

Alignement de séquences
Information structurale

CYSMA, un outil d'analyse *in silico* de variants faux- sens de *CFTR*

Souphatta SASORITH
CFTR-France database

<https://cftr.iurc.montp.inserm.fr/cysma/>

CYSMA : les données

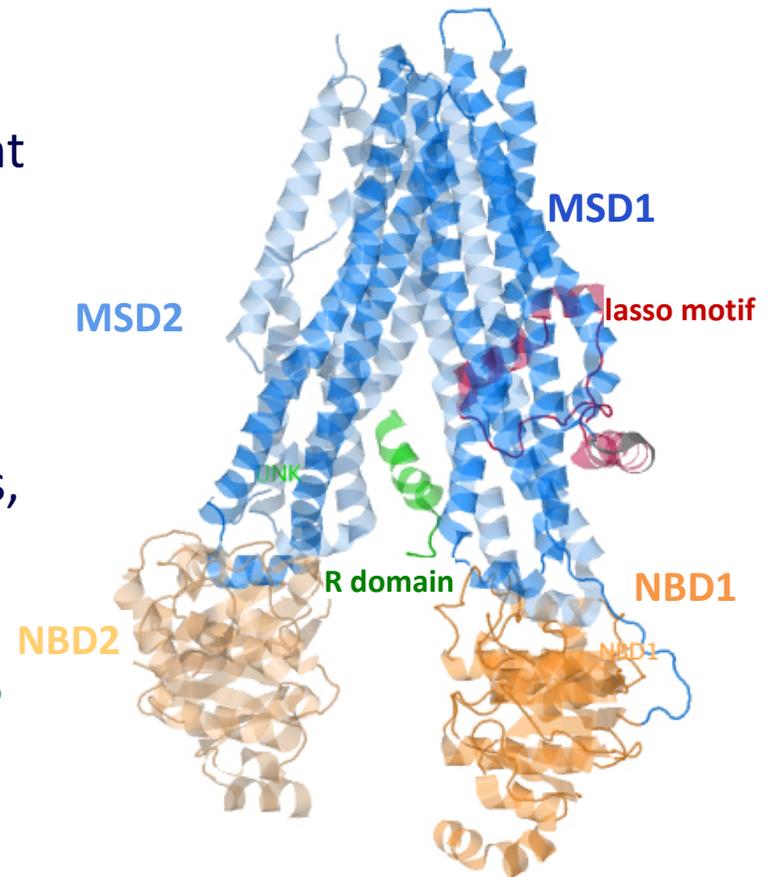
Alignements de séquences

- **Orthologues CFTR**: 50 séquences
- **Domaines homologues**: MSD1, NBD1, domaine R, NBD2, MSD2

Structure 3D du CFTR et les propriétés calculées

- **CFTR humain complet**, déphosphorylé, sans ATP, conformation inactive (PDB: 5UAK, 3.87Å)
- **Modèles 3D par homologie** pour chaque variant
- **Annotations et propriétés calculées**:
 - résidus clés: construction du pore