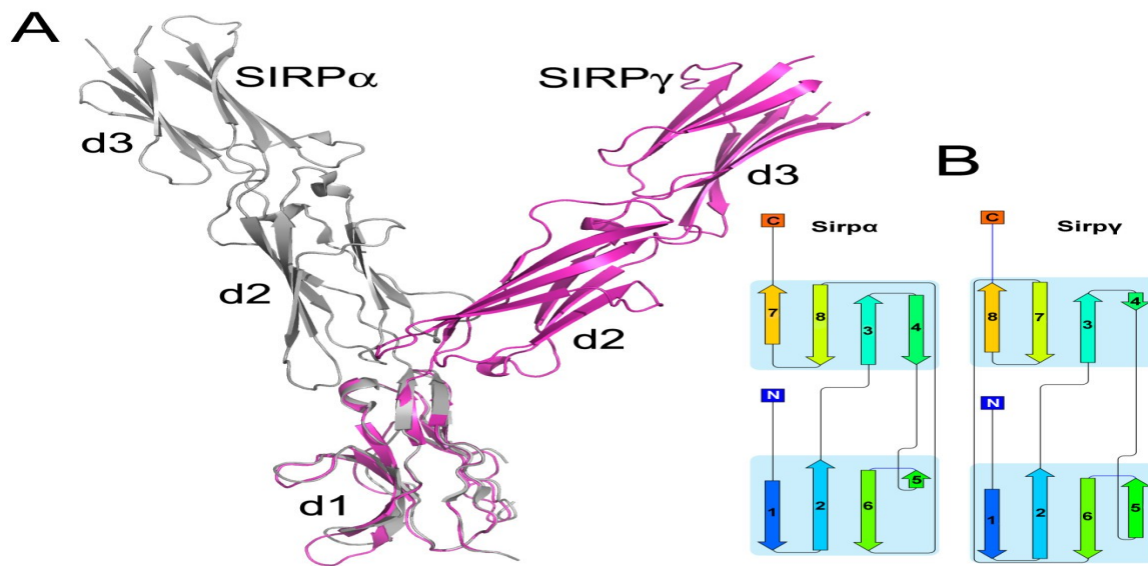


Figure 1.3: Comparaison de la structure de SIRP α et SIRP γ . (A) Superposition de SIRP α (coloré en gris) SIRP γ (coloré en magenta) et (B) Dessin animé de la structure secondaire des domaines d3 de SIRP α et SIRP γ (Nettleship et al. 2013).

1.4 Expression de SIRP γ :

L'expression de SIRP γ se diffère selon les populations des cellules T. Il est fortement exprimé par les Treg et les lymphocytes T naïfs (CD3+CD45RA+CD28+) et à mémoire centrale (CM, CD3+CD45RA-CD28+) et il est faiblement exprimé par les lymphocytes T mémoire (EM, CD3+CD45RA-CD28) (Dehmani et al. 2021).

1.5 Interaction SIRP γ /CD47 :

CD47 est une protéine qui possède cinq régions transmembranaires et une seule IgSF dans le domaine extracellulaire. Il se lie de manière latérale à diverses intégrines, ce qui assure la régulation de l'adhésion et de la migration cellulaire (Kaur, Isenberg, et Roberts 2021). SIRP γ se lie au CD47 mais avec une moindre affinité que SIRP α (Barclay et Brown 2006). Des études montrent que l'interaction entre le CD47 exprimé par APC et SIRP γ exprimé par les lymphocytes T augmente l'adhésion cellule-cellule.

Le SIRP γ n'a pas de domaine cytoplasmique avec un motif ou un résidu transmembranaire permettant l'association avec DAP12 responsable de signaux d'activation. L'interaction SIRP γ -CD47 induit une adhésion cellule-cellule et prend en charge le contact cellule T-APC, améliorant la présentation antigénique, la prolifération des lymphocytes T et la sécrétion des cytokines. Il faut noter que l'engagement du CD47 avec certains anticorps entraîne

également une augmentation d'activation des lymphocytes T(Reinhold et al. 1997; Ticchioni et al. 1997) et que la fonction de costimulation de CD47 dépend de sa capacité à induire la propagation cellulaire(Okazawa et al. 2005).Ainsi, SIRP γ peut faciliter l'activation des lymphocytes T. Il est également possible que l'interaction SIRP γ -CD47 favorise d'autres fonctions des cellules T et des cellules NK dépendantes de l'adhésion cellule-cellule, telle que l'attachement aux cellules endothéliales et transmigration dans les ganglions lymphatiques ou les tissus des organes lymphoïdes périphériques(Fukunaga et al. 2004; Liu et al. 2002). D'autre part,des études récentes signale que le blocage du contact SIRP γ -CD47inhibe la sécrétion d'IFN- γ dans des tests de coculture des lymphocytes T avec des cellules tumorales.Il a été aussi rapporté que cette interaction est très importante dans la migration tissulaire et Le blocage de l'interaction SIRP γ -CD47 altère la sécrétion d'IFN- γ dans les cellules T activées de manière chronique(Dehmani et al. 2021) .

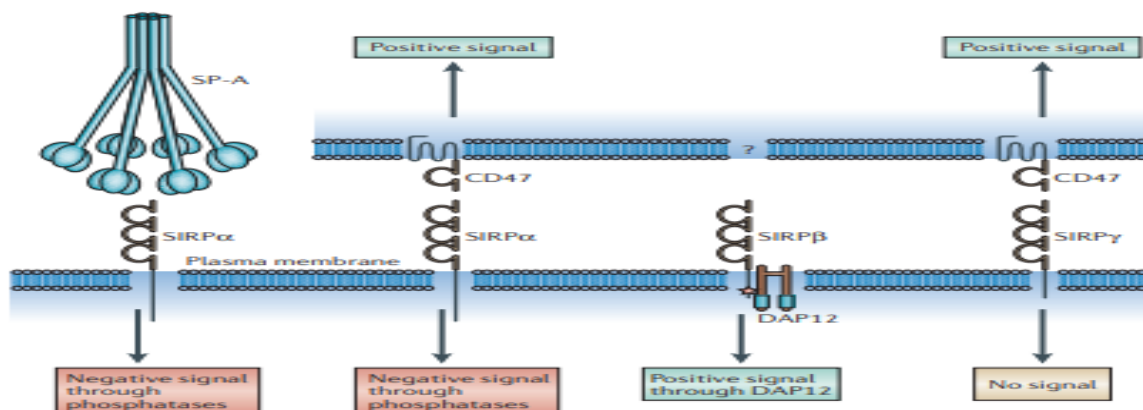


Figure 1.4 : Interactions of members of the signal-regulatory protein family(Barclay et Brown 2006).

1.6 SIRP γ dans la réponse immunitaire:

1.6.1 Rôle de SIRP γ dans réponse innée:

L'interaction du CD47 avec SIRP γ médie l'adhésion cellule-cellule et soutient le contact des cellules APC-T, améliorant la présentation de l'Ag, la prolifération des cellules T qui en résulte et la sécrétion de cytokines(Piccio et al. 2005). Des études récentes montrent que le

SIRP γ est exprimé par les macrophages et les granulocytes dans les conditions physiologiques normales et que l'expression endogène de SIRP γ sur les polynucléaires neutrophiles (PMNs) était liée à la trogocytose des cellules cancéreuses. L'expression ectopique de SIRP γ dans la lignée cellulaires monocyttaire (THP1) et dans les macrophages augmente l'adhésion, la différenciation et la phagocytose des cellules cancéreuses (Van Beek et al. 2005). D'autre part, de nouvelles expériences montrent que le SIRP γ recrute la protéine adaptatrice d'activation immunitaire DAP12 pour réguler positivement l'immunité innée. Donc l'expression ectopique de SIRP γ sur THP1 améliore l'expression de CMH 1 et améliore l'activation des cellules T par l'augmentation de l'activation du facteur nucléaire Jurkat des cellules T activées (NFAT) et améliore la régulation positive des marqueurs d'activations CD69 et CD25 et la sécrétion de IFN- γ par les cellules T primaires. Grâce à ces résultats on peut considérer le SIRP γ comme un nouveau régulateur positif de la réponse innée de l'immunothérapie à cellules T (Visser et al. 2023).

1.6.2 Effet de SIRP γ sur les lymphocytes T :

Les cellules T sont des cellules de l'immunité adaptative qui subissent une maturation dans le thymus pour protéger l'organisme et éliminer efficacement les agents pathogènes en reconnaissant le complexe CMH-Antigène via leur TCR. Des études montrent que l'expression de SIRP γ varie en fonction de la différenciation et de la stimulation des lymphocytes T. Des chercheurs ont évalué l'expression de SIRP γ sur les cellules T lors de la stimulation polyclonale et ont trouvé que il y'a une corrélation positive entre le SIRP γ et la prolifération des lymphocytes T. Les cellules T prolifèrent rapidement et significativement grâce à la régulation positive de SIRP γ (Dehmani et al. 2021).

1.6.3 La polarisation de SIRP γ à la synapse immunitaire:

L'interaction entre SIRP γ -CD47 améliore la costimulation des cellules T médiée par le super-antigène (Staphylococcus enterotoxin). Les chercheurs ont suggéré que le SIRP γ pourrait être localisé au niveau de la synapse immunitaire (TCR-CMH). Il ont été aussi observé le blocage des interactions SIRP γ -CD47 par un anticorps monoclonal (KWAR23) n'affecte la polarisation SIRP γ au niveau du synapse immunologique, ce qui montre que la réorganisation spatiale du SIRP γ dans ce synapse ne dépend pas de son interaction avec CD47 (Dehmani et al. 2021).

1.7 SIRPG et risque de diabète de type 1 :

Le SIRPG, qui code pour le SIRP γ , contient une variante codante non synonyme c'est le rs6043409. Cette variation est associée de manière significative au risque de diabète de type 1. Sachant que SIRPG possède plusieurs isoformes de transcription grâce a un épissage alternatif,toutes codant pour des protéines fonctionnelles, des expériences montrent que le rs6043409 entraîne des changements significatifs dans la distribution des isoformes de transcription de SIRPG. C'est une substitution G-to-A qui entraîne le remplacement de l'alanine par la valine en position 263 dans l'exon 4 de SIRPG. Les résultats suggèrent que SIRPG pourrait être un gène causal du risque de diabète de type 1 et le risque génétique d'auto-immunité (**Smith et al. 2022**).Le SIRP γ contient un autre SNP qui est associé aussi au risque de diabète de type 1 c'est le rs2281808 .Le rs2281808 est un SNP intronique présent entre les exons 5 et 6 du gène SIRPG et provoque une variante C/T.Des études montre que ces deux SNPs sont associé a d'autre maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé (**Sinha et al. 2018; Sharp et al. 2021**).

1.8 L'implication de SIRP γ dans le cancer :

1.8.1 L'immunité anticancéreuse :

Le développement de l'immunité contre le cancer dépend de l'interaction entre les systèmes immunitaires inné et adaptatif. La phagocytose des cellules cibles par les phagocytes, tels que les macrophages et les cellules dendritiques, représente un mécanisme nécessaire au système immunitaire pour promouvoir l'immunité antiucancereuse (**Chen et al. 2021**).Le mécanisme de la phagocytose est contrôlé par la famille des protéines régulatrices du signal (SIRP). La famille SIRP est une famille de récepteurs appariés qui possède une fonction immuno régulatrice importante dans l'immunité innée (**Van Beek et al. 2005b**).

1.8.2 Effet de SIRP γ sur le cancer de poumon :

Cancer stem- like cells (CSLCs) ont la capacité d'échapper a des points de contrôle immunitaires . Les chercheurs ont montré que le SIRP γ possèdent un rôle dans L'adénocarcinome pulmonaire (LUAD) .Cette protéine régulatrice transmet le signal d'échappement immunitaires .Il ponte les MST1 et PP2A pour faciliter la déphosphorylation de MST1 qui due a une activation de voie de signalisation HIPPO /YAP et conduisant a la

libération des cytokines par les cellules cancéreuses de poumons qui favorise l'inhibition de la phagocytose des cellules tumorales. Le ciblage SIRP γ avec un anticorps neutralisant Sirp γ a inhibé les phénotypes de CSLC et a provoqué une phagocytose qui a supprimé la croissance tumorale donc la surexpression de SIRP γ due a un mauvais résultat de survie. Par conséquence le ciblage SIRP γ représente une stratégie de ciblage immunitaire pour le traitement du cancer du poumon (Xu et al. 2022) .SIRP γ favorise la libération des cytokines pour maintenir l'expression de CD47 par la signalisation YAP. Le CD47 a été considéré comme un inhibiteur clé de point de contrôle pour le système immunitaire inné. Les cellules cancéreuses peuvent échapper à la phagocytose médiée par les macrophages grâce a l'interaction de CD47 avec SIRP α à la surface des macrophages pour déclencher le signal «Ne me mange pas» (Matlung et al. 2017).Les chercheurs montrent que les SIRP γ enrichi dans les CSLC est un médiateur clé pour maintenir l'expression du CD47 à les cellules cancéreuses en induisant l'expression et la sécrétion d'IL-1 β et de GM-CSF à partir de CSLC de manière dépendante du YAP, Surtout, l'ajout d'IL-1 β et de GM-CSF aux cellules cancéreuses déficientes en SIRP γ a sauvé l'expression de CD47, et sert a l'inhibition de la phagocytose par les macrophages et la promotion de la tumorigenèse.La libération de cytokines IL-1 β et GM-CSF dépendante de YAP induite par SIRP γ sert de mécanisme clé pour maintenir l'expression de CD47, conduisant à l'inhibition de la phagocytose et à la promotion de la tumorigenèse (Xu et al. 2022).

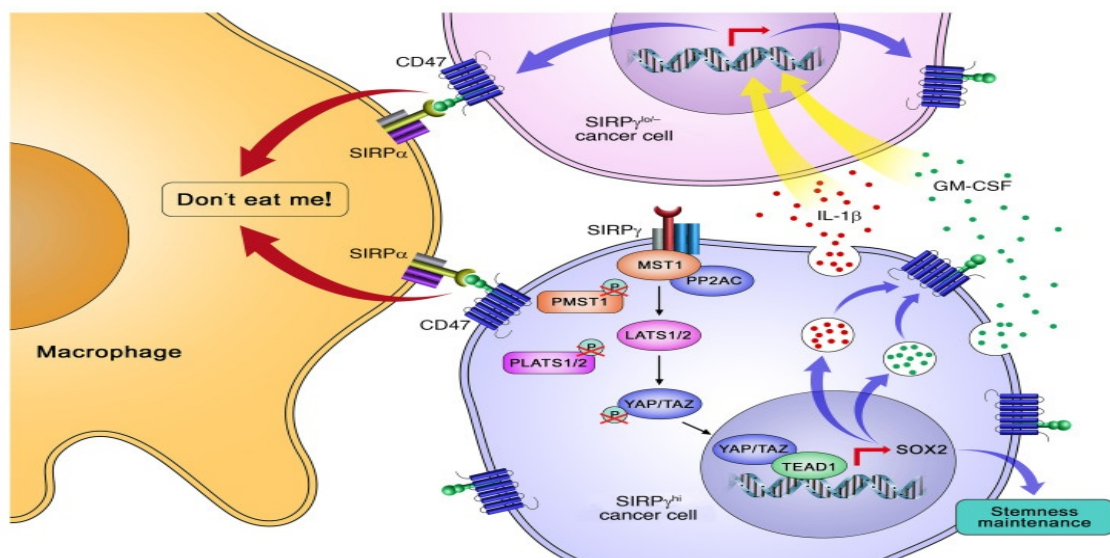


Figure 1.4 : L'inhibition de la croissance tumorale in vivo par l'anticorps neutralisant SIRP γ (Xu et al. 2022).La présence de CD47 dans les cellules cancéreuses est maintenue par les

cellules tumorales SIRP γ^{hi} afin d'éviter la phagocytose dépendante de la paracrine, ce qui favorise la libération de cytokines dépendantes de YAP.

1.9 Immunothérapie:

1.9.1 La thérapie anticancéreuse : Le SIRP-g est un récepteur immunostimulant exprimé sur les cellules T et son inhibition par un anticorps anti-SIRP-g régule négativement la sécrétion d'IFN gamma(Dehmani et al. 2021). Le SIRP γ représente un nouveau régulateur positif de l'immunité anticancéreuse innée(Visser et al. 2023).L'augmentation de l'activité effectrice ou la diminution d'activité suppressive des cellules T est une des méthodes utilisées pour traiter les tumeurs.Pour traiter le cancer les chercheurs utilisent un agent qui se lie à la SIRP γ qui joue le rôle d'un inhibiteur(Choi et al. 2021).

1.9.2 Cible thérapeutique par un nanocage antagoniste Ferritine-SIRP γ (FS γ)

Les macrophages et les cellules dendritiques jouent un rôle crucial dans l'immunité innée et adaptative.La thérapie basée sur le blocage de point de contrôle par les antagonistes représente une approche importante pour l'induction de l'immunité spécifique à la tumeur.L'interaction entre le CD47 et le SIRP α sur les cellules phagocytaires inhibe la phagocytose des APCs agissant comme un signal « ne mange pas ». Donc le blocage de CD47 par un antagoniste augmente la phagocytose des cellules tumorales provoquant une activation des cellules TCD8 spécifique à la tumeur. Le SIRP γ est similaire à Sirp α donc pourrait être utilisé comme un antagoniste pour le blocage de CD 47 pour l'immunothérapie contre le cancer.Le blocage de point de contrôle est influencé par la force de liaison de l'antagoniste pour le ciblage de récepteur(He et Xu 2020; Wei, Duffy, et Allison 2018). Les chercheurs ont pu produire un nanocage antagoniste par la ferritine avec Sirp γ à sa surface, nommé Ferritine-SIRP γ (FS γ) pour le blocage de la signalisation anti phagocytaire par la liaison au CD47 et le lier avec un stimuli pro phagocytaires à l'aide d'un réactif de reprogrammation métabolique pour les APC (CPG- oligodésoxynucléotides). La liaison avec CPG a renforcé la capacité prophagocytaire dans l'environnement antitumorigène. Ce traitement combiné augmente la phagocytose des cellules cancéreuses par les APCs qui va déclencher l'immunité anticancéreuse et donc inhibe efficacement la croissance tumorale. L'utilisation d'un

antagoniste avec des stimuli de modulation métabolique des cellules immunitaires représente aussi une stratégie curative contre le cancer(Choi et al. 2021).

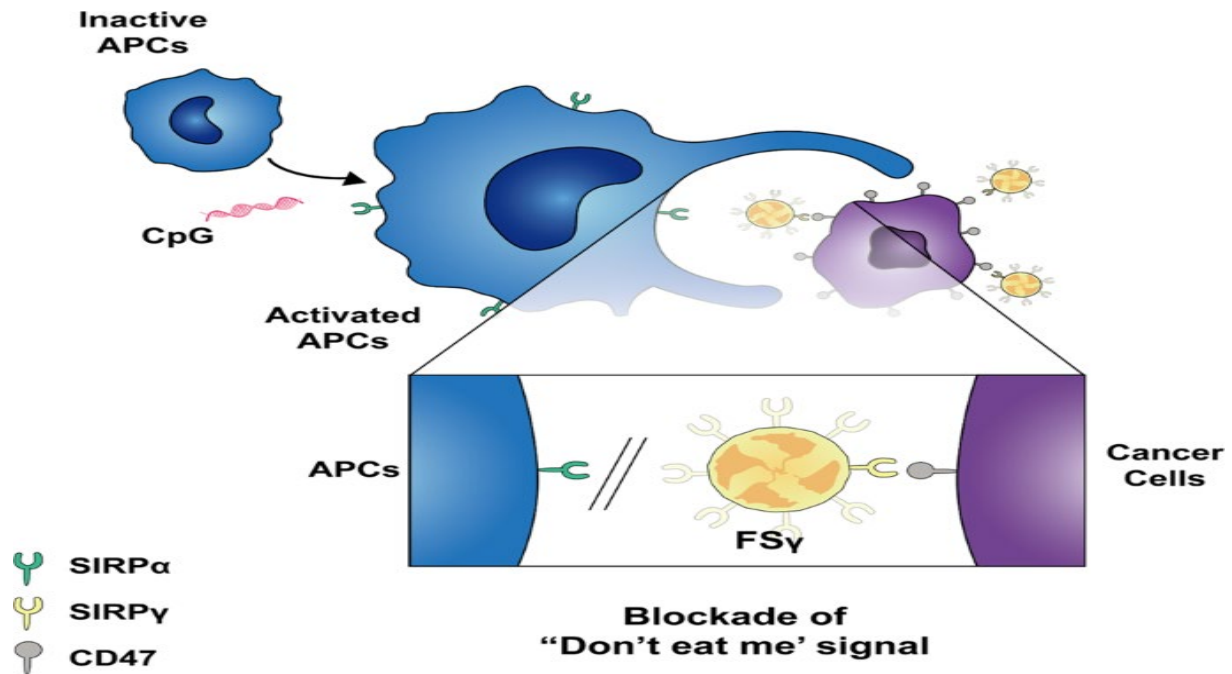


Figure 1.5 : FS γ V and CpG potentiate antitumor immunity through efficient cancer cells engulfment by phagocytes(Choi et al. 2021).

2/ Single Nucléotide Polymorphisme:

2.1 Généralité:

Un polymorphisme nucléotidique unique (SNP) est la forme la plus courante de variation génétique dans le génome humain. Un SNP est une mutation touchant une seule base dans l'ADN(Dabhi et Mistry 2014; K. Wu et al. 2023).Ils représentent environ 90 pour cent du génome humain(Brookes 1999).

Il est crucial d'exploiter des méthodes d'évaluation efficaces pour détecter les SNP dans des génomes complexes. De nouveaux tests sont présentés pour distinguer les agents pathogènes (malignes),des SNP non pathogènes (bénins) qu'ils se produisent dans les régions codantes (exon) ou non codantes (intron) dans le génome humain(Azizzadeh-Roodpish, Garzon, et Mainali 2021). Les connaissances sur les SNP devraient aider à identifier les gènes de sensibilité aux maladies complexes, aux médicaments et aux gènes d'histocompatibilité pour la transfusion ou la transplantation(Wakui 2013).

Les SNPs peuvent affecté l'activité du promoteur (expression des gènes), l'ARN messenger (ARNm) la stabilité et la localisation subcellulaire des ARNm (Shastry 2009). Ils peuvent causé un changement au niveau d'acide aminée de la protéine qui peut affecter leur fonction biologique (Al-Haggar et al. 2012).

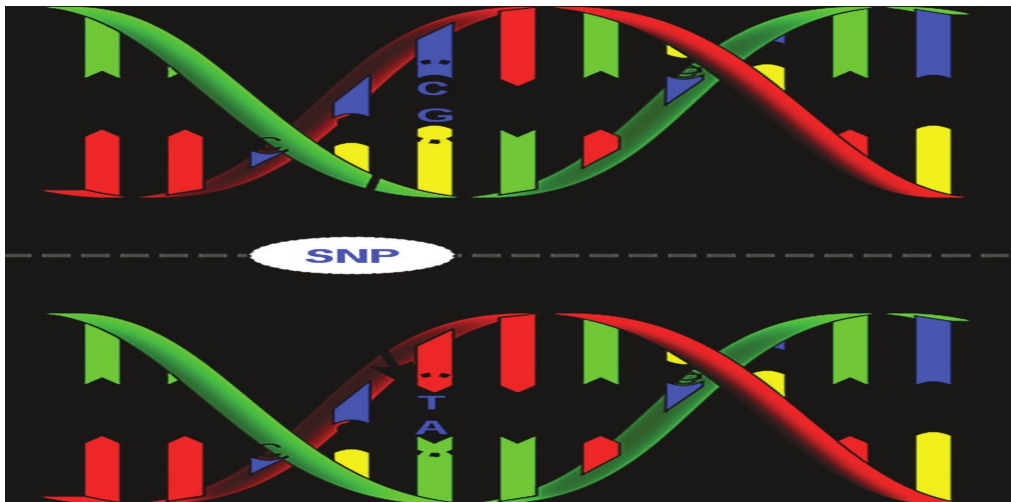


Figure 1.6 :Single nucléotide polymorphisme (Haig et al. 2011).

2.2 La découverte des SNPs :

Les SNP ont été découverts en 1980 grâce à des tests d'endo-nucléases de restriction qui ont été utilisés pour détecter la présence ou l'absence de sites de clivage de l'ADN (Gray 2000). La découverte des SNP est basée sur le séquençage direct de l'ADN ou sur la chromatographie liquide à haute performance (DHPLC). La demande en génotypage des SNPs est très élevée et aucune méthode n'est capable de répondre aux besoins de toutes les études des SNP (Kwok et Chen 2003). Les méthodes de génotypage des SNP les plus fréquentes, notamment l'analyse hétéroduplex, l'hybridation d'oligonucléotides spécifiques à un allèle, le clivage enzymatique, la ligature d'oligo-nucléotides et l'analyse du polymorphisme de conformation simple brin, ont été utilisées pour la détection des mutations ponctuelles (Li et al. 2013; Tang et al. 2018).

2.3 L'intérêt d'étude des SNP :

Les SNP sont utilisés dans plusieurs domaines de recherche, dans la bio-informatique, l'analyse génétique des pathologies, l'analyse des génomes, la génétique des populations, la médecine légale et le cancer (Brookes 1999).

Les SNP sont considéré comme des marqueurs génétiques possèdent des caractéristiques importantes dans le diagnostic clinique et le traitement des maladies. Plusieurs anomalies destructrices, telles que la malignité, les maladies cardiovasculaires, les maladies métaboliques héréditaires et les maladies auto-immunes, sont lié aux variantes mononucléotidiques(K. Wu et al. 2023). Par conséquent, l'identification des SNP est très utile pour un diagnostic clinique précoce et des traitements efficaces(Wang et al. 2020; Van Den Broeck et al. 2014).

L'analyse des polymorphismes mononucléotidiques (SNP) est une technologie de génotypage avec des applications larges et significatives.Les SNP sont utiles pour identifier les gènes, les séquences et les nucléotides (substitutions) influençant directement les variations phénotypiques, montrant ainsi la possibilité d'une sélection assistée par marqueurs pour les caractères/traits souhaitables(Wenne 2018).

2.4 Type des SNP :

Les SNPs sont classés selon le site et la nature de changement d'acide aminés(Shastry 2009).

2. 4.1 SNP non codants :se sont des SNP qui ne se trouve pas dans les régions codantes pour les protéines.

2. 4.2 SNP codants :se sont des SNP localisés dans les régions qui codent pour des protéines .Il y'a environ 24000 a 60000 SNP codant présent dans le génome humain .Ils sont divisée en :

2.4.2.1 SNP synonyme : ne modifient pas la séquence d'acide aminés de la protéine résultante grâce a la dégénérescence du code génétique.

2.4.2.2 SNP non synonymes:ont généralement des effets fonctionnels et biochimiques sur la protéine car ils changent la composition des protéines (Bromberg et Rost 2007).Ils se divisent en :

2.4.2.2.1 Faux-sens : c'est une altération (changement pyrimidine/pyrimidine ou purine/purine) ou une transformation (changement purine/pyrimidine ou l'inverse) qui est due a une modification de l'acide aminé de la protéine(Al-Hagggar et al. 2012).

2.4.2.2.2 Non-sens : un changement dans une séquence d'ADN donnant un codon stop prématuré ou un codon non-sens dans l'ARNm transcrit et donne un produit protéique dénaturé, incomplet et généralement non fonctionnel (Cordovado et al. 2012).

2.5.Études d'association à l'échelle du génome(GWAS) :

GWAS signifie « étude d'association à l'échelle du génome ». C'est une méthode utilisée pour trouver des variantes génétiques qui augmentent le risque de maladie(Flint 2013). L'approche GWAS a été conçue pour la détection d'associations entre les marqueurs ADN et les maladies, ces études ont généré des nouvelles recherches scientifiques et découvertes(Visscher et al. 2012). Les études GWAS sont basées sur l'utilisation d'un grand nombre de SNPs ou d'autres marqueurs génotypés dans des régions de liaison connues et qui sont étudiés chez des individus non apparentés. Ils ont plusieurs avantages. Ils possèdent une meilleure résolution génétique. Ils identifient mieux le gène causal par rapport à GWLS. Elles pourraient être appliquées à des populations générales présentant des répartitions par âge différentes(Dehghan 2018).

3 /Analyse *in silico* des SNP :

La bioinformatique est un domaine de la biologie qui repose sur l'utilisation des méthodes informatiques pour étudier les systèmes biologiques, ce qui pourrait fournir des prédictions précises et offre la possibilité de réaliser davantage d'études expérimentales et d'essais cliniques (Aamer Mehmood 2014). L'émergence des approches *in silico* a révolutionné les études des sciences de la vie et a permis de réduire une grande partie de la pression liée aux coûts des travaux de laboratoire et des sacrifices d'animaux dans les centres médicaux et les centres de recherche(Behbahani et al. 2020; Mohabatkar, Ebrahimi, et Moradi 2021).

Le terme « *in silico* » est un mot moderne généralement utilisé pour désigner une expérimentation réalisée par ordinateur et est lié aux termes biologiques les plus connus *in vivo* et *in vitro*. Les méthodes *in silico* comprennent des bases de données, des relations quantitatives structure-activité, des modèles d'homologie et d'autres approches de modélisation moléculaire, tels que l'apprentissage automatique, l'exploration de données, des outils d'analyse de réseau et des outils d'analyse de données utilisant un ordinateur. Les méthodes *in silico* sont principalement utilisées parallèlement à la génération de données *in vitro* à la fois pour créer le modèle et pour le tester(Ekins, Mestres, et Testa 2007).

Ces approches *in silico* peuvent aider à comprendre comment les SNPs affectent la stabilité, la structure et la fonction des protéines, ce qui peut être utile pour la découverte de médicaments et la compréhension des maladies génétiques(Bhat et al. 2022).

Chapitre II : Matériel et méthodes

Matériel et méthode :

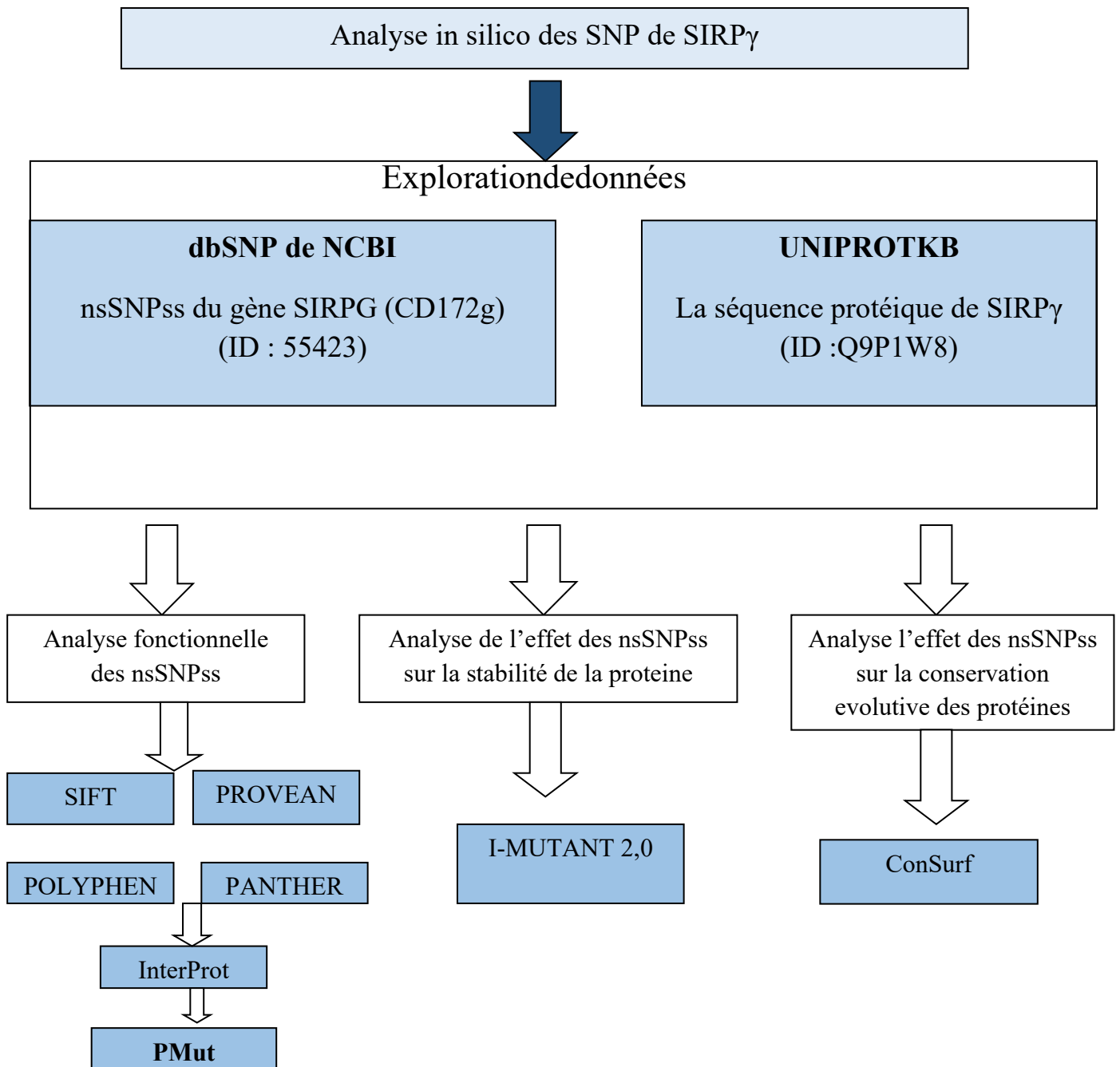


Figure 2.1 : Study design.

Chapitre II :Matériels et méthodes

2.1. Recherche des nsSNPss et la séquence protéique :La base de données du National Center For Biotechnology Information (NCBI), dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) a été choisi pour récupérer les SNPs du gène CD172g(Figure 2.2) et la base de données UniProt (<https://www.uniprot.org/>) (Figure 2.3) pour télécharger la séquence protéique de CD172g en format FASTA (numéro d'accension Uniprot : NP_061026).

Pour mon étude j'ai sélectionné les nsSNPs pour faire des analyses plus approfondie en raison de la modification des acides aminés. Les séquences protéiques et les nsSNPs vont être utilisées dans les analyses fonctionnelle et les autre analyses.

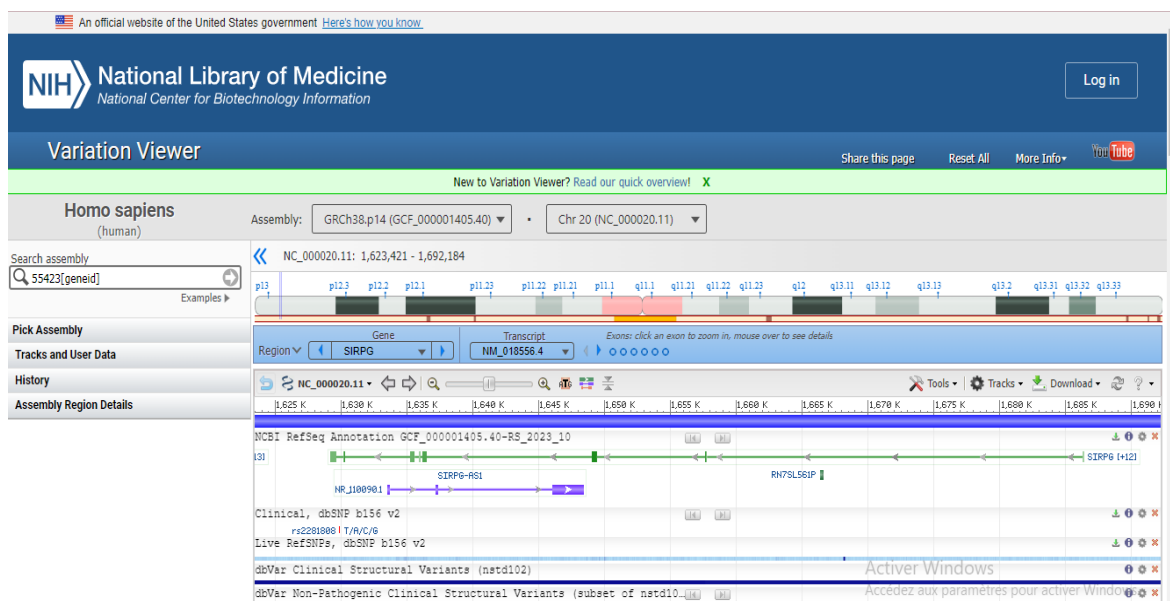


Figure 2.2 : Recherche des nsSNPs sur la base de donnée DbSNP.

Chapitre II :Matériels et méthodes

Variation Data

Filter by Download edit columns Items 1 - 20 of 414 << First < Prev Page 1 of 21 Next > Last >>

Source database	Variant ID	Location	Variant type	Gene	Molecular consequences	Most severe clinical significance	1000G MAF	GO-ESP MAF	ExAC MAF	Publications
<input checked="" type="checkbox"/> dbSNP (414)	rs2091738387	1,630,228	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided				
<input type="checkbox"/> dbVar (0)	rs1313223752	1,630,231	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided				
In ClinVar	rs773466471	1,630,235	single nucleotide variant	SIRPG and 3 more	missense variant, nonsense (stop gained)	Not-Provided			T = 3.74139e-05	
<input type="checkbox"/> Yes (0)	rs117221203	1,630,236	single nucleotide variant	SIRPG and 2 more	missense variant, synonymous variant	Not-Provided	T = 0.000156152			
<input type="checkbox"/> No (414)	rs775455306	1,630,237	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided			C = 0.0	
Most severe clinical significance	rs2091738703	1,630,238	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided				
<input type="checkbox"/> pathogenic (0)	rs1400827235	1,630,239	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided				
<input type="checkbox"/> pathogenic-likely-pathogenic (0)	rs1213068429	1,630,240	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided				
<input type="checkbox"/> likely-pathogenic (0)	rs1160630685	1,630,241	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided				
<input type="checkbox"/> drug-response (0)	rs2122387600	1,630,244	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided				
<input type="checkbox"/> confers sensitivity (0)	rs762898132	1,630,247	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided			T = 6.94059e-05	
<input type="checkbox"/> other (0)	rs561280167	1,630,249	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided	C = 0.000312305		C = 0.000223414	
<input type="checkbox"/> conflicting-data-from-submitters (0)	rs761612919	1,630,250	single nucleotide variant	SIRPG and 1 more	missense variant	Not-Provided			G = 2.7866e-05	
<input type="checkbox"/> conflicting-interpretations-of-pathogenicity (0)	rs868456979	1,630,255	single nucleotide variant	SIRPG and 2 more	missense variant	Not-Provided				
<input type="checkbox"/> risk-factor (0)	rs767134003	1,630,265	single nucleotide	SIRPG and 1	missense variant	Not-Provided			A = 2.76824e-05	
<input type="checkbox"/> association (0)										
<input type="checkbox"/> protective (0)										
<input type="checkbox"/> uncertain-significance (0)										
<input type="checkbox"/> not-provided (414)										
<input type="checkbox"/> likely-benign (0)										

Figure 2.3: Recherche des nsSNP sur la base de donnée DbSNP.

UniProt BLAST Align Peptide search ID mapping SPARQL Release 2024_02 | Statistics Feedback Help

Find your protein

UniProtKB Advanced | List Search

Examples: Insulin, APP, Human, P05067, organism_id:9606

UniProt is the world's leading high-quality, comprehensive and freely accessible resource of protein sequence and functional information. [Cite UniProt](#)

UniProt invites you to participate in a survey on the use and value of UniProt. Please click on the link provided to complete the survey.

Proteins
UniProt Knowledgebase

Species
Proteomes

Protein Clusters
UniRef

Sequence Archive
UniParc

Figure 2.4 : Recherche sur la Base de donnée UniProt.

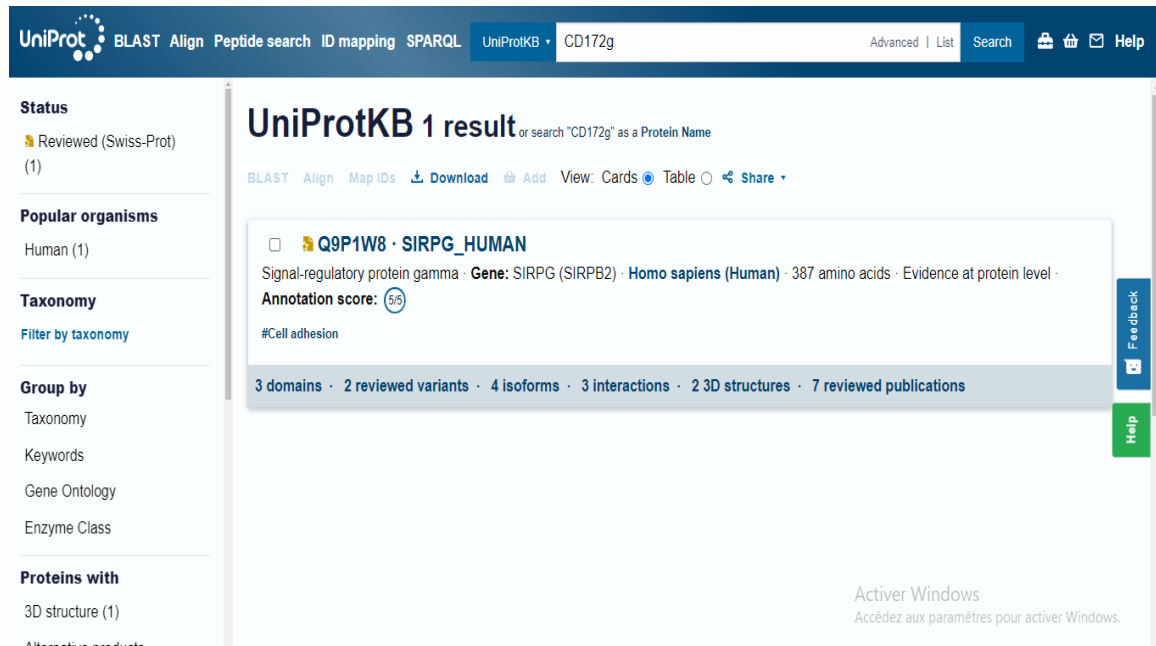


Figure 2.5 : CD172g dans la base de donnée Uniprot.

2.2 Prédiction des nsSNPs délétères :

Pour la prédiction de l'impact fonctionnel des nsSNPs j'ai utilisé quatre outils complémentaires : Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT:https://sift.bii.a-star.edu.sg/www/SIFT_seq_submit2.html), Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen-2:<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) Protein variation effect analyzer (PROVEAN :<http://provean.jcvi.org/>), et Protein analysis through evolutionary relationship coding SNP (PANTHER cSNP : <https://pantherdb.org/>).

SIFT : C'est un outil d'analyse basée sur un algorithme qui détermine si les substitutions des acides aminés sont délétères ou tolérées pour la fonction des protéines. Le programme SIFT prend en compte la conservation des protéines avec des séquences homologues et la gravité du modification d'acide aminé. Il est utilisé dans plusieurs études sur les maladies génétiques (Vaser et al. 2016).

Pour effectuer l'analyse à l'aide de SIFT, j'ai introduit la séquence protéique en format FASTA, ensuite j'ai mentionné la substitution et la position de chaque variation d'acides aminées et j'ai cliqué sur envoyer pour obtenir les résultats de (Figure 2.5) (Figure 2.6).



[Home](#) [Help](#) [Code](#) [Contact us](#)

SIFT Sequence

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

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

Protein sequence

Name of file containing protein query sequence ([fasta format](#)).

Aucun fichier choisi

-Or-

Paste in your protein query sequence ([Upload example](#)) ([fasta format](#)).

```
>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens  
OX=9606 GN=SIRPG PE=1 SV=3  
MPVPASHPHPGPFLLTLLGLTEVAGEEELQIQPEKLLLVTVGKTATLHCTVTSLLP  
VGPVLWFRGVGPGRELIYNQKEGHFPRVTVSDLTKRNMDFSISSITPADVGYCYV  
KFRKGSPEINVEFKSGPGTEHALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSPTDIL  
KLFKMGNFICNFQTMNDPTGNSUAVSTRSTARRVVI NPLNVRKSNVTCFVAVVTI NQDPI RQ
```

Activer Windows
Accédez aux paramètres pour activer Windows.

Figure 2.6 : analyse de la séquence protéique par SIFT

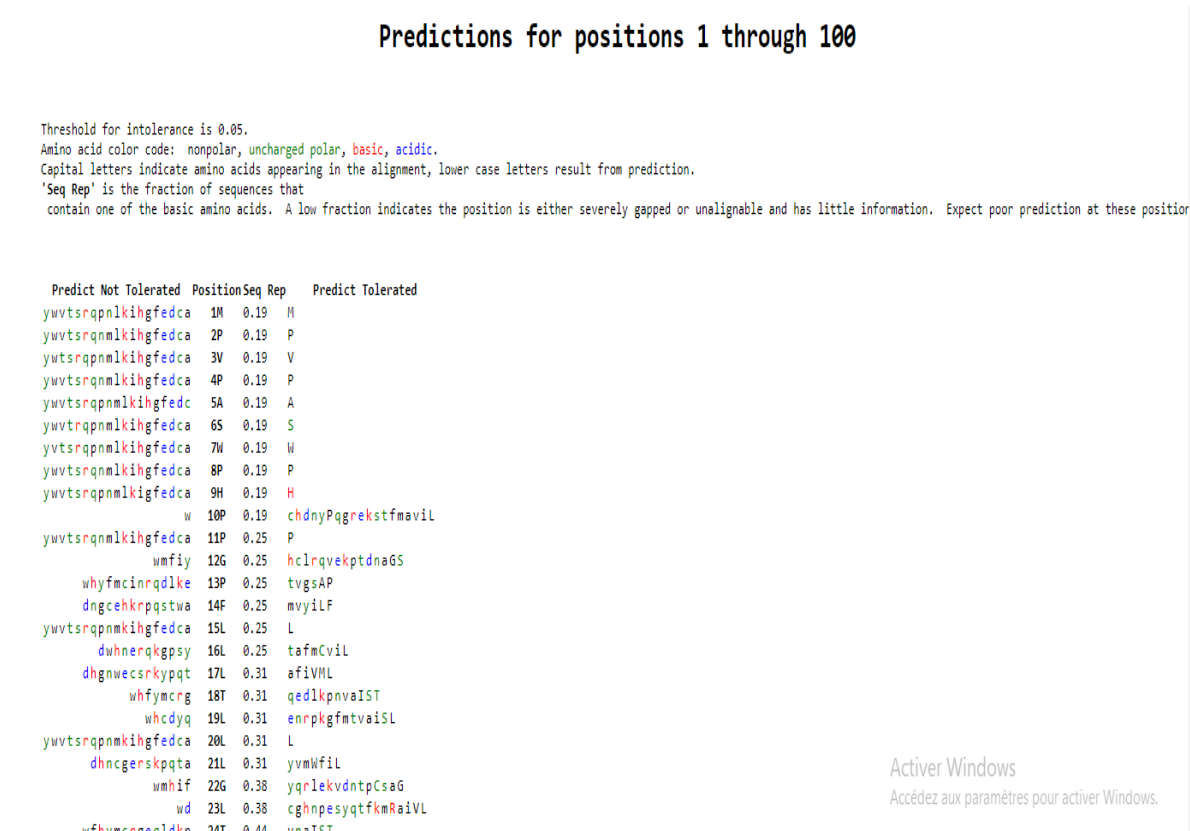
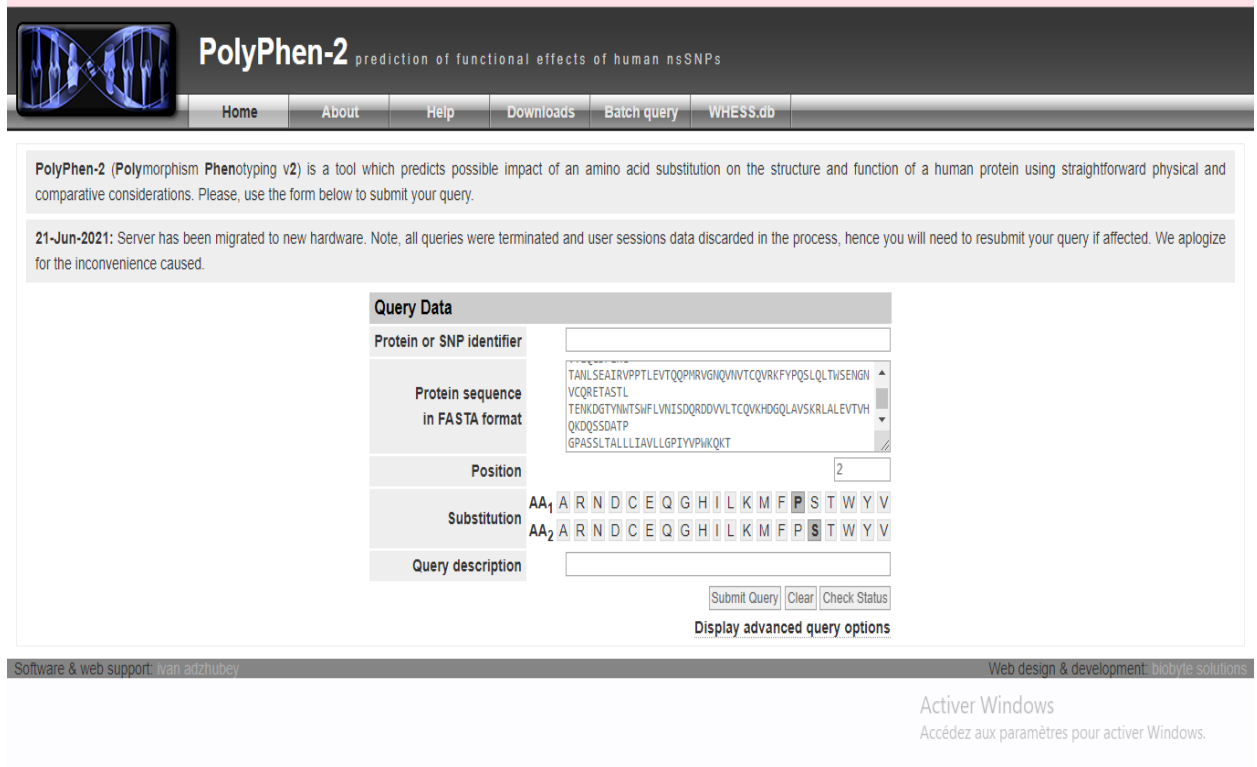


Figure 2.7 : Résultats d’analyse par SIFT.

PolyPhen-2 : C’est un outil automatisé utilisé pour déterminé l’effet d’une substitution d’acide aminé sur la structure et la fonction d’une protéine humaine. Les prédictions automatisées sont nécessaires pour interpréter l’ensembles des données sur des variantes génétiques. Pour effectuer une analyse à l’aide de PolyPhen-2 j’ai introduit la séquence protéique en format FASTA en précisant la position de chaque variation, l’acide aminé de base et l’acide aminé de substitution. J’ai ensuite cliqué sur « Submit query » pour obtenir le résultat (Figure 2.7). Le résultat de la prédiction peut être probablement dommageable (probably damaging), dommageable (damaging) ou bénin (benin). Le « score » représente la probabilité que la substitution soit dommageable. L’effet dommageable obtenu est indiqué par un marqueur noir vertical à l’intérieur d’une barre de dégradé de couleur, où le vert est bénin et le rouge est dommageable (Dracopoli et Boyle 1994) (Figure 2.8).

Chapitre II : Matériels et méthodes



PolyPhen-2 prediction of functional effects of human nsSNPs

Home About Help Downloads Batch query WHESS.db

PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2) is a tool which predicts possible impact of an amino acid substitution on the structure and function of a human protein using straightforward physical and comparative considerations. Please, use the form below to submit your query.

21-Jun-2021: Server has been migrated to new hardware. Note, all queries were terminated and user sessions data discarded in the process, hence you will need to resubmit your query if affected. We apologize for the inconvenience caused.

Query Data

Protein or SNP identifier:

Protein sequence in FASTA format:

```
TANLSEAIRVPPTLEVTQQPPIRVGNQVIVTCQVRKFFYPQSLQLTISENGV
VCQRETASTL
TENKDGTYNMTSNIFLVNISDQRDDVLTCCQVHGGQLAVSKRLALEVTWH
QKQSSDAATP
GPASSLTALLLTAVLLGPIYVPIKQKT
```

Position:

Substitution: AA₁ A R N D C E Q G H I L K M F P S T W Y V
AA₂ A R N D C E Q G H I L K M F P S T W Y V

Query description:

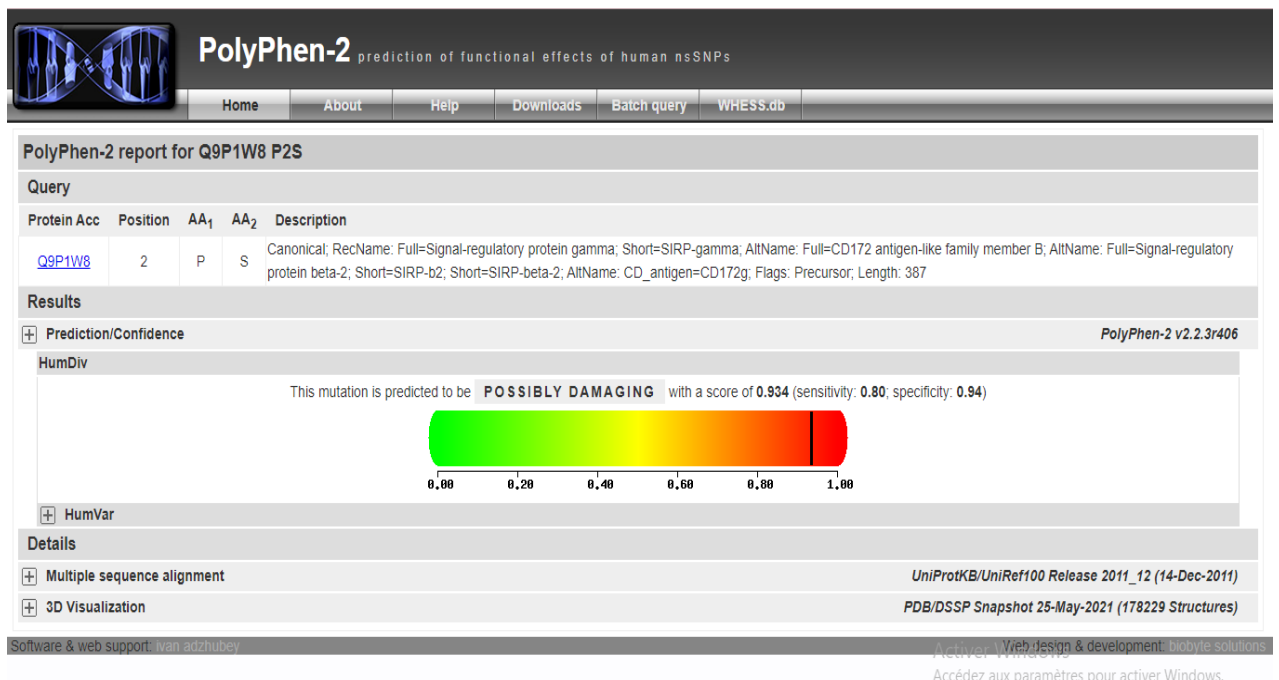
Submit Query Clear Check Status

Display advanced query options

Software & web support: [ivan adzhubey](#) Web design & development: [biobyte solutions](#)

Activer Windows
Accédez aux paramètres pour activer Windows.

Figure 2.8 : Analyse par PolyPhen -2



PolyPhen-2 prediction of functional effects of human nsSNPs

Home About Help Downloads Batch query WHESS.db

PolyPhen-2 report for Q9P1W8 P2S

Query

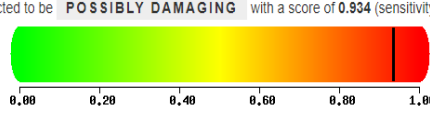
Protein Acc	Position	AA ₁	AA ₂	Description
Q9P1W8	2	P	S	Canonical; RecName: Full=Signal-regulatory protein gamma; Short=SIRP-gamma; AltName: Full=CD172 antigen-like family member B; AltName: Full=Signal-regulatory protein beta-2; Short=SIRP-b2; Short=SIRP-beta-2; AltName: CD_antigen=CD172g; Flags: Precursor; Length: 387

Results

+ Prediction/Confidence PolyPhen-2 v2.2.3r406

HumDiv

This mutation is predicted to be **POSSIBLY DAMAGING** with a score of **0.934** (sensitivity: **0.80**; specificity: **0.94**)



0.00 0.20 0.40 0.60 0.80 1.00

+ HumVar

Details

+ Multiple sequence alignment UniProtKB/UniRef100 Release 2011_12 (14-Dec-2011)

+ 3D Visualization PDB/DSSP Snapshot 25-May-2021 (178229 Structures)

Software & web support: [ivan adzhubey](#) Web design & development: [biobyte solutions](#)

Activer Windows
Accédez aux paramètres pour activer Windows.

Figure 2.9 : Résultat d'analyse par PolyPhen-2

PROVEAN : C'est un outil bioinformatique très utilisé pour analyser les variantes d'une protéine.

Sur la base de données PROVEAN le programme montre une catégorie fonctionnelle prédite, délétère ou neutre basée sur un score. Si ce score est inférieur à -2.5 la variante de la protéine est classée comme délétère(Sandell et Sharp 2022).

Pour ce logiciel j'ai introduit la séquence protéique en format FASTA dans la case « Step1 » et la variation dans la case « Step2 ». J'ai, ensuite,choisi « Homo sapiens » pour toutes les variations et j'ai cliqué sur « Envoyer » pour obtenir les scores de chaque variation (Figures 2.10 et 2.11).

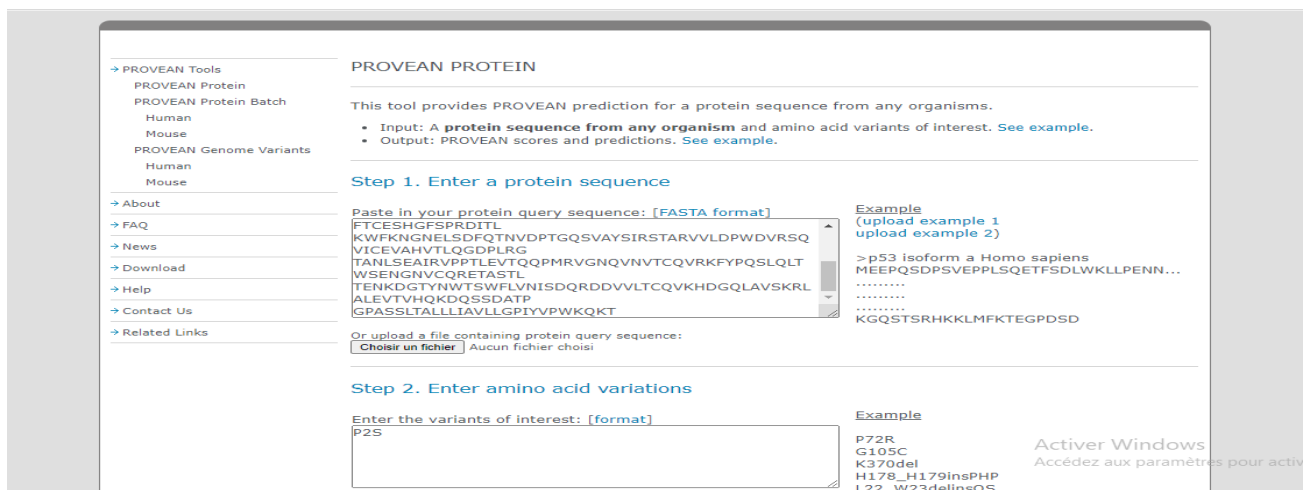


Figure 2.10: Analyse par PROVEAN.

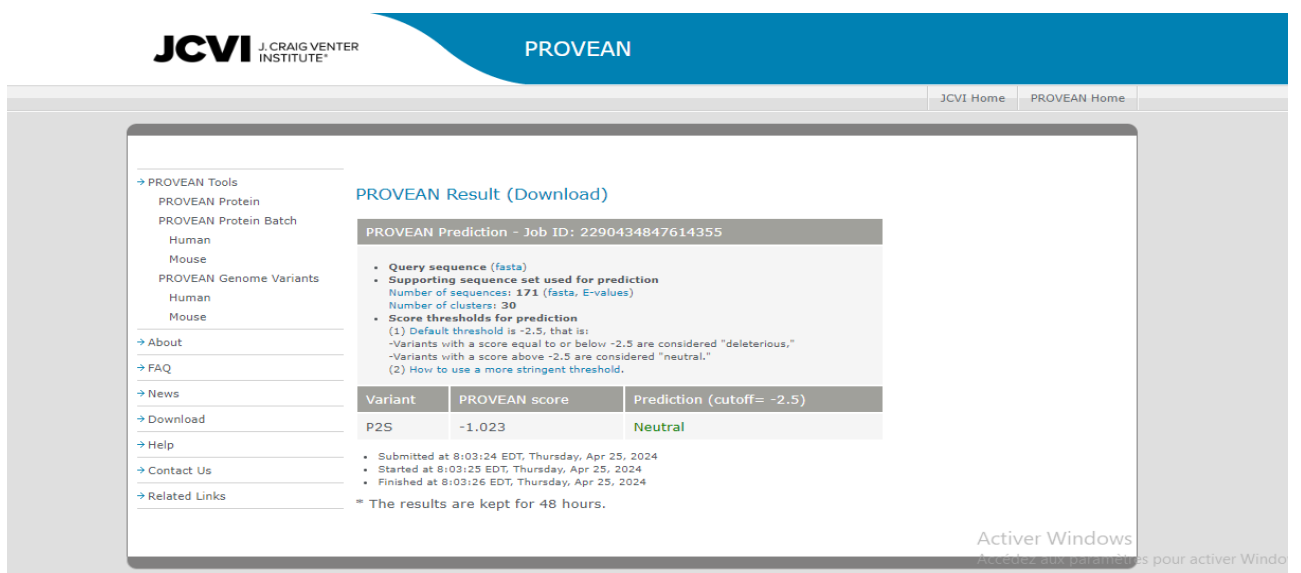


Figure 2.11 : Résultat d'analyse PROVEAN.

Chapitre II :Matériels et méthodes

PANTHER :C'est une base de données complète d'informations évolutives et fonctionnelles sur les gènes codant pour les protéines(Mi et al. 2016).

Pour cette analyse, j'ai également introduit la séquence protéique en format FASTA dans la première case et les substitutions dans la deuxième case. J'ai sectionné homo sapiens et ensuite, cliqué sur « submit » pour obtenir le résultat (Figures 2.12 et 2.13).

PANTHER Classification System

The mission of the PANTHER knowledgebase is to support biomedical and other research by providing comprehensive information about the evolution of protein-coding gene families, particularly protein phylogeny, function and genetic variation impacting that function. [Learn more](#)

PANTHER18.0 Released. [Click for more details.](#)

search keyword All

Home About Data Version Tools API/Services Publications Workspace Downloads FAQ/Help/Tutorial Login Register Contact us

Current Release: **PANTHER 18.0** | 15,693 family phylogenetic trees | 143 species | [News](#) | [Whole genome function views](#)

Gene List Analysis Browse Sequence Search Genetic Variant Impact keyword Search

EVOLUTIONARY ANALYSIS OF CODING SNPS

Estimates the likelihood of a particular nonsynonymous (amino-acid changing) coding SNP to cause a functional impact on the protein. It calculates the length of time (in millions of years) a given amino acid has been preserved in the lineage leading to the protein of interest. The longer the preservation time, the greater the likelihood of functional impact. The method is called PANTHER-PSEP (position-specific evolutionary preservation) and is described in a [recent publication](#). Please cite this publication if you used either the downloadable tool or this web server.

Enter a protein sequence:

```
KFRKGGSPENVEFKSGPGTEMALGAKPSAPVVLGPAARTTPEHTVSFTCESHGFSPRDITLKWFKQINELSDFTQNVDPDPTGQSVAYSIRSTARVLDLPWVDRSQVCEVAHVTLGGDPLRGIANLSEAIRVPPFTLEVTTQPMRVGNQVNVTCQVRKFPQSLQLTWSENGNVCCQRETASTLTENKDGTYNWTSWFLVNIHQDDVVLTCQVKHGGQLAVSKRLALEVTYHOKGSSDAPGPASSLTALLLIIVLLGPIYVPWKQKT
```

Please note that, for technical reasons, the cSNP scoring tool uses data from PANTHER version 9.0 rather than the latest version.

Enter substitution(s), e.g. L46P

P2S

Activ
Accéd

Figure 2.12 :Analyse par PANTHER

PANTHER Classification System

The mission of the PANTHER knowledgebase is to support biomedical and other research by providing comprehensive information about the evolution of protein-coding gene families, particularly protein phylogeny, function and genetic variation impacting that function. [Learn more](#)

PANTHER18.0 Released. [Click for more details.](#)

search keyword All

Home About Data Version Tools API/Services Publications Workspace Downloads FAQ/Help/Tutorial Login Register Contact us

Current Release: **PANTHER 18.0** | 15,693 family phylogenetic trees | 143 species | [News](#) | [Whole genome function views](#)

Gene List Analysis Browse Sequence Search cSNP Search keyword Search

EVOLUTIONARY ANALYSIS OF CODING SNPS

To view information for this subfamily/family, you can search for this family via browser [PANTHER HMM Classification file](#) or ftp tool [here](#).

[Export results](#)

PANTHER HMM: SIGNAL-REGULATORY PROTEIN BETA (PTHR19971)

substitution	preservation time	Message	Pdel
P2S	176	probably benign	0.27

PSEP (position-specific evolutionary preservation) measures the length of time (in millions of years) a position in current protein has been preserved by tracing back to its reconstructed direct ancestors. The longer a position has been preserved, the more likely that it will have a deleterious effect. We convert this to a probability of deleterious effect

A
A

Figure 2.13 : Résultat d'analyse par PANTHER.

2.3 Identification des nsSNPs appartenant aux domaines conservés :

La base de données InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) est une ressource disponible gratuitement qui peut être utilisée pour classer des séquences en familles de protéines et prédire la présence de domaines et de sites importants. Au cœur de la base de données InterPro se trouvent des modèles prédictifs nommés signatures et provenant d'une gamme de différentes bases de données de familles de protéines qui ont différents objectifs biologiques et qui utilisent différentes approches méthodologiques pour classer les familles et les domaines des protéines (Mitchell et al. 2015) (Figures 2.13 et 2.14)

Les domaines protéiques sont des régions spécifiques dans les protéines qui ont des fonctions biologiques distinctes. La conservation de ces domaines est souvent liée à leur fonctionnalité et permet de comprendre les mécanismes évolutifs et les fonctions biologiques des protéines et des gènes (s. d.)

InterPro Classification of protein families

Home Search Browse Results Release notes Download Help About Contact us

CH, Bateman A. InterPro in 2022. *Nucleic Acids Research*, Nov 2022, [doi: 10.1093/nar/gkac993]

Search by sequence Search by text Search by Domain Architecture

Sequence, in FASTA format

```
>sp|Q9P1W8|SIRPG_HUMAN Signal-regulatory protein gamma OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SIRPG PE=1 SV=3
MFVPLSWPHPPGFLLTLLGLTEVAGEEELQIQPEKLLLVGKATLHCTVTSLLP
VGFVLMFRGVGFGRELIYNQKEGHFRVTIVSDLTKRNNMDFSIRISSITPAQVGTYYCV
KFRKQSPENVEFYSGPTMALGAKFSAFVVLGFAARTTPEHTVSTCESHGFSPRDITL
KWFKNGNELSDFTINVDPTGQSVAYSIRSTARVWLDPMWVRSQVCEVAHVTLQSDFLRG
TANLSEAIRVFFLEVTQQPMRVGNQVNVTCQVRFFYPQSLQLTWSENGNVCCRETASTL
TENKDGTYNWSWFLVNISDQRDDVVLTCQVHKDQQLAVSKRLALEVTVHKDKQSSDAP
GFASSLTALLLIAVLLGPIYVFWKQKT
```

Valid Sequence.

Choose file Example protein sequence

This website requires cookies, and the limited processing of your personal data in order to function. By using the site you are agreeing to this as outlined in our Privacy Notice and Terms of Use.

Active Windows Accédez à I agree, dismiss this banner

Figure 2.14 : Recherche sur labase de donnée InterPro.

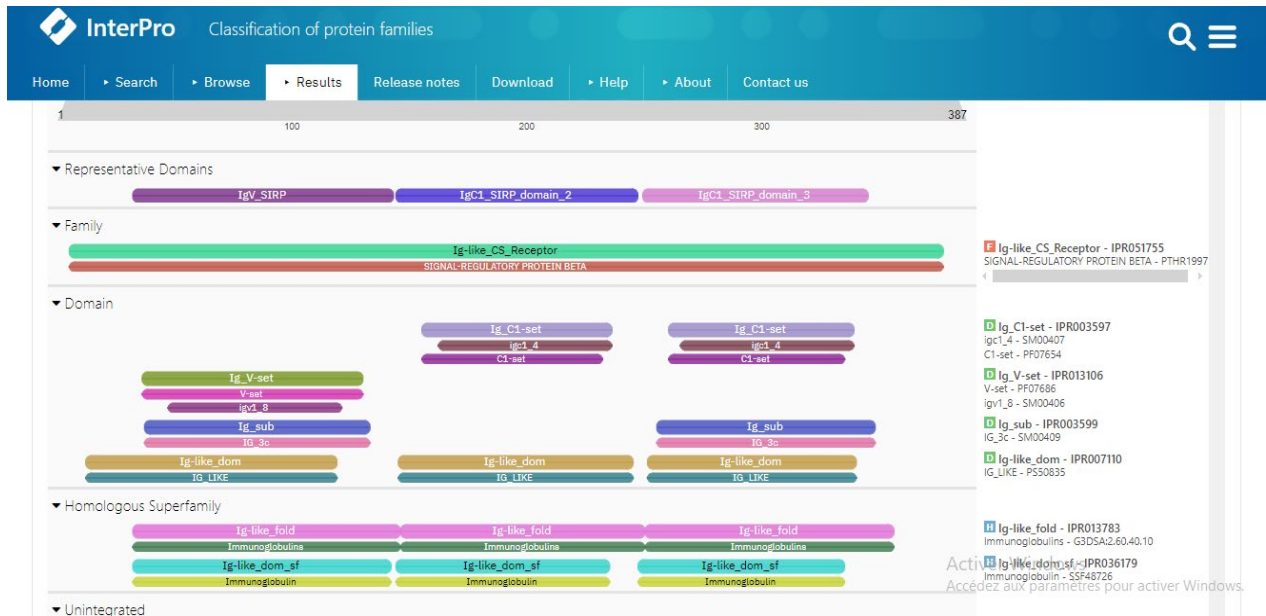


Figure 2.15 :Résultats de la recherche sur la base de donnée InterPro.

2.4. Analyse de l'effet des nsSNPs sur la stabilité des protéines :

PMut(<https://mmb.irbbarcelona.org/PMut>) : est un logiciel qui prédit si une mutation donnée dans une séquence protéique sera pathologique (conduisant à une maladie) ou neutre (n'ayant aucun effet sur la santé du porteur)(Ferrer-Costa, Orozco, et De La Cruz 2004).

Dans ce logiciel ,nous avons sélectionné la protéine d'intérêt puis choisis son isoforme ,ce qui généré une barre colorée induquant le score et les pourcentages de pathogénicité.

(Figures 2.16 et 2.17)

PMut Q.Repository Analyze mutations Batch analysis Custom predictor REST API PyMut Help Login

Repository

SIRPG Search Reset 1 - 4 of 4 « Previous Next »

e.g. BRCA2, 2vgb, ENSG00000133110, Q04917, Rett syndrome

Gene	Protein	Name	Length	Mutations visualization
SIRPG	Q9P1W8	Signal-regulatory protein gamma	387	
CD47	Q08722	Leukocyte surface antigen CD47	323	
GATM	P50440	Glycine amidinotransferase, mitochondrial	423	
FOS	P01100	Protein c-Fos	380	

Barcelona Supercomputing Center IRB UNIVERSITAT DE BARCELONA INB icrea

Copyright © 2017, Molecular Modeling and Bioinformatics Group

Figure 2.16 : Recherche sur Pmut.

Signal-regulatory protein gamma (Q9P1W8)

UniProtKB: Q9P1W8 OMIM gene: 605486 KEGG: hsa:55423 Ensembl: ENSG00000089012, ENSG00000089012.14 InterPro: IPR007110 PDB: 2JJW, 4I2X Pfam: PF07854

Interactome3D

You can zoom in using the mouse wheel over the image.

Neutral Pathological

Ala Cys Asp Glu Phe Gly His Ile Lys Leu Met Asn Pro Arg Gln Ser Thr Val Trp Tyr

Position score

Position	Mutation	Annotation	Prediction	Source	Variant ID
2	Pro → Leu	Missense	0.06 (97%) Neutral	Ensembl	rs788787170
2	Pro → Ser	Missense	0.07 (97%) Neutral	Ensembl	rs1275372380
4	Pro → Arg	Missense	0.35 (88%) Neutral	Ensembl	rs371898459
4	Pro → Thr	Missense	0.09 (96%) Neutral	Ensembl	rs201308847
5	Ala → Ser	Missense	0.24 (91%) Neutral	Ensembl	rs9074959
6	Ser → Phe	Missense	0.13 (95%) Neutral	Ensembl	rs1281567363
7	Trp → Ter	Stop gained	-	Ensembl	rs375442819
7	Trp → Ter	Stop gained	-	Ensembl	rs202030267
8	Pro → His	Missense	0.15 (94%) Neutral	Ensembl	COSM8159189
8	Pro → Ser	Missense	0.08 (96%) Neutral	Ensembl	rs199558654

Activer Windows Accédez aux paramètres pour

Figure 2.17 : Résultats de la recherche sur Pmut.

I-Mutant2.0 (<https://folding.biofold.org/i-mutant/i-mutant2.0.html>) : c'est un outil basé sur une machine à vecteurs de support (SVM) pour la prédiction automatique des changements de

Consurf Server (<https://consurf.tau.ac.il/>): C'est un outil bioinformatique permettant d'estimer avec précision le taux d'évolution de chaque position dans une famille de protéines (**Ben Chorin et al. 2020**). Il est largement utilisé pour détecter les régions fonctionnelles dans les macromolécules en analysant la dynamique évolutive des substitutions d'acides aminés/nucléiques entre séquences homologues (**Ashkenazy et al. 2016**) (Figures 2.20 et 2.21)

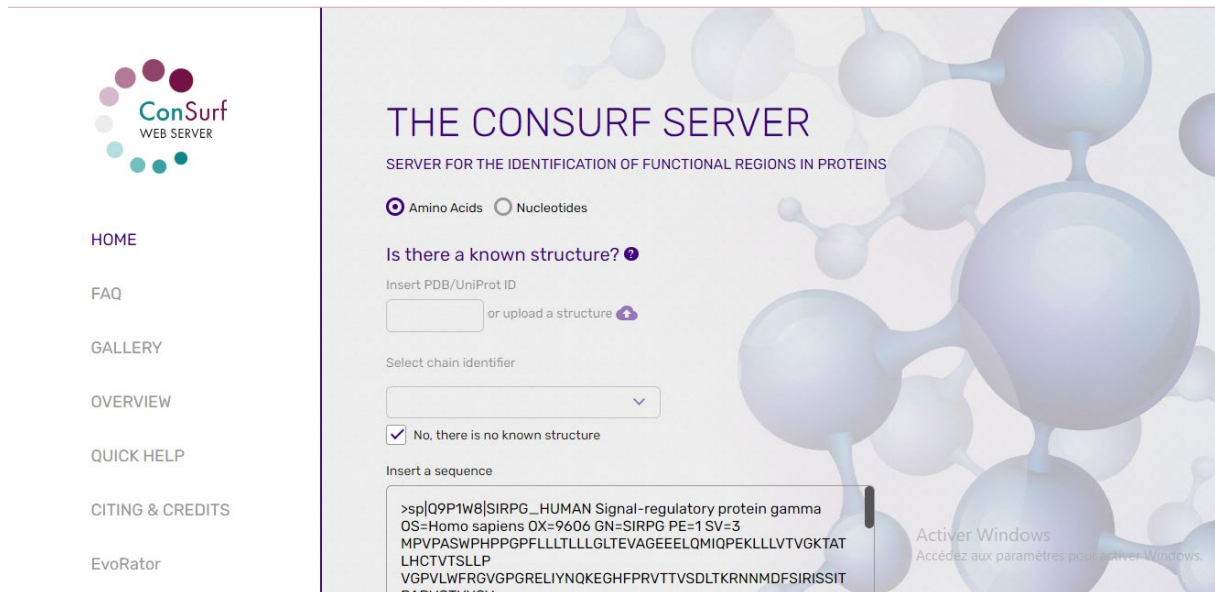


Figure 2.20 :Recherche sur le serveurConSurf .



Figure 2.21 : Résultats obtenus par le serveur ConSurf.

Chapitre III :
Résultats
et Interprétations

3. Résultats et Interprétations:

3.1. Identification des nsSNPs délétères :

Selon les données obtenues de la base de données NCBI dbSNP, il y avait un total de 448 nSNP dans le gène SIRP γ . Les nsSNPs ont ensuite été soumis à quatre outils distincts (SIFT, PolyPhen, PROVEAN, PANTHER). Sur ces 448 nsSNPs, un total de 28 a été prédit comme étant des SNP probablement délétères dans la protéine SIRP γ (Tableau 3.2).

Tableau 3.2: Résultats des nsSNPs à haut risques identifiés par quatre méthodes in silico pour le SIRP γ .

dbSNPs# cluster id	Acide aminé	Prediction par SIFT	score SIFT	Prediction par PolyPhen	Score PolyPhen	Prediction Provean	score Provean	prediction Panther	Score Panther
rs1230063434	L20P	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.027	Probably Damaging	0.78
rs772559713	E31G	Deleterious	0.03	Probably Damaging	0.973	Deleterious	-3.464	probably damaging	0.78
rs202224518	Q36R	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.812	probably damaging	0.78
rs1568735963	P37L	Deleterious	0.02	Probably Damaging	0.996	Deleterious	-8.726	probably damaging	0.78
rs2091922026	G46V	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.578	probably damaging	0.78
rs772308141	L51P	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.690	probably damaging	0.78
rs148010539	W66C	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-12.532	probably damaging	0.78
rs2091921184	G71R	Deleterious	0.01	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-7.175	probably damaging	0.78
rs201956131	R74W	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-7.448	probably damaging	0.78
rs750582002	R74L	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.541	probably damaging	0.78
rs575352199	D101N	Deleterious	0.01	Probably Damaging	0.994	Deleterious	-4.839	probably damaging	0.78
rs770761854	D101G	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.781	probably damaging	0.78
rs746738813	S103F	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.582	probably damaging	0.78
rs1203086520	I104N	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.451	probably damaging	0.78
rs748079541	I106S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.614	probably damaging	0.78
	I106T	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.702	probably damaging	0.78

Résultats et Interprétations

rs1201647688	G115C	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.450	probably damaging	0.78
	G115S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.639	probably damaging	0.78
rs1371812118	Y117H	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.436	probably damaging	0.78
rs751880933	C119R	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-11.310	probably damaging	0.78
	C119S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-9.335	probably damaging	0.78
rs1436050511	G135R	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-7.704	Probably Damaging	0.78
rs778009753	G137D	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.716	Probably Damaging	0.78
rs1568726273	C168S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.845	Probably damaging	0.78
	C168Y	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-9.706	Probably damaging	0.78
rs1383846293	P175L	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.885	Probably damaging	0.78
rs2091802407	W182S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-12.398	Probably damaging	0.78
rs980811811	W182C	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-11.518	Probably damaging	0.78

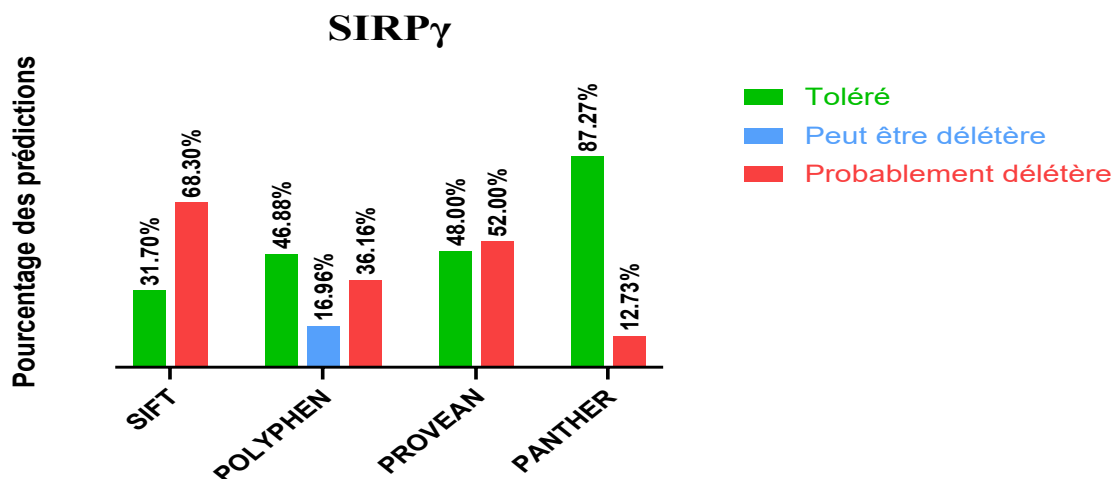


Figure 3.1 : Distribution des nsSNPs dans le gène SIRP γ basée sur les effets estimés prédits par quatre outils fonctionnels.

3.2. Identifications des nsSNPs appartenant aux domaines conservés de SIRP γ :

Le logiciel en ligne InterPro a prédit quatre domaines fonctionnels de SIRP γ , qui sont le domaine de Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/ Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub » et Immunoglobulin C1-set « Ig_C1-set ». Il existe 1 nsSNPs probablement délétère situé dans les domaines « Ig_like-dom » et « Ig_v-set », 3 situés dans le domaine « Ig_like-dom », 5 situés dans « Ig_like-dom » et « Ig_C1-set », et 17 situés dans « Ig_like-dom », « Ig_v-set » et « Ig_sub ».

Tableau 3.3: Identification de divers domaines dans le SIRP γ

Variants	Domaines InterPro
L20P	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »
E31G	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »
Q36R	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »
P37L	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/ Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »
G46V	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/ Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
L51P	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/ Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
W66C	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
G71R	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
R74W	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
R74L	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
D101N	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
D101G	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
S103F	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
I104N	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
I106S	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
I106T	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
G115C	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain

	« Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
G115S	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
Y117H	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
C119R	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
C119S	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom » / Immunoglobulin V-set domain « Ig_v-set »/ Immunoglobulin subtype « Ig_sub »
C168S	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/Immunoglobulin C1-set « Ig_C1-set »
C168Y	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/Immunoglobulin C1-set « Ig_C1-set »
P175L	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/Immunoglobulin C1-set « Ig_C1-set »
W182S	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/Immunoglobulin C1-set « Ig_C1-set »
W182C	Immunoglobulin-like domain « Ig_like-dom »/Immunoglobulin C1-set « Ig_C1-set »

3.3. Prédiction des impacts fonctionnels des nsSNPs par PMut :

Les nsSNPs délétères sélectionnés ont ensuite été soumis à l'outil PMut pour déterminer la probabilité qu'ils soient responsables de maladies liées à la protéine SIRP γ .

Sur les 26 nSNP évalués, 3 nSNP **rs1383846293** (P175L), **rs2091802407**(W182S),**rs980811811** (W182C)seraient responsables de maladies et 23 nSNP seraient considérés comme « neutres ».

3.4. Détermination de la stabilité structurelle de la protéine par I-Mutant2.0 :

Pour prédire les changements dans la stabilité des protéines SIRP γ en fonction des valeurs de changement d'énergie libre, j'ai utilisé l'outil I-Mutant2.0. Les résultats ont montré que le 3 nsSNPs**rs1383846293** (P175L),**rs2091802407**(W182S),**rs980811811** (W182C)diminuait la stabilité de la protéine.

3.5. Analyse de la conservation évolutive par ConSurf :

La conservation évolutive a été déterminée en soumettant la séquence de la protéine mutée au serveur web ConSurf. J'ai identifiés 3 nsSNPs**rs1383846293** (P175L), **rs2091802407**(W182S),**rs980811811** (W182C)délétères. Grace a l'utilisation de ConSurf j'ai

Résultats et Interprétations

trouvé 1nSNPs hautement conservé et exposé et 2nSNPs hautement conservé et enfouirs **rs1383846293** (P175L), **rs2091802407**(W182S),**rs980811811** (W182C).

Tableau 3.4 : Prédiction des nsSNPs à haut risque dans la protéine SIRPy par PMut, I-Mutant 2.0 et ConSurf.

	SNPID	Mutation	Pmut		IMutant		ConSurf	
			Score and porcentage	Predection	Stability	DDG (kcal /mol)	Conservation Score	Predection
SIRPy	rs1230063434	L20P	0.19 (93%)	Neutral	Decrease	-1.03	2	Bureid
	rs772559713	E31G	0.00 (99%)	Neutral	Increase	0.16	5	Exposed
	rs202224518	Q36R	0.39 (86%)	Neutral	Decrease	-1.09	9	Highly conserved and exposed
	rs1568735963	P37L	0.23 (91%)	Neutral	Increase	0.18	7	Exposed
	rs2091922026	G46V	0.39 (86%)	Neutral	Increase	0.61	9	Highly conserved and exposed
	rs772308141	L51P	0.36 (87%)	Neutral	Decrease	-0.41	9	Highly conserved and buried
	rs148010539	W66C	0.40 (86%)	Neutral	Decrease	-2.00	9	Highly conserved and buried
	rs2091921184	G71R	0.38(87%)	Neutral	Decrease	-1.05	7	Exposed
	rs201956131	R74W	0.38 (87%)	Neutral	Decrease	-0.29	8	Highly conserved and buried
	rs750582002	R74L	0.31 (89%)	Neutral	Decrease	-0.62	8	Highly conserved and exposed
	rs575352199	D101N	0.11 (95%)	Neutral	Decrease	-4.31	9	Highly conserved and

Résultats et Interprétations

								exposed
rs770761854	D101G	0.42 (85%)	Neutral	Decrease	-2.47	9		Highly conserved and exposed
rs746738813	S103F	0.39 (86%)	Neutral	Decrease	-0.67	8		Buried
rs1203086520	I104N	0.21 (92%)	Neutral	Decrease	-2.32	9		Highly conserved and buried
rs748079541	I106S	0.38 (87%)	Neutral	Decrease	-3.42	9		Highly conserved and buried
	I106T	0.33 (88%)	Neutral	Decrease	-3.35	9		Highly conserved and buried
rs1201647688	G115C	0.34 (88%)	Neutral	Decrease	-1.35	9		Highly conserved and exposed
	G115S	0.44 (85%)	Neutral	Decrease	-1.76	9		Highly conserved and exposed
rs1371812118	Y117H	0.18 (93%)	Neutral	Decrease	-0.98	9		Highly conserved and buried
rs751880933	C119R	0.42 (85%)	Neutral	Decrease	-1.26	9		Highly conserved and buried
	C119S	0.39 (86%)	Neutral	Decrease	-2.04	9		Highly conserved and buried
rs1568726273	C168S	0.36 (87%)	Neutral	Decrease	-1.18	9		Highly conserved and buried
	C168Y	0.39 (86%)	Neutral	Increase	0.24	9		Highly conserved and buried
rs1383846293	P175L	0.52 (79%)	Disease	Decrease	-0.38	9		Highly conserved and exposed
rs2091802407	W182S	0.56 (81%)	Disease	Decrease	-2.45	9		Highly conserved and buried
rs980811811	W182C	0.61 (83%)	Disease	Decrease	-2.09	9		Highly conserved and buried

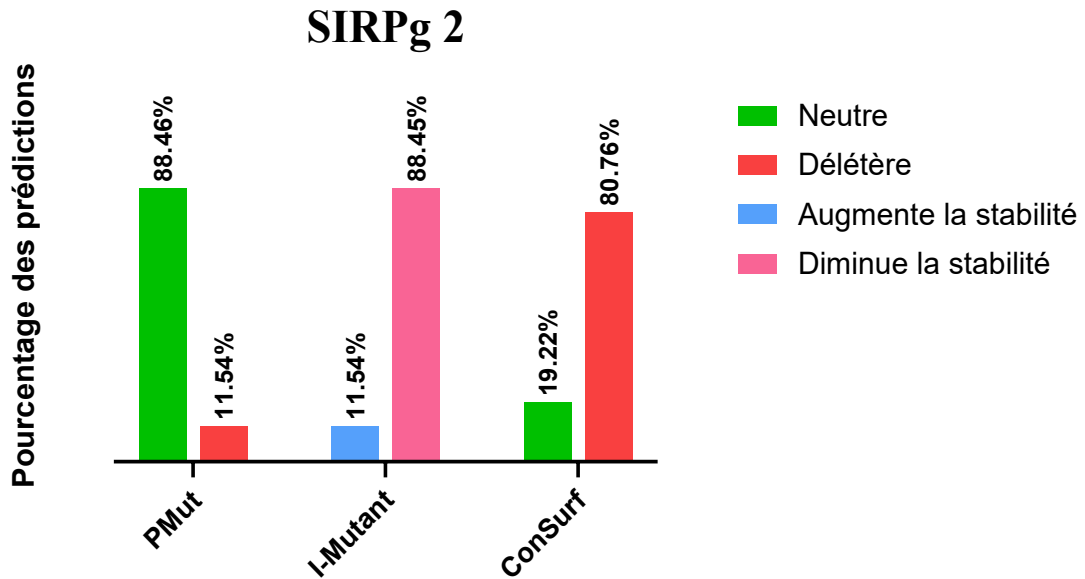


Figure 3.2: Distribution des nsSNPs dans le gène SIRP γ sur la base des effets estimés prédits par divers outils structurels

3.6 Récapitulatif

Les résultats montrent que 28 nsSNPs sont probablement délétères. Parmi ces nsSNPs 26 nsSNPs de la protéine ont été identifiés sur les domaines conservés 3 nsSNPs peuvent être responsables de pathologies et pourront diminuer la stabilité de la protéine. Et enfin une analyse de la conservation évolutive révélée que 3 nsSNPs peuvent perturber la fonction et/ou la structure de la protéine (Figure 3.7).

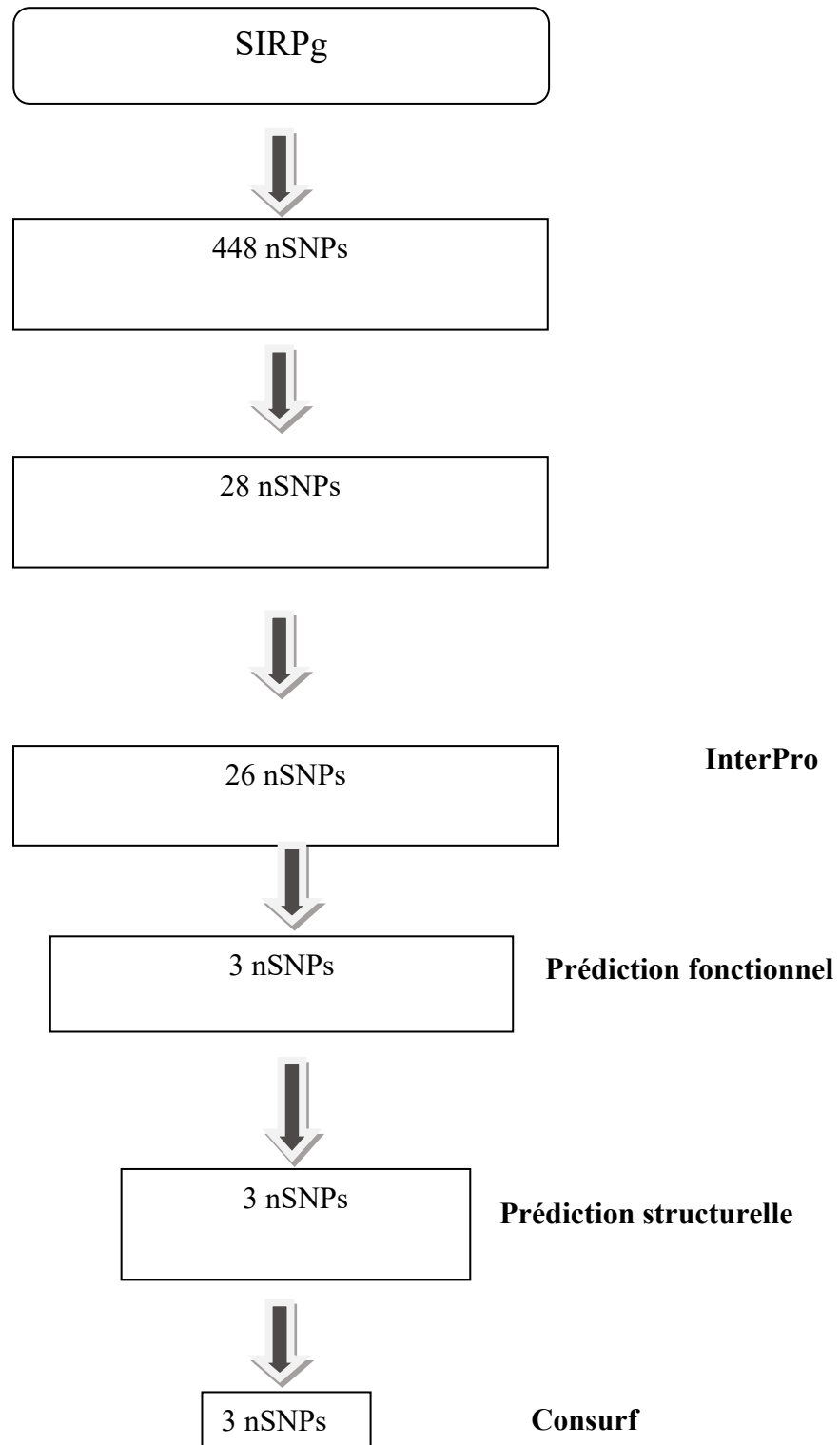


Figure 3.3 : Résultat final des analyses

CHAPITRE IV:

DISCUSSION

Discussion :

Le système immunitaire doit être hautement régulé pour obtenir une réponse immunitaire optimale qui élimine les agents pathogènes sans provoquer d'effets secondaires excessifs. Cette régulation stricte implique des interactions complexes entre les protéines membranaires des leucocytes. Le SIRP γ constitue un exemple de ces protéines membranaires régulatrices (Van Beek et al. 2005). Le SIRP γ a la capacité de favoriser l'activation des lymphocytes T et l'interaction SIRP γ -CD47 peut favoriser d'autres fonctions des cellules T et des cellules NK qui sont liées à l'adhésion cellule-cellule, comme l'attachement aux cellules endothéliales et la transmigration dans les ganglions lymphatiques ou les tissus périphériques (Fukunaga et al. 2004; Liu et al. 2002).

Cette étude a permis d'identifier les nsSNPs les plus susceptibles d'être dommageables et leurs impacts sur la structure et la fonction de la protéine SIRP γ afin de comprendre leur association avec le cancer ou d'autres maladies d'origine immunitaire en utilisant des approches *in silico*.

Un total de 448 SNPs ont été extraits de la base de données dbSNP du NCBI pour le gène SIRP γ . Parmi ces SNPs, 28 ont été prédits comme étant des SNP délétères en utilisant quatre outils de prédiction *in silico* des SNP (SIFT, PolyPhen, PROVEAN, PANTHER). J'ai également utilisé l'outil InterPro pour déterminer la localisation de ces nsSNPs sur différents domaines. Il existe 1 nsSNP situé dans les domaines « Ig_like-dom » et « Ig_v-set », 3 nsSNP situés dans le domaine « Ig_like-dom », 5 nsSNP se situent dans « Ig_like-dom » et « Ig_C1-set », 17 nsSNPs situés dans trois domaines conjoints « Ig_like-dom » et « Ig_v-set » et « Ig_sub ». La stabilité d'une protéine est déterminée par sa structure et sa fonction. Cette dernière joue un rôle important dans la détermination de l'activité biologique et de la fonction des protéines. Les protéines dont la stabilité est diminuée en raison de mutations peuvent provoquer le développement de tumeurs ou d'autres pathologies en raison d'une stabilité réduite (Gromiha 2010). La diminution de l'aptitude des protéines normales favorise l'adoption des protéines tumorigènes (Wilcken et al. 2012).

L'analyse structurelle et l'analyse fonctionnelle par logiciel PMut a permis d'identifier 3 nsSNPs rs1383846293 (P175L), rs2091802407 (W182S), rs980811811 (W182C) qui ont été identifiés comme probablement responsables de maladies liées à la protéine SIRP γ . La stabilité a été aussi évaluée par l'utilisation de l'outil I-Mutant2.0, et (P175L), (W182S), (W182C) ont

été identifiés comme probablement responsables d'une diminution de la stabilité de la protéine SIRP γ . La stabilité des protéines est un critère qui contrôle la structure tridimensionnelle d'une protéine et détermine sa fonction.

De plus, il est important de maintenir la stabilité des protéines au cours de l'évolution.

Pour déterminer si les mutations ont un effet négatif sur la protéine SIRP γ , la conservation évolutive des résidus protéiques a été évaluée à l'aide de ConSurf. La persistance d'un acide aminé au cours de l'évolution témoigne de son importance et sa capacité à être modifié. Il est possible de supposer que les variations touchant les acides aminés très conservés et exposés sont les plus nocives (Ashkenazy et al. 2016).

Dans ce cas-là j'ai trouvé que les nsSNPs hautement délétères ayant des scores de conservation élevés étaient situés dans les régions hautement conservées.

Dans des études GWAS préalables, il a été démontré que le SIRPG possède 2 SNP qui sont associés aussi au risque de diabète de type 1. Ces SNPs sont le rs2281808 qui se trouve dans la partie intronique et le rs6043409 (A263V) qui se trouve dans la partie exonique qui est prédit dans l'étude comme délétère et responsable sur l'apparition de diabète (Sharp et al. 2021; Sinha et al. 2018). Les résultats de cette étude ne concordent pas avec notre étude. Dans notre étude ces SNP ont été prédit comme neutre. Il est donc préférable que cette différence soit vérifiée par une étude expérimentale *in vivo* et/ou *ex vivo*.

CHAPITRE V :
CONCLUSION ET
PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives :

Le SIRP γ représente un nouveau régulateur positif de l'immunité anticancéreuse innée et comme un nouveau membre cliniquement pertinent de la famille SIRP. Les modifications de la protéine SIRP γ dues à des mutations ou à des polymorphismes peuvent contribuer au développement et à la progression du cancer.

Cette étude a montré que trois nsSNPs (P175L), (W182S), (W182C) devraient présenter un risque pathogène élevé et une stabilité réduite, ce qui suggère qu'ils pourraient avoir un impact négatif sur la structure et/ou de la protéine SIRP γ .

Ces nsSNPs qui pourraient être exploités par des analyses complémentaires *in silico* se focalisant sur les modifications post-traductionnelles du SIRP γ et ses interactions avec le CD47.

CHAPITRE VI :

BIBLIOGRAPHIE

A.

Aamer Mehmood, Muhammad. 2014. « Use of Bioinformatics Tools in Different Spheres of Life Sciences ». *Journal of Data Mining in Genomics & Proteomics* 05 (02). <https://doi.org/10.4172/2153-0602.1000158>.

Al-Haggar, Mohammad, Agnieszka Madej-Pilarczyk, Lukasz Kozlowski, Janusz M. Bujnicki, Sohier Yahia, Dina Abdel-Hadi, Amany Shams, Nermin Ahmad, Sahar Hamed, et Monika Puzianowska-Kuznicka. 2012. « A Novel Homozygous p.Arg527Leu LMNA Mutation in Two Unrelated Egyptian Families Causes Overlapping Mandibuloacral Dysplasia and Progeria Syndrome ». *European Journal of Human Genetics: EJHG* 20 (11): 1134-40. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.77>.

Ashkenazy, Haim, Shiran Abadi, Eric Martz, Ofer Chay, Itay Mayrose, Tal Pupko, et Nir Ben-Tal. 2016. « ConSurf 2016: An Improved Methodology to Estimate and Visualize Evolutionary Conservation in Macromolecules ». *Nucleic Acids Research* 44 (W1): W344-350. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw408>.

Azizzadeh-Roodpish, Shima, Max H Garzon, et Sambriddhi Mainali. 2021. « Classifying Single Nucleotide Polymorphisms in Humans ». *Molecular Genetics and Genomics* 296 (5): 1161-73. <https://doi.org/10.1007/s00438-021-01805-x>.

B.

Barclay, A. Neil, et Marion H. Brown. 2006. « The SIRP Family of Receptors and Immune Regulation ». *Nature Reviews Immunology* 6 (6): 457-64. <https://doi.org/10.1038/nri1859>.

Behbahani, Mandana, Mokhtar Nosrati, Mohammad Moradi, et Hassan Mohabatkar. 2020. « Using Chou's General Pseudo Amino Acid Composition to Classify Laccases from Bacterial and Fungal Sources via Chou's Five-Step Rule ». *Applied Biochemistry and Biotechnology* 190 (3): 1035-48. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03141-8>.

Ben Chorin, Adi, Gal Masrati, Amit Kessel, Aya Narunsky, Josef Sprinzak, Shlomtzion Lahav, Haim Ashkenazy, et Nir Ben-Tal. 2020. « ConSurf-DB: An Accessible Repository for the Evolutionary Conservation Patterns of the Majority of PDB Proteins ». *Protein Science: A Publication of the Protein Society* 29 (1): 258-67. <https://doi.org/10.1002/pro.3779>.

Bromberg, Yana, et Burkhard Rost. 2007. « SNAP: Predict Effect of Non-Synonymous Polymorphisms on Function ». *Nucleic Acids Research* 35 (11): 3823-35. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm238>.

Brooke, Gary, Joanna D. Holbrook, Marion H. Brown, et A. Neil Barclay. 2004. « Human Lymphocytes Interact Directly with CD47 through a Novel Member of the Signal Regulatory Protein (SIRP) Family ». *The Journal of Immunology* 173 (4): 2562-70. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.4.2562>.

Brookes, A. J. 1999. « The Essence of SNPs ». *Gene* 234 (2): 177-86.

[https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(99\)00219-x](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(99)00219-x).

C

Capriotti, E., P. Fariselli, et R. Casadio. 2005. « I-Mutant2.0: Predicting Stability Changes upon Mutation from the Protein Sequence or Structure ». *Nucleic Acids Research* 33 (Web Server): W306-10. <https://doi.org/10.1093/nar/gki375>.

Choi, Woong, et Gyoo Yeol Jung. 2017. « Highly Multiplex and Sensitive SNP Genotyping Method Using a Three-color Fluorescence-labeled Ligase Detection Reaction Coupled with Conformation-sensitive CE ». *ELECTROPHORESIS* 38 (3-4): 513-20.

<https://doi.org/10.1002/elps.201600369>.

Choi, Yoonjeong, Gi-Hoon Nam, Gi Beom Kim, Seohyun Kim, Yoon Kyoung Kim, Seong A. Kim, Ha-Jeong Kim, Eun Jung Lee, et In-San Kim. 2021. « Nanocages Displaying SIRP γ Clusters Combined with Prophagocytic Stimulus of Phagocytes Potentiate Anti-Tumor Immunity ». *Cancer Gene Therapy* 28 (9): 960-70. <https://doi.org/10.1038/s41417-021-00372-y>.

Cordovado, S. K., M. Hendrix, C. N. Greene, S. Mochal, M. C. Earley, P. M. Farrell, M. Kharrazi, W. H. Hannon, et P. W. Mueller. 2012. « CFTR Mutation Analysis and Haplotype Associations in CF Patients ». *Molecular Genetics and Metabolism* 105 (2): 249-54.

<https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.10.013>.

D.

Dabhi, Brijesh, et Kinnari N. Mistry. 2014. « In Silico Analysis of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) in Human TNF- α Gene ». *Meta Gene* 2 (décembre):586-95.

<https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.07.005>.

Dehghan, Abbas. 2018. « Genome-Wide Association Studies ». In *Genetic Epidemiology*, édité par Evangelos Evangelou, 1793:37-49. *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7868-7_4.

Dehmani, Safa, Véronique Nerrière-Daguin, Mélanie Néel, Nathan Elain-Duret, Jean-Marie Heslan, Lyssia Belarif, Caroline Mary, et al. 2021. « SIRP γ -CD47 Interaction Positively Regulates the Activation of Human T Cells in Situation of Chronic Stimulation ». *Frontiers in Immunology* 12 (décembre):732530. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.732530>.

Dracopoli, Nicholas C., et Ann L. Boyle. 1994. *Current Protocols in Human Genetics*. New York: John Wiley & Sons.

E.

Ekins, S., J. Mestres, et B. Testa. 2007. « In Silico Pharmacology for Drug Discovery: Methods for Virtual Ligand Screening and Profiling ». *British Journal of Pharmacology* 152 (1): 9-20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>.

F.

Ferrer-Costa, C., J. L. Gelpi, L. Zamakola, I. Parraga, X. De La Cruz, et M. Orozco. 2005. « PMUT: A Web-Based Tool for the Annotation of Pathological Mutations on Proteins ». *Bioinformatics* 21 (14): 3176-78. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti486>.

Ferrer-Costa, C., M. Orozco, et X. De La Cruz. 2004. « Sequence-based Prediction of Pathological Mutations ». *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 57 (4): 811-19. <https://doi.org/10.1002/prot.20252>.

Flint, Jonathan. 2013. « GWAS ». *Current Biology* 23 (7): R265-66. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.040>.

Fukunaga, Atsushi, Hiroshi Nagai, Tetsuya Noguchi, Hideki Okazawa, Takashi Matozaki, Xijun Yu, Carl F. Lagenaur, et al. 2004. « Src Homology 2 Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatase Substrate 1 Regulates the Migration of Langerhans Cells from the Epidermis to Draining Lymph Nodes ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 172 (7): 4091-99. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.7.4091>.

G.

Gray, I. C. 2000. « Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics ». *Human Molecular Genetics* 9 (16): 2403-8. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.16.2403>.

Gromiha, M. Michael. 2010. *Protein Bioinformatics: From Sequence to Function*. Amsterdam Heidelberg: Elsevier, AP.

H.

Haig, Susan M., Whitcomb M. Bronaugh, Rachel S. Crowhurst, Jesse D'Elia, Collin A. Eagles-Smith, Clinton W. Epps, Brian Knaus, et al. 2011. « Genetic Applications in Avian Conservation ». *The Auk* 128 (2): 205-29. <https://doi.org/10.1525/auk.2011.128.2.205>.

He, Xing, et Chenqi Xu. 2020. « Immune Checkpoint Signaling and Cancer Immunotherapy ». *Cell Research* 30 (8): 660-69. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0343-4>.

I.

Ichigotani, Y., S. Matsuda, K. Machida, K. Oshima, T. Iwamoto, K. Yamaki, T. Hayakawa, et M. Hamaguchi. 2000. « Molecular Cloning of a Novel Human Gene (SIRP-B2) Which Encodes a New Member of the SIRP/SHPS-1 Protein Family ». *Journal of Human Genetics* 45 (6): 378-82. <https://doi.org/10.1007/s100380070013>.

K.

Kwok, Pui-Yan, et Xiangning Chen. 2003. « Detection of Single Nucleotide Polymorphisms ». *Current Issues in Molecular Biology* 5 (2): 43-60.

L.

Li, Song, Hongna Liu, Yingying Jia, Xianbo Mou, Yan Deng, Lin Lin, Bin Liu, et Nongyue He. 2013. « An Automatic High-Throughput Single Nucleotide Polymorphism Genotyping Approach Based on Universal Tagged Arrays and Magnetic Nanoparticles ». *Journal of Biomedical Nanotechnology* 9 (4): 689-98. <https://doi.org/10.1166/jbn.2013.1568>.

Liu, Bin, Yingying Jia, Man Ma, Zhiyang Li, Hongna Liu, Song Li, Yan Deng, et al. 2013. « High Throughput SNP Detection System Based on Magnetic Nanoparticles Separation ». *Journal of Biomedical Nanotechnology* 9 (2): 247-56. <https://doi.org/10.1166/jbn.2013.1483>.

Liu, Yuan, Hans-Jörg Bühring, Ke Zen, Stephanie L. Burst, Frederick J. Schnell, Ifor R. Williams, et Charles A. Parkos. 2002. « Signal Regulatory Protein (SIRPalpha), a Cellular Ligand for CD47, Regulates Neutrophil Transmigration ». *The Journal of Biological Chemistry* 277 (12): 10028-36. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109720200>.

M.

Mi, Huaiyu, Sagar Poudel, Anushya Muruganujan, John T. Casagrande, et Paul D. Thomas. 2016. « PANTHER Version 10: Expanded Protein Families and Functions, and Analysis Tools ». *Nucleic Acids Research* 44 (D1): D336-342. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1194>.

Mitchell, Alex, Hsin-Yu Chang, Louise Daugherty, Matthew Fraser, Sarah Hunter, Rodrigo Lopez, Craig McAnulla, et al. 2015. « The InterPro Protein Families Database: The Classification Resource after 15 Years ». *Nucleic Acids Research* 43 (D1): D213-21. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1243>.

Mohabatkar, Hassan, Samira Ebrahimi, et Mohammad Moradi. 2021. « Using Chou's Five-Steps Rule to Classify and Predict Glutathione S-Transferases with Different Machine Learning Algorithms and Pseudo Amino Acid Composition ». *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 27 (1): 309-16. <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10087-7>.

N.

Nettleship, Joanne E, Jingshan Ren, David J Scott, Nahid Rahman, Deborah Hatherley, Yuguang Zhao, David I Stuart, A Neil Barclay, et Raymond J Owens. 2013. « Crystal Structure of Signal Regulatory Protein Gamma (SIRP γ) in Complex with an Antibody Fab Fragment ». *BMC Structural Biology* 13 (1): 13. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-13-13>.

O.

Özkan Oktay, Ebru, Tuğba Kaman, Ömer Faruk Karasakal, et Vildan Enisoğlu Atalay. 2024. « In Silico Prediction and Molecular Docking of SNPs in NRP1 Gene Associated with SARS-COV-2 ». *Biochemical Genetics* 62 (1): 156-75. <https://doi.org/10.1007/s10528-023-10409-6>.

P.

Piccio, Laura, William Vermi, Kent S. Boles, Anja Fuchs, Carey A. Strader, Fabio Facchetti, Marina Cella, et Marco Colonna. 2005. « Adhesion of Human T Cells to Antigen-Presenting Cells through SIRP β -CD47 Interaction Costimulates T-Cell Proliferation ». *Blood* 105 (6): 2421-27. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2823>.

R .

Reinhold, M. I., F. P. Lindberg, G. J. Kersh, P. M. Allen, et E. J. Brown. 1997. « Costimulation of T Cell Activation by Integrin-Associated Protein (CD47) Is an Adhesion-Dependent, CD28-Independent Signaling Pathway ». *The Journal of Experimental Medicine* 185 (1): 1-11. <https://doi.org/10.1084/jem.185.1.1>.

S.

Sandell, Linnea, et Nathaniel P. Sharp. 2022. « Fitness Effects of Mutations: An Assessment of PROVEAN Predictions Using Mutation Accumulation Data ». *Genome Biology and Evolution* 14 (1): evac004. <https://doi.org/10.1093/gbe/evac004>.

Seiffert, Martina, Peter Brossart, Charles Cant, Marina Cella, Marco Colonna, Wolfram Brügger, Lothar Kanz, Axel Ullrich, et Hans-Jörg Bühring. 2001. « Signal-Regulatory Protein α (SIRP α) but Not SIRP β Is Involved in T-Cell Activation, Binds to CD47 with High Affinity, and Is Expressed on Immature CD34+CD38–hematopoietic Cells ». *Blood* 97 (9): 2741-49. <https://doi.org/10.1182/blood.V97.9.2741>.

Shastri, Barkur S. 2009. « SNPs: Impact on Gene Function and Phenotype ». In *Single Nucleotide Polymorphisms*, édité par Anton A. Komar, 578:3-22. Methods in Molecular Biology. Totowa, NJ: Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_1.

Smith, Morgan J., Lucia Pastor, Jeremy R. B. Newman, et Patrick Concannon. 2022. « Genetic Control of Splicing at SIRP γ Modulates Risk of Type 1 Diabetes ». *Diabetes* 71 (2): 350-58. <https://doi.org/10.2337/db21-0194>.

Stefanidakis, Michael, Gail Newton, Winston Y. Lee, Charles A. Parkos, et Francis W. Lusinskas. 2008. « Endothelial CD47 Interaction with SIRP γ Is Required for Human T-Cell Transendothelial Migration under Shear Flow Conditions in Vitro ». *Blood* 112 (4): 1280-89. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-01-134429>.

T.

Tang, Yongjun, Zeeshan Ali, Jianguo Dai, Xiaolong Liu, Yanqi Wu, Zhu Chen, Nongyue He, Song Li, et Lijun Wang. 2018. « Single-Nucleotide Polymorphism Genotyping of *exoS* in *Pseudomonas Aeruginosa* Using Dual-Color Fluorescence Hybridization and Magnetic Separation ». *Journal of Biomedical Nanotechnology* 14 (1): 206-14. <https://doi.org/10.1166/jbn.2018.2525>.

Taylor, M. A., et R. Abrams. 1985. « Short-Term Cognitive Effects of Unilateral and Bilateral ECT ». *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science* 146 (mars):308-11. <https://doi.org/10.1192/bjp.146.3.308>.

Ticchioni, M., M. Deckert, F. Mary, G. Bernard, E. J. Brown, et A. Bernard. 1997. « Integrin-Associated Protein (CD47) Is a Comitogenic Molecule on CD3-Activated Human T Cells ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 158 (2): 677-84.

V.

Van Beek, Ellen M., Fiona Cochrane, A. Neil Barclay, et Timo K. Van Den Berg. 2005. « Signal Regulatory Proteins in the Immune System ». *The Journal of Immunology* 175 (12): 7781-87. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.12.7781>.

Van Den Broeck, Thomas, Steven Joniau, Liesbeth Clinckemalie, Christine Helsen, Stefan Prekovic, Lien Spans, Lorenzo Tosco, Hendrik Van Poppel, et Frank Claessens. 2014. « The Role of Single Nucleotide Polymorphisms in Predicting Prostate Cancer Risk and Therapeutic Decision Making ». *BioMed Research International* 2014:1-16. <https://doi.org/10.1155/2014/627510>.

Vaser, Robert, Swarnaseetha Adusumalli, Sim Ngak Leng, Mile Sikic, et Pauline C Ng. 2016. « SIFT Missense Predictions for Genomes ». *Nature Protocols* 11 (1): 1-9. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.123>.

Venkata Subbiah, Harini, Polani Ramesh Babu, et Usha Subbiah. 2020. « In Silico Analysis of Non-Synonymous Single Nucleotide Polymorphisms of Human DEFB1 Gene ». *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 21 (1): 66, s43042-020-00110-13. <https://doi.org/10.1186/s43042-020-00110-3>.

Visser, Peter M., Matthew A. Brown, Mark I. McCarthy, et Jian Yang. 2012. « Five Years of GWAS Discovery ». *The American Journal of Human Genetics* 90 (1): 7-24. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.11.029>.

Visser, Nienke, Levi Collin Nelemans, Yuan He, Harm Jan Lourens, Macarena González Corrales, Gerwin Huls, Valerie R. Wiersma, Jan Jacob Schuringa, et Edwin Bremer. 2023. « Signal regulatory protein beta 2 is a novel positive regulator of innate anticancer immunity ». *Frontiers in Immunology* 14 (décembre):1287256. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1287256>.

W.

Wakui, Masatoshi. 2013. « [Analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs)] ». *Rinsho Byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology* 61 (11): 1008-17.

Wang, Hai-Bo, Li-Hong Ma, Ting Zhang, Kai-Chen Huang, Yuan-Di Zhao, et Tian-Cai Liu. 2020. « Simple and Accurate Visual Detection of Single Nucleotide Polymorphism Based on Colloidal Gold Nucleic Acid Strip Biosensor and Primer-Specific PCR ». *Analytica Chimica Acta* 1093 (janvier):106-14. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.048>.

Wei, Spencer C., Colm R. Duffy, et James P. Allison. 2018. « Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy ». *Cancer Discovery* 8 (9): 1069-86. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0367>.

Wenne, Roman. 2018. « Single nucleotide polymorphism markers with applications in aquaculture and assessment of its impact on natural populations ». *Aquatic Living Resources* 31:2. <https://doi.org/10.1051/alr/2017043>.

Wilcken, Rainer, GuoZhen Wang, Frank M. Boeckler, et Alan R. Fersht. 2012. « Kinetic Mechanism of P53 Oncogenic Mutant Aggregation and Its Inhibition ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (34): 13584-89. <https://doi.org/10.1073/pnas.1211550109>.

Witham, Shawn, Kyoko Takano, Charles Schwartz, et Emil Alexov. 2011. « A Missense Mutation in CLIC2 Associated with Intellectual Disability Is Predicted by in Silico Modeling to Affect Protein Stability and Dynamics ». *Proteins* 79 (8): 2444-54. <https://doi.org/10.1002/prot.23065>

Wu, Kaimin, Feizhi Kong, Jingjing Zhang, Ying Tang, Yao Chen, Long Chao, Libo Nie, et Zhao Huang. 2023. « Recent Progress in Single-Nucleotide Polymorphism Biosensors ». *Biosensors* 13 (9): 864. <https://doi.org/10.3390/bios13090864>.

Wu, Zhen-Hua, Na Li, Xiao-Feng Mei, Juan Chen, Xiao-Ze Wang, Ting-Ting Guo, Gang Chen, et al. 2022. « Preclinical Characterization of the Novel Anti-SIRP α Antibody BR105 That Targets the Myeloid Immune Checkpoint ». *Journal for Immunotherapy of Cancer* 10 (3): e004054. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-004054>.

X.

Xu, Chuan, Guoxiang Jin, Hong Wu, Wei Cui, Yu-Hui Wang, Rajesh Kumar Manne, Guihua Wang, et al. 2022. « SIRP γ -Expressing Cancer Stem-like Cells Promote Immune Escape of Lung Cancer via Hippo Signaling ». *Journal of Clinical Investigation* 132 (5): e141797. <https://doi.org/10.1172/JCI141797>.

Y.

Yang, Shaodi, Haiyan Guo, Benjie Wei, Shengcui Zhu, Yanlin Cai, Pei Jiang, et Jianxin Tang. 2014. « Association of miR-502-Binding Site Single Nucleotide Polymorphism in the 3'′-Untranslated Region of SET8 and TP53 Codon 72 Polymorphism with Non-Small Cell Lung Cancer in Chinese Population ». *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 46 (2): 149-54. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmt138>.

ANNEXES

ANNEXES

dbSNPrs# cluster id	Amino Acide	SIFT Prediction	SIFTscore	PolyPhen Prediction	PolyPhen Score	Provean Prediction	Provean score	Panther prediction	Pdel
rs1275372380	P2S	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.934	Neutral	-1.023	Probably Benign	0.27
rs768767170	P2L	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.996	Neutral	-1.107	Probably Benign	0.27
rs201306847	P4S	Deleterious	0.00	Benign	0.168	Neutral	-1.246	Probably Benign	0.17
	P4T	Deleterious	0.00	Benign	0.139	Neutral	-1.286	Probably Benign	0.17
rs371896459	P4R	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.948	Neutral	-1.734	Probably Benign	0.17
rs6074959	A5S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.991	Neutral	-0.736	Probably Benign	0.17
rs1281567353	S6F	Deleterious	0.00	Benign	0.090	Neutral	-1.630	Probably Benign	0.17
rs199556654	P8S	Deleterious	0.00	Benign	0.002	Neutral	-1.486	Probably Benign	0.17
rs2091983834	H9Y	Deleterious	0.00	Benign	0.020	Neutral	-1.174	Probably Benign	0.17
rs781714804	H9L	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.577	Neutral	-2.018	Probably Benign	0.17
rs144234748	H9Q	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.868	Neutral	-1.507	Probably Benign	0.17
rs747567133	P11R	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.987	Deleterious	-3.861	Probably Benign	0.17
rs778205397	G12C	Tolerated	0.07	Benign	0.002	Neutral	-1.012	Probably benign	0.17
rs2091983737	G12V	Tolerated	0.11	Benign	0.231	Neutral	-0.342	Probably Benign	0.17
	G12D	Tolerated	0.23	Benign	0.421	Neutral	-0.777	Probably Benign	0.17
rs371163922	P13S	Tolerated	0.12	Possibly Damaging	0.536	Neutral	-2.478	Probably Benign	0.17
rs2122590666	F14L	Tolerated	0.59	Benign	0.001	Neutral	-0.143	Probably	0.17

								Benign	
rs867272459	F14L								
rs2091983609	T18S	Tolerated	0.56	Benign	0.016	Neutral	-0.207	Probably Benign	0.17
rs752193069	L19V	Tolerated	0.13	Probably Damaging	1.000	Neutral	-1.411	Probably Damaging	0.78
rs2091983560	L19P	Tolerated	0.06	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.707	Probably Damaging	0.78
rs1230063434	L20P	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.027	Probably Damaging	0.78
rs764816031	G22E	Tolerated	0.10	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.646	Probably Benign	0.17
rs139502650	L23H	Tolerated	0.07	Possibly Damaging	0.731	Deleterious	-2.509	Probably Benign	0.17
rs753560324	T24R	Deleterious	0.02	Probably Damaging	0.973	Deleterious	-2.592	Probably Benign	0.17
rs760442783	E25K	Tolerated	0.87	Benign	0.121	Neutral	-0.243	Probably Benign	0.17
rs368139177	V26 M	Tolerated	0.06	Probably Damaging	0.980	Neutral	-1.631	Probably Benign	0.17
rs1183850080	V26G	Deleterious	0.02	Benign	0.003	Neutral	-1.164	Probably Benign	0.17
	V26A	Tolerated	0.22	Benign	0.001	Neutral	-0.366	Probably Benign	0.17
	V26E	Tolerated	0.05	Benign	0.152	Deleterious	-2.945	Probably Benign	0.17
rs750234705	A27S	Tolerated	0.08	Possibly Damaging	0.736	Neutral	-1.855	Probably Benign	0.17
	A27T	Deleterious	0.04	Benign	0.201	Neutral	-2.055	Probably Benign	0.17
rs761688818	G28S	Tolerated	0.37	Possibly Damaging	0.847	Deleterious	-3.139	Probably Benign	0.17
rs752758859	G28D	Tolerated	0.12	Possibly Damaging	0.951	Deleterious	-4.529	Probably Benign	0.17
rs759749841	E29G	Tolerated	0.30	Benign	0.044	Deleterious	-3.471	Probably Benign	0.17
rs776991507	E30Q	Tolerated	0.49	Benign	0.039	Neutral	-0.720	Probably Benign	0.17
rs771321985	E30G	Tolerated	0.34	Benign	0.335	Neutral	-2.379	Probably Benign	0.17
rs201954358	E30D	Tolerated	0.58	Benign	0.005	Neutral	-1.382	probably benign	0.17
rs2091922669	E31K	Tolerated	0.06	Probably Damaging	1.000	Neutral	-2.424	probably damaging	0.78
rs772559713	E31G	Deleterious	0.03	Probably Damaging	0.973	Deleterious	-3.464	probably damaging	0.78
rs779451925	L32I	Tolerated	0.07	Possibly Damaging	0.948	Neutral	-1.843	probably benign	0.17
rs576810342	Q33H	Tolerated	0.11	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.090	probably damaging	0.78
rs960986801	M34 V	Tolerated	1.00	Benign	0.019	Neutral	2.464	probably benign	0.17
rs375060745	M34I	Tolerated	0.11	Benign	0.000	Neutral	1.584	probably benign	0.17
rs202224518	Q36R	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.812	probably damaging	0.78
rs2091922387	P37S	Tolerated	0.10	Probably Damaging	0.998	Deleterious	-6.904	probably damaging	0.78
rs1568735963	P37L	Deleterious	0.02	Probably	0.996	Deleter	-8.726	probably	0.78

				Damaging		ious		damaging	
rs780854234	L40I	Tolerated	0.41	Possibly Damaging	0.762	Neutral	-0.185	probably benign	0.17
rs757162144	L42F	Tolerated	0.09	Benign	0.011	Neutral	-0.582	probably benign	0.17
rs2091922200	V43L	Deleterious	0.00	Benign	0.353	Deleterious	-2.653	probably benign	0.17
	V43I	Deleterious	0.00	Benign	0.353	Neutral	-0.869	probably benign	0.17
rs770579012	V43A	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.996	Deleterious	-3.696	probably benign	0.17
rs751532170	T44P	Tolerated	0.25	Benign	0.011	Neutral	-1.604	probably benign	0.17
rs1188935483	T44K	Tolerated	0.08	Benign	0.021	Neutral	-1.737	probably benign	0.17
rs775245375	V45A	Tolerated	1.00	Benign	0.017	Neutral	3.157	probably benign	0.17
rs2091922026	G46V	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.578	probably damaging	0.78
rs754024064	K47N	Tolerated	0.22	Benign	0.006	Neutral	-0.667	probably benign	0.17
rs78831862	T48P	deleterious	0.02	Benign	0.042	Deleterious	-3.491	probably benign	0.17
rs2091921878	T48I	Deleterious	0.01	Benign	0.087	Deleterious	-3.920	probably benign	0.17
rs1410500857	A49P	Tolerated	0.07	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-4.084	probably benign	0.17
	A49T	Tolerated	0.32	Possibly Damaging	0.513	Deleterious	-2.819	probably benign	0.17
rs760807673	A49V	Tolerated	0.46	Benign	0.123	Neutral	-2.382	probably benign	0.17
	A49G	Deleterious	0.04	Probably Damaging	0.994	Deleterious	-3.510	probably benign	0.17
rs773564663	T50S	Tolerated	0.25	Probably Damaging	0.994	Deleterious	-3.421	probably damaging	0.78
rs772308141	L51P	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.690	probably damaging	0.78
rs143978848	T54I	Deleterious	0.02	Possibly Damaging	0.964	Deleterious	-4.834	probably benign	0.17
rs1368351044	T56A	Tolerated	0.26	Probably Damaging	0.982	Deleterious	-4.243	probably benign	0.17
rs2122545478	T56N	Tolerated	0.21	Probably Damaging	0.959	Deleterious	-3.895	probably benign	0.17
rs138452343	V61M	Deleterious	0.04	Probably Damaging	0.972	Neutral	-2.303	probably benign	0.17
rs200917950	P63A	Tolerated	0.09	Probably Damaging	0.995	Deleterious	-6.409	probably damaging	0.78
rs62641738	V64L	Tolerated	0.25	Benign	0.039	Neutral	-1.469	probably benign	0.17
	V64I	Tolerated	1.00	Benign	0.004	Neutral	0.018	probably benign	0.17
rs1434576640	L65M	Tolerated	0.15	Benign	0.031	Neutral	0.974	probably benign	0.17
rs368412754	L65P	Tolerated	0.21	Probably Damaging	0.984	Neutral	-0.056	probably benign	0.17
	L65Q	Tolerated	0.49	Benign	0.020	Neutral	2.605	probably benign	0.17
rs143474967	W66L	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-12.532	probably damaging	0.78
rs148010539	W66C	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-12.532	probably damaging	0.78
rs1278147153	F67L	Tolerated	0.15	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.696	probably damaging	0.78
rs2091921283	R68K	Tolerated	0.60	Benign	0.363	Neutral	-1.253	probably benign	0.17
rs2091921269	G69R	Deleterious	0.04	Probably Damaging	0.996	Deleterious	-7.712	probably benign	0.17
rs1209729465	V70F	Tolerated	0.05	Benign	0.022	Neutral	-1.944	probably benign	0.17
rs185871223	V70A	Tolerated	1.00	Benign	0.000	Neutral	0.329	probably benign	0.17
	V70D	Tolerated	0.32	Benign	0.156	Neutral	-1.063	probably benign	0.17

rs2091921184	G71R	Deleterious	0.01	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-7.175	probably damaging	0.78
rs376352368	P72S	Tolerated	0.15	Possibly Damaging	0.604	Deleterious	-4.364	probably benign	0.17
	P72A	Tolerated	0.41	Benign	0.035	Deleterious	-4.667	probably benign	0.17
rs1243589287	P72R	Tolerated	0.10	Possibly Damaging	0.705	Deleterious	-4.565	probably benign	0.17
	P72Q	Tolerated	0.54	Benign	0.139	Deleterious	-3.472	probably benign	0.17
rs143441100	G73S	Tolerated	0.40	Benign	0.002	Neutral	-1.619	probably benign	0.17
rs2091921079	G73D	Tolerated	0.19	Benign	0.002	Neutral	-1.816	probably benign	0.17
rs201956131	R74W	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-7.448	probably damaging	0.78
rs750582002	R74L	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.541	probably damaging	0.78
	R74Q	Tolerated	0.13	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.448	probably damaging	0.78
rs750582002	E75Q	Tolerated	0.46	Benign	0.091	Neutral	-1.610	probably benign	0.17
	E75K	Tolerated	0.67	Benign	0.046	Deleterious	-2.595	probably benign	0.17
rs1362929974	E75D	Tolerated	0.44	Possibly Damaging	0.895	Neutral	-2.407	probably benign	0.17
rs2091920904	N79S	Tolerated	0.49	Benign	0.009	Neutral	-0.145	probably benign	0.17
rs138635169	Q80K	Tolerated	1.00	Benign	0.000	Neutral	-0.948	probably benign	0.17
rs1195538425	K81Q	Tolerated	0.31	Benign	0.063	Deleterious	-2.878	probably benign	0.17
rs763481309	K81R	Tolerated	0.61	Benign	0.008	Neutral	-2.013	probably benign	0.17
rs2091920753	G83V	Tolerated	0.22	Possibly Damaging	0.492	Deleterious	-4.631	probably benign	0.17
rs2091920695	P86S	Tolerated	0.08	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-7.617	probably damaging	0.78
rs775015713	V88I	Tolerated	0.38	Benign	0.155	Neutral	-0.632	probably benign	0.17
rs2091920607	T89K	Tolerated	0.13	Possibly Damaging	0.822	Deleterious	-5.448	probably benign	0.17
rs770723293	T90A	Tolerated	0.16	Benign	0.000	Neutral	-1.997	probably benign	0.17
rs745421325	V91I	Tolerated	0.18	Benign	0.009	Neutral	-0.701	probably damaging	0.78
rs917125051	D93E	Tolerated	0.76	Benign	0.096	Deleterious	-3.785	probably benign	0.17
rs2091920404	L94F	Tolerated	0.08	Benign	0.000	Neutral	-0.533	probably benign	0.17
rs1555815213	L94P	Tolerated	0.21	Benign	0.014	Neutral	0.134	probably benign	0.17
rs1392532853	T95I	Tolerated	0.10	Probably Damaging	0.984	Deleterious	-5.755	probably benign	0.17
rs2091920288	K96N	Deleterious	0.03	Possibly Damaging	0.786	Deleterious	-3.688	probably benign	0.17
rs2091920235	N98D	Tolerated	0.20	Benign	0.076	Deleterious	-2.551	probably benign	0.17
rs2091920209	N98K	Tolerated	0.07	Possibly Damaging	0.471	Deleterious	-4.597	probably benign	0.17

rs2091920182	N99Y	Tolerated	0.13	Probably damaging	1.000	Deleterious	-7.058	probably benign	0.17
rs1254431356	M100V	Tolerated	0.61	Possibly Damaging	0.869	Neutral	-1.551	probably benign	0.17
	M100L	Tolerated	0.95	Benign	0.01	Neutral	-0.958	probably benign	0.17
rs527643862	M100I	Tolerated	0.50	Benign	0.210	Neutral	-1.753	probably benign	0.17
rs575352199	D101N	Deleterious	0.01	PROBABLY DAMAGING	0.994	Deleterious	-4.839	probably damaging	0.78
rs770761854	D101G	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.781	probably damaging	0.78
rs746738813	S103F	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.582	probably damaging	0.78
rs747816100	I104V	Tolerated	0.06	Probably Damaging	0.989	Neutral	-0.887	probably damaging	0.78
rs1203086520	I104T	Tolerated	0.07	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.602	probably damaging	0.78
	I104N	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.451	probably damaging	0.78
rs777710856	R105C	Tolerated	0.13	Probably Damaging	0.995	Deleterious	-6.252	probably benign	0.17
	R105S	Tolerated	1.00	Probably Damaging	0.961	Deleterious	-4.357	probably benign	0.17
rs200001337	R105L	Tolerated	0.16	Possibly Damaging	0.940	Deleterious	-5.660	probably benign	0.17
	R105H	Tolerated	0.09	Benign	0.175	Neutral	-2.432	probably benign	0.17
rs748079541	I106S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.614	probably damaging	0.78
	I106T	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.702	probably damaging	0.78
rs370269730	S107G	Deleterious	0.02	Possibly Damaging	0.733	Deleterious	-2.953	probably benign	0.17
rs2091919816	S107N	deleterious	0.02	Benign	0.049	Neutral	-1.736	probably benign	0.17
rs62641735	S108N	Tolerated	1.00	Benign	0.000	Neutral	3.621	probably benign	0.17
rs2091919719	T110I	Deleterious	0.02	Probably Damaging	0.975	Deleterious	-5.517	probably benign	0.17
	T110N	Deleterious	0.03	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.749	probably benign	0.17
rs983489368	P111S	Tolerated	0.09	Probably Damaging	0.979	Deleterious	-6.763	probably damaging	0.78
rs535216502	A112E	Tolerated	0.34	Benign	0.094	Deleterious	-3.722	probably benign	0.17
rs1339573943	V114	Tolerated	1.00	Benign	0.000	Neutral	2.335	probably benign	0.17

	A								
rs1201647688	G115 C	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.450	probably damaging	0.78
	G115 S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.639	probably damaging	0.78
rs1307066876	T116I	Tolerated	0.15	Possibly Damaging	0.891	Deleterious	-4.229	probably benign	0.17
rs1371812118	Y117 H	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.436	probably damaging	0.78
rs751880933	C119 R	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-11.310	probably damaging	0.78
	C119 S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-9.335	probably damaging	0.78
rs1410520246	V120 M	Tolerated	0.07	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-2.776	probably damaging	0.78
rs2091919390	V120 E	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.486	probably damaging	0.78
rs1167335814	K121 Q	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.714	probably damaging	0.78
rs1424811521	K121 R	Tolerated	0.16	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-2.844	probably damaging	0.78
rs1251323533	F122 V	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-5.994	probably benign	0.17
rs202204320	R123 Q	Tolerated	0.41	Benign	0.137	Neutral	0.049	probably benign	0.17
rs1355539089	G125 E	Tolerated	0.23	Benign	0.386	Deleterious	-3.886	probably damaging	0.78
rs200195769	S126 G	Tolerated	0.38	Benign	0.062	Neutral	-2.109	probably benign	0.17
rs1329941693	S126 R	Tolerated	0.57	Possibly Damaging	0.912	Neutral	-2.474	probably benign	0.17
rs1335190516	P127 S	Tolerated	0.85	Benign	0.064	Deleterious	-3.908	Probably Benign	0.17
	P127 T	Tolerated	0.51	Benign	0.00	Deleterious	-4.196	Probably Benign	0.17
rs897044300	P127 H	Tolerated	0.12	Benign	0.001	Deleterious	-5.369	Probably Benign	0.17
rs746685702	E128 D	Tolerated	0.61	Benign	0.000	Neutral	0.888	Probably Benign	0.17
rs773052108	N129 D	Tolerated	0.94	Benign	0.001	Neutral	2.292	Probably Benign	0.17
rs146471324	N129 K	Tolerated	0.45	Possibly Damaging	0.744	Neutral	-1.439	Probably Benign	0.17
rs1385794032	V130 M	Tolerated	0.75	Benign	0.001	Neutral	-1.670	Probably Benign	0.17

rs2091918762	V130 A	Tolerated	0.26	Benign	0.071	Deleterious	-2.587	Probably Benign	0.17
rs62641733	E131 K	Tolerated	0.17	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-3.741	Probably Benign	0.17
rs2091918660	E131 G	Tolerated	0.10	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.623	Probably Benign	0.17
rs1389181008	E131 D	Tolerated	0.41	Probably Damaging	0.974	Deleterious	-2.852	Probably Benign	0.17
rs778704272	F132 L	Tolerated	0.35	Benign	0.039	Neutral	-1.898	Probably Benign	0.17
rs2091918545	F132 Y	Tolerated	0.23	Benign	0.013	Neutral	-1.890	Probably Benign	0.17
rs570107389	K133 E	Deleterious	0.02	Possibly Damaging	0.646	Deleterious	-2.818	Probably Benign	0.17
rs1568735266	K133 T	Deleterious	0.02	Probably Damaging	0.995	Deleterious	-4.599	Probably Benign	0.17
rs745869898	K133 N	Deleterious	0.01	Probably Damaging	0.998	Deleterious	-3.736	Probably Benign	0.17
rs1436050511	G135 R	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-7.704	Probably Damaging	0.78
rs757421982	G135 A	Tolerated	0.46	Probably Damaging	0.998	Deleterious	-5.781	Probably Damaging	0.78
rs895636620	P136 A	Tolerated	0.69	Benign	0.008	Deleterious	-3.814	Probably Benign	0.17
rs778009753	G137 D	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.716	Probably Damaging	0.78
rs1211510692	M140 I	Tolerated	0.33	Benign	0.016	Neutral	0.385	Probably Benign	0.17
rs370649250	A141 V	Tolerated	0.70	Benign	0.001	Neutral	-0.412	Probably Benign	0.17
	A141 G	Tolerated	0.31	Benign	0.002	Neutral	-1.559	Probably Benign	0.17
rs1468867126	G143 V	Tolerated	0.38	Benign	0.002	Neutral	-1.007	Probably Benign	0.17
	G143 D	Tolerated	0.49	Benign	0.003	Neutral	-0.405	Probably Benign	0.17
rs2091918041	A144 T	Tolerated	0.23	Benign	0.286	Deleterious	-3.475	Probably Benign	0.17
rs777955269	K145 T	Deleterious	0.01	Possibly Damaging	0.934	Deleterious	-5.354	Probably Benign	0.17
rs758657511	P146 S	Deleterious	0.03	Probably Damaging	0.977	Deleterious	-7.001	Probably Benign	0.17
	P146 T	Deleterious	0.02	Benign	0.422	Deleterious	-6.967	Probably Benign	0.17
rs752934849	P146 L	Deleterious	0.01	Probably Damaging	0.996	Deleterious	-8.822	Probably Benign	0.17
rs61738503	A148 V	Tolerated	0.26	Benign	0.005	Neutral	-0.692	Probably Benign	0.17
	A148 D	Tolerated	0.55	Benign	0.165	Neutral	-1.283	Probably Benign	0.17
rs1568726383	P149 H	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.022	Probably Benign	0.17
rs373555109	V150 L	Tolerated	0.64	Benign	0.007	Neutral	-1.846	Probably Benign	0.17
	V150 M	Tolerated	0.22	Possibly Damaging	0.477	Neutral	-1.457	Probably Benign	0.17
rs2091803804	V151 A	Deleterious	0.02	Possibly Damaging	0.943	Deleterious	-3.612	Probably Benign	0.17
rs144100952	L152	Tolerated	1.00	Benign	0.001	Neutral	3.107	Probably	0.17

	S							Benign	
rs191856632	G153 S	Deleterious	0.03	Possibly Damaging	0.593	Deleterious	-4.436	Probably Benign	0.17
rs773968801	G153 D	Deleterious	0.02	Probably Damaging	0.991	Deleterious	-5.628	Probably Benign	0.17
rs768475171	P154 L	Tolerated	0.27	Benign	0.076	Deleterious	-8.176	Probably Benign	0.17
rs1290175888	A155 V	Tolerated	0.19	Benign	0.183	Neutral	-2.065	Probably Benign	0.17
	A155 E	Tolerated	0.83	Benign	0.189	Neutral	-2.297	Probably Benign	0.17
rs775400271	A156 T	Tolerated	0.30	Benign	0.000	Neutral	-1.796	Probably Benign	0.17
rs769779237	A156 V	Tolerated	0.27	Benign	0.001	Neutral	-1.708	Probably Benign	0.17
rs1242428697	R157 G	Tolerated	0.50	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.014	Probably Benign	0.17
rs1600200069	R157 T	Tolerated	0.32	Probably Damaging	0.992	Deleterious	-5.209	Probably Benign	0.17
rs368883967	R157 S	Tolerated	0.63	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-5.148	Probably Benign	0.17
rs1440335373	T159I	Tolerated	0.25	Benign	0.033	Deleterious	-3.695	Probably Benign	0.17
rs2091803328	P160 A	Tolerated	0.16	Benign	0.036	Deleterious	-5.076	Probably Benign	0.17
	P160 T	Tolerated	0.08	Benign	0.113	Deleterious	-5.245	Probably Benign	0.17
rs750722835	E161 Q	Tolerated	0.56	Benign	0.003	Neutral	-0.777	Probably Benign	0.17
	E161 K	Tolerated	0.84	Benign	0.005	Neutral	-1.708	Probably Benign	0.17
rs1282079267	T163 A	Tolerated	0.24	Possibly Damaging	0.522	Deleterious	-3.409	Probably Benign	0.17
rs748421244	V164 M	Tolerated	0.12	Possibly Damaging	0.862	Neutral	-2.248	Probably Benign	0.17
rs2091803147	S165 C	Deleterious	0.02	Probably Damaging	0.991	Deleterious	-3.515	Probably Benign	0.17
rs779049465	S165 R	Tolerated	0.22	Benign	0.035	Neutral	-2.405	Probably Benign	0.17
rs1600199998	T167 N	Tolerated	0.19	Probably Damaging	0.971	Deleterious	-4.133	Probably Benign	0.17
rs1568726273	C168 S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.845	Probably damaging	0.78
	C168 Y	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-9.706	Probably damaging	0.78
rs1443751638	E169 D	Tolerated	0.36	Benign	0.051	Neutral	-1.766	Probably Benign	0.17
rs755370269	H171 R	Tolerated	0.22	Benign	0.010	Deleterious	-5.560	Probably Benign	0.17
rs2277761	H171 Q	Tolerated	0.19	Probably Damaging	0.986	Deleterious	-5.584	Probably Benign	0.17
rs937565446	G172 R	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-6.581	Probably Benign	0.17
rs749913117	G172 A	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.896	Deleterious	-4.747	Probably Benign	0.17
	G172 D	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.982	Deleterious	-5.809	Probably Benign	0.17
rs1208182683	F173 L	Tolerated	0.32	Probably Damaging	0.996	Deleterious	-5.321	Probably Benign	0.17

rs986816973	F173 S	Tolerated	0.51	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-7.049	Probably Benign	0.17
rs767157809	S174 P	Tolerated	0.10	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-4.030	Probably Benign	0.17
rs756766017	S174 F	Deleterious	0.02	Benign	0.080	Deleterious	-3.298	Probably Benign	0.17
	S174 Y	Deleterious	0.03	Possibly Damaging	0.856	Deleterious	-3.739	Probably Benign	0.17
rs1383846293	P175 L	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-8.885	Probably damaging	0.78
rs763718809	D177 N	Tolerated	0.81	Benign	0.000	Neutral	2.119	Probably Benign	0.17
rs374688687	I178 V	Tolerated	0.68	Possibly Damaging	0.775	Neutral	-0.754	Probably Benign	0.17
rs775275224	I178T	Tolerated	0.21	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.242	Probably Benign	0.17
	I178 N	Deleterious	0.04	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.083	Probably Benign	0.17
rs766150112	T179 N	Tolerated	0.52	Probably Damaging	0.992	Deleterious	-2.648	Probably Benign	0.17
rs1215156919	K181 R	Tolerated	0.33	Benign	0.236	Neutral	-1.474	Probably Benign	0.17
rs2091802407	W182 S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-12.398	Probably damaging	0.78
rs980811811	W182 C	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-11.518	Probably damaging	0.78
rs759496846	F183 L	Tolerated	0.24	Probably Damaging	0.988	Deleterious	-5.160	Probably Benign	0.17
rs970408736	F183 S	Tolerated	0.06	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.960	Probably Benign	0.17
	F183 Y	Tolerated	0.31	Possibly Damaging	0.860	Neutral	-2.482	Probably Benign	0.17
rs1568726146	K184 R	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.886	Neutral	-2.388	Probably Benign	0.17
rs2091802234	G186 E	Tolerated	0.16	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-6.527	Probably Benign	0.17
rs773223492	E188 K	Deleterious	0.00	Benign	0.158	Deleterious	-3.365	Probably Benign	0.17
rs2091802178	E188 G	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.988	Deleterious	-5.893	Probably Benign	0.17
rs772163644	S190 L	Tolerated	0.22	Possibly Damaging	0.923	Deleterious	-2.993	Probably Benign	0.17
rs1482530255	Q193 P	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.132	Probably Benign	0.17
rs2091801932	T194 A	Tolerated	0.07	Probably Damaging	0.996	Deleterious	-4.186	Probably Benign	0.17
rs917611496	T194 S	Tolerated	0.15	Probably Damaging	0.991	Deleterious	-3.332	Probably Benign	0.17
	T194 N	Tolerated	0.07	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.253	Probably Benign	0.17
rs982508134	N195 S	Tolerated	1.00	Benign	0.008	Neutral	0.464	Probably Benign	0.17
rs768776233	N195 K	Tolerated	0.85	Benign	0.052	Neutral	-1.207	Probably Benign	0.17
rs749599207	D197 E	Tolerated	0.68	Benign	0.013	Neutral	-1.144	Probably Benign	0.17
rs1448884872	P198 S	Tolerated	0.06	Probably Damaging	0.988	Deleterious	-5.645	Probably Benign	0.17
rs780598194	P198	Deleterious	0.03	Possibly	0.811	Deleter	-7.020	Probably	0.17

	L			Damaging		ious		Benign	
rs1417353190	T199 A	Tolerated	0.82	Benign	0.000	Neutral	0.152	Probably Benign	0.17
rs142262583	T199 K	Tolerated	0.87	Benign	0.000	Neutral	0.455	Probably Benign	0.17
rs995344303	Q201 H	Tolerated	0.06	Benign	0.000	Neutral	-0.663	Probably Benign	0.17
rs2091801445	S202 C	Deleterious	0.05	Benign	0.121	Deleterious	-3.204	Probably Benign	0.17
rs1294317660	S202 T	Tolerated	0.09	Benign	0.286	Neutral	-1.622	Probably Benign	0.17
	S202 N	Tolerated	0.85	Benign	0.001	Neutral	-0.111	Probably Benign	0.17
rs746356323	V203 E	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.436	Probably Benign	0.17
rs1348870294	A204 S	Tolerated	1.00	Benign	0.000	Neutral	2.549	Probably Benign	0.17
	A204 T	Tolerated	0.83	Benign	0.000	Neutral	0.012	Probably Benign	0.17
rs1334973840	A204 V	Deleterious	0.02	Benign	0.004	Deleterious	-2.712	Probably Benign	0.17
rs756787375	S206 R	Deleterious	0.01	Possibly Damaging	0.484	Deleterious	-2.619	Probably Benign	0.17
rs534699318	R208 C	Tolerated	0.05	Probably Damaging	1.000	Neutral	-0.200	Probably Benign	0.17
rs570506979	R208 H	Tolerated	0.24	Benign	0.018	Neutral	0.420	Probably Benign	0.17
rs758047919	A211 V	Tolerated	1.00	Benign	0.048	Neutral	-0.711	Probably Benign	0.17
	A211 G	Deleterious	0.03	Possibly Damaging	0.898	Deleterious	-2.721	Probably Benign	0.17
rs2091800992	R212 K	Tolerated	1.00	Benign	0.003	Neutral	0.466	Probably Benign	0.17
rs1281713774	V214 I	Tolerated	0.20	Benign	0.142	Neutral	-0.651	Probably Benign	0.17
rs200104645	L215 V	Tolerated	0.57	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-2.759	Probably Benign	0.17
rs1263158236	D216 Y	Tolerated	0.06	Possibly Damaging	0.642	Neutral	-1.600	Probably Benign	0.17
rs761896989	D216 V	Tolerated	0.28	Benign	0.009	Neutral	-0.320	Probably Benign	0.17
	D216 G	Tolerated	0.43	Benign	0.001	Neutral	0.181	Probably Benign	0.17
rs768885801	D216 E	Tolerated	0.99	Benign	0.000	Neutral	0.062	Probably Benign	0.17
rs1219947167	P217 T	Tolerated	0.46	Benign	0.006	Neutral	-1.545	Probably Benign	0.17
rs775904582	P217 L	Tolerated	0.19	Benign	0.005	Neutral	-2.438	Probably Benign	0.17
	P217 H	Tolerated	0.12	Benign	0.021	Deleterious	-3.028	Probably Benign	0.17
rs746301292	D219 N	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.903	Probably Benign	0.17
rs186182902	V220 I	Tolerated	0.88	Benign	0.048	Neutral	-0.368	Probably Benign	0.17
rs746459913	V220 A	Tolerated	0.17	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-3.382	Probably Benign	0.17
rs375274090	R221 C	Tolerated	0.06	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.876	Probably Benign	0.17

rs148726891	R221 P	Tolerated	0.22	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-3.456	Probably Benign	0.17
	R221 H	Tolerated	0.32	Benign	0.003	Neutral	2.456	Probably Benign	0.17
rs372433614	S222 P	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.336	Probably Benign	0.17
rs867426310	S222 F	Deleterious	0.02	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.890	Probably Benign	0.17
rs2091800152	V224 I	Tolerated	0.46	Benign	0.378	Neutral	-0.721	Probably Benign	0.17
rs2091800091	I225 V	Tolerated	0.52	Benign	0.113	Neutral	-0.645	Probably Benign	0.17
rs147250447	E227 K	Tolerated	0.25	Probably Damaging	0.994	Deleterious	-3.288	Probably Benign	0.17
rs766277023	V228 M	Tolerated	0.11	Probably Damaging	0.994	Deleterious	-2.683	Probably Benign	0.17
rs760563124	A229 S	Tolerated	0.54	Benign	0.001	Neutral	-1.627	Probably Benign	0.17
rs763166687	V231 I	Tolerated	0.81	Benign	0.001	Neutral	-0.505	Probably Benign	0.17
rs147498898	L233 F	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.593	Probably Benign	0.17
rs1439146809	Q234 K	Tolerated	0.66	Benign	0.039	Deleterious	-2.784	Probably Benign	0.17
rs569541055	Q234 H	Tolerated	0.26	Benign	0.009	Deleterious	-3.692	Probably Benign	0.17
rs917574984	G235 R	Tolerated	0.19	Possibly Damaging	0.497	Deleterious	-4.689	Probably Benign	0.17
rs1316345736	D236 Y	Tolerated	0.05	Probably Damaging	0.987	Neutral	-1.645	Probably Benign	0.17
	D236 N	Tolerated	0.55	Benign	0.311	Neutral	0.258	Probably Benign	0.17
rs982455872	L238 F	Tolerated	0.10	Probably Damaging	0.974	Deleterious	-3.622	Probably Benign	0.17
rs776862353	L238 H	Tolerated	0.13	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.013	Probably Benign	0.17
rs771425697	R239 C	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.547	Probably Benign	0.17
	R239 G	Tolerated	0.29	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-5.187	Probably Benign	0.17
rs370463374	R239 P	Tolerated	0.23	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.215	Probably Benign	0.17
	R239 H	Tolerated	0.22	Possibly Damaging	0.483	Deleterious	-3.700	Probably Benign	0.17
rs941997415	T241 A	Tolerated	0.10	Benign	0.267	Deleterious	-3.371	Probably Benign	0.17
rs1262888704	T241 S	Tolerated	0.36	Possibly Damaging	0.514	Deleterious	-2.548	Probably Benign	0.17
rs951073014	N243 K	Tolerated	1.00	Possibly Damaging	0.638	Deleterious	-5.048	Probably Benign	0.17
rs1311830350	S245 P	Tolerated	0.07	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.558	Probably Benign	0.17
rs778389847	I248 V	Tolerated	0.57	Benign	0.251	Neutral	-0.898	Probably Benign	0.17
rs1241097052	I248T	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.008	Probably Benign	0.17
rs771536811	R249 G	Deleterious	0.03	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.452	Probably Benign	0.17
rs747718268	R249	Tolerated	0.22	Probably	0.973	Neutral	-2.154	Probably	0.17

	Q			Damaging				Benign	
rs778483181	V250 F	Deleterious	0.03	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.297	Probably Benign	0.17
	V250 I	Tolerated	0.51	Probably Damaging	0.997	Neutral	-0.859	Probably Benign	0.17
rs2122438746	P251 T	Tolerated	0.49	Possibly Damaging	0.777	Deleterious	-4.555	Probably Benign	0.17
rs768249416	T253 A	Tolerated	0.18	Possibly Damaging	0.829	Deleterious	-3.850	Probably Benign	0.17
rs1423634389	L254 W	Deleterious	0.01	Probably Damaging	0.995	Deleterious	-4.653	Probably Benign	0.17
rs1290244218	V256 F	Tolerated	0.15	Probably Damaging	0.982	Deleterious	-3.884	Probably Benign	0.17
rs370231533	Q258 L	Tolerated	0.09	Possibly Damaging	0.788	Deleterious	-4.807	Probably Benign	0.17
	Q258 R	Tolerated	0.15	Benign	0.335	Deleterious	-2.511	Probably Benign	0.17
rs781217864	P260 S	Tolerated	0.16	Benign	0.190	Deleterious	-4.614	Probably Benign	0.17
rs548420665	M261 V	Tolerated	0.71	Benign	0.007	Neutral	0.038	Probably Benign	0.17
PAGE 06									
rs2122438376	M261 R	Tolerated	0.49	Benign	0.000	Neutral	-2.259	Probably Benign	0.17
rs1032983737	R262 M	Deleterious	0.02	Benign	0.084	Neutral	0.657	Probably Benign	0.17
	R262 K	Tolerated	0.19	Possibly Damaging	0.777	Neutral	0.236	Probably Benign	0.17
rs2091791834	R262 S	Tolerated	0.46	Benign	0.445	Neutral	0.563	Probably Benign	0.17
rs200055053	V263 M	Tolerated	0.09	Benign	0.000	Neutral	-0.442	Probably Benign	0.17
rs6043409	V263 A	Tolerated	1.00	Benign	0.000	Neutral	2.102	Probably Benign	0.17
	V263 E	Tolerated	0.90	Benign	0.002	Neutral	-0.059	Probably Benign	0.17
rs753971956	G264 E	Tolerated	0.70	Benign	0.000	Neutral	-2.015	Probably Benign	0.17
rs970135212	N265 T	Tolerated	0.05	Benign	0.010	Deleterious	-2.897	Probably Benign	0.17
rs1389223302	Q266 R	Tolerated	0.35	Benign	0.026	Deleterious	-2.841	Probably Benign	0.17
rs1354029029	V267 A	Tolerated	0.25	Benign	0.001	Neutral	-2.392	Probably Benign	0.17
rs760893584	N268 H	Tolerated	0.37	Probably Damaging	0.993	Deleterious	-2.918	Probably Benign	0.17
rs767975166	V269 I	Tolerated	0.17	Benign	0.001	Neutral	-0.396	Probably Benign	0.17
rs2091791335	T270 A	Tolerated	0.29	Probably Damaging	0.979	Deleterious	-3.686	Probably Benign	0.17
rs1024803591	Q272 R	Tolerated	0.20	Benign	0.053	Neutral	-2.206	Probably Benign	0.17
	Q272 P	Deleterious	0.05	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-3.948	Probably Benign	0.17
rs1475658105	Q272 H	Deleterious	0.02	Benign	0.004	Neutral	-1.418	Probably Benign	0.17
rs1823350212	F276 L	Tolerated	0.37	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.023	Probably Benign	0.17
rs1421002880	Y277	Tolerated	0.32	Probably	1.000	Deleter	-4.231	Probably	0.17

	H			Damaging		ious		Benign	
rs2122437520	Y277 S	Tolerated	0.54	Probably Damaging	1.000	Deleter ious	-7.602	Probably Benign	0.17
rs2091791103	P278 S	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleter ious	-6.776	Probably Benign	0.17
rs1251377665	P278 H	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleter ious	-7.735	Probably Benign	0.17
rs1196245641	S280 N	Tolerated	0.59	BENIGN	0.000	Neutral	0.235	probably benign	0.17
rs1319116368	Q282 L	Tolerated	0.05	BENIGN	0.002	Deleter ious	-4.789	probably benign	0.17
rs547549347	T284I	Tolerated	0.72	Possibly Damaging	0.790	Deleter ious	-3.924	probably benign	0.17
	T284 S	Tolerated	0.08	Possibly Damaging	0.916	Deleter ious	-2.720	probably benign	0.17
rs367852522	W285 C	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleter ious	-11.059	probably benign	0.17
rs142972068	S286 P	Tolerated	0.27	Benign	0.004	Neutral	-0.939	probably benign	0.17
rs6034239	S286 L	Tolerated	0.64	BENIGN	0.000	Neutral	5.018	probably benign	0.17
	S286 W	Deleterious	0.05	BENIGN	0.004	Neutral	-0.156	probably benign	0.17
rs757208638	E287 G	Deleterious	0.02	Probably Damaging	1.000	Deleter ious	-5.883	probably benign	0.17
rs1454488399	E287 K	Tolerated	0.40	Possibly Damaging	0.909	Deleter ious	-3.088	probably benign	0.17
rs1460681957	V291 E	Deleterious	0.01	BENIGN	0.407	Deleter ious	-3.880	probably benign	0.17
rs141069067	V291 L	Tolerated	0.26	BENIGN	0.001	Neutral	-1.318	probably benign	0.17
	V291 M	Tolerated	0.14	BENIGN	0.330	Neutral	-1.042	probably benign	0.17
rs2091790419	R294 T	Tolerated	0.67	BENIGN	0.407	Neutral	3.498	probably benign	0.17
rs145447195	S298 L	Tolerated	0.35	BENIGN	0.001	Deleter ious	-2.950	probably benign	0.17
rs756394138	T299I	Tolerated	0.42	BENIGN	0.018	Neutral	-1.971	probably benign	0.17
rs148883600	L300 F	Tolerated	0.23	BENIGN	0.028	Neutral	-2.007	probably benign	0.17

	L300 V	Tolerated	0.11	BENIGN	0.028	Neutral	-1.199	probably benign	0.17
rs2122436311	T301I	Tolerated	0.71	BENIGN	0.004	Neutral	-0.819	probably benign	0.17
rs1471293832	T301 P	Tolerated	0.09	BENIGN	0.223	Deleterious	-2.970	probably benign	0.17
rs1430296364	E302 G	Tolerated	0.06	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.813	probably benign	0.17
rs1469609571	K304 E	Tolerated	0.76	Probably Damaging	0.981	Deleterious	-2.878	probably benign	0.17
rs762205668	K304 M	Tolerated	0.09	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-4.292	probably benign	0.17
rs542506528	D305 Y	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-7.733	probably benign	0.17
	D305 H	Deleterious	0.02	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.883	probably benign	0.17
rs764721660	T307I	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.997	Deleterious	-5.126	probably benign	0.17
	T307 N	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-4.251	probably benign	0.17
rs1288820175	T311I	Tolerated	0.44	Benign	0.001	Deleterious	-2.948	probably benign	0.17
rs2091789740	W313 S	Deleterious	0.02	Possibly Damaging	0.903	Deleterious	-9.124	probably benign	0.17
rs775068837	W313 R	Deleterious	0.01	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-9.118	probably benign	0.17
rs574972022	F314 L	Tolerated	0.42	Benign	0.000	Neutral	1.913	probably benign	0.17
rs200982024	L315 P	Tolerated	0.10	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-5.983	probably benign	0.17
rs41275436	V316 L	Tolerated	0.46	Benign	0.361	Neutral	-2.412	probably benign	0.17
rs2091789562	I318 K	Tolerated	0.100	Benign	0.000	Neutral	-0.121	probably benign	0.17
rs1316683956	S319 F	Deleterious	0.02	Benign	0.284	Deleterious	-4.854	probably benign	0.17

rs1322463631	D320 Y	Tolerated	0.07	Possibly Damaging	0.731	Neutral	-0.594	probably benign	0.17
rs1217126513	Q321 K	Tolerated	0.57	Benign	0.021	Neutral	-0.802	probably benign	0.17
rs201051307	D323 G	Deleterious	0.02	Benign	0.368	Deleterious	-3.766	probably benign	0.17
rs777554720	D323 Y	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.979	Deleterious	-4.266	probably benign	0.17
rs749290871	D324 E	Tolerated	0.50	Benign	0.001	Neutral	-1.257	probably benign	0.17
rs1172046249	D324 G	Tolerated	0.17	Benign	0.013	Deleterious	-2.890	probably benign	0.17
rs2091789298	V325 M	Tolerated	0.06	Benign	0.255	Neutral	-1.170	probably benign	0.17
rs780208812	V326 F	Deleterious	0.04	Possibly Damaging	0.774	Deleterious	-3.081	probably benign	0.17
	V326 I	tolerated	0.30	Benign	0.007	Neutral	-0.537	probably benign	0.17
rs2091789172	T328 A	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.974	Deleterious	-3.936	probably benign	0.17
rs781459773	C329 R	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-9.913	probably benign	0.17
rs209178904 4	V331 L	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.996	Deleterious	-2.578	probably benign	0.17
rs751933850	H333 Y	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.933	Deleterious	-4.523	probably benign	0.17
rs576944150	H333 L	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.909	Deleterious	-8.337	probably benign	0.17
rs972382882	H333 Q	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.995	Deleterious	-5.909	probably benign	0.17
rs373199508	D334 Y	Deleterious	0.00	Probably Damaging	1.000	Deleterious	-6.639	probably benign	0.17

rs1281873519	G335 R	Tolerated	0.05	Possibly Damaging	0.727	Deleterious	-5.319	probably benign	0.17
rs145754609	G335 V	Deleterious	0.04	Probably Damaging	0.998	Deleterious	-6.395	probably benign	0.17
rs776416912	L337 P	Tolerated	0.54	Benign	0.011	Neutral	5.267	probably benign	0.17
rs41275434	A338 V	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.755	Neutral	-1.843	probably benign	0.17
rs2091788564	V339 I	Deleterious	0.49	Benign	0.003	Neutral	-0.738	probably benign	0.17
rs1377290844	S340 R	Deleterious	0.01	Benign	0.166	Neutral	-1.606	probably benign	0.17
rs148596804	R342 C	Deleterious	0.05	Probably Damaging	0.976	Neutral	-1.670	probably benign	0.17
rs748098905	R342 H	Tolerated	0.07	Benign	0.000	Neutral	0.153	probably benign	0.17
rs369760423	A344 S	Tolerated	0.86	Benign	0.000	Neutral	0.435	probably benign	0.17
	A344 P	Tolerated	0.31	Benign	0.036	Neutral	-1.342	probably benign	0.17
rs1344323115	E346 K	Tolerated	1.00	Benign	0.001	Neutral	-0.623	probably benign	0.17
rs1476293856	V347 A	Tolerated	0.17	Benign	0.000	Neutral	-0.816	probably benign	0.17
rs2091788127	T348I	Tolerated	0.24	Benign	0.001	Neutral	-2.020	probably benign	0.17
rs2091788003	Q351 R	Tolerated	0.71	Benign	0.005	Neutral	-1.721	probably benign	0.17

rs746007484	D353 G	Tolerated	0.09	Benign	0.001	Deleterious	-2.635	probably benign	0.17
rs78053816	Q354 E	Tolerated	0.46	Benign	0.017	Neutral	-1.442	probably benign	0.17
	Q354 K	Tolerated	0.18	Benign	0.017	Neutral	-2.097	probably benign	0.17
rs751880612	Q354 P	Tolerated	0.09	Benign	0.004	Deleterious	-3.504	probably benign	0.17
rs778222328	S355 N	Tolerated	0.64	Benign	0.046	Neutral	-0.298	probably benign	0.17
rs147969759	S355 R	Tolerated	0.31	Benign	0.003	Neutral	-1.136	probably benign	0.17
rs1283794975	T359I	Deleterious	0.01	Benign	0.005	Neutral	-1.727	probably benign	0.17
rs547634798	P360 R	Tolerated	0.16	Benign	0.134	Neutral	-1.779	probably benign	0.17
	P360 H	Tolerated	0.26	Benign	0.000	Neutral	-1.172	probably benign	0.17
rs2091787645	P360 S	Tolerated	0.17	Benign	0.000	Neutral	-0.633	probably benign	0.17
rs2091787523	G361 S	Tolerated	0.65	Possibly Damaging	0.952	Neutral	-1.323	probably benign	0.17
rs747232069	P362 S	Tolerated	0.24	Benign	0.180	Neutral	0.117	probably benign	0.17
rs777894070	P362 L	Tolerated	0.06	Possibly Damaging	0.004	Neutral	-0.440	probably benign	0.17
	P362 R	Tolerated	0.07	Possibly Damaging	0.799	Neutral	-0.337	probably benign	0.17
	P362 Q	Tolerated	0.08	Possibly Damaging	0.662	Neutral	-0.126	probably benign	0.17
rs748516544	A363 S	Tolerated	0.95	Possibly Damaging	0.751	Neutral	0.364	probably benign	0.17
	A363 T	Tolerated	0.71	Benign	0.005	Neutral	-0.152	probably benign	0.17
rs1399764109	S364 T	Tolerated	0.94	Benign	0.039	Neutral	-0.679	probably benign	0.17
rs1178495642	S365 F	Deleterious	0.01	Benign	0.410	Neutral	-1.208	probably benign	0.17

rs2091739530	L366 F	Tolerated	0.64	Benign	0.165	Neutral	-0.900	probably benign	0.17
rs35062363	A368 V	Tolerated	0.49	Benign	0.002	Neutral	-0.921	probably benign	0.17
	A368 E	Tolerated	0.26	Benign	0.180	Neutral	-1.990	probably benign	0.17
rs2091739323	L370 F	Deleterious	0.05	Probably Damaging	0.998	Neutral	-1.915	probably benign	0.17
rs2122388180	L371 H	Deleterious	0.01	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-4.444	probably benign	0.17
rs1465470091	I372 R	Deleterious	0.00	Possibly Damaging	0.877	Deleterious	-3.101	probably benign	0.17
	I372T	Deleterious	0.01			Neutral	-1.008		
rs1286427526	V374 I	Tolerated	0.27	Benign	0.009	Neutral	0.354	probably benign	0.17
rs1224452521	V374 D	Deleterious	0.01	Possibly Damaging	0.679	Deleterious	-3.145	probably benign	0.17
rs767134003	L375 F	Tolerated	0.30	Probably Damaging	0.995	Neutral	-1.697	probably benign	0.17
rs868456979	P378 R	Tolerated	0.05	Possibly Damaging	0.622	Neutral	-2.160	probably benign	0.17
	P378 H	Délétère	0.02			Deleterious	-2.738		
rs561280167	Y380 C	Deleterious	0.00	Probably Damaging	0.999	Deleterious	-3.796	probably benign	0.17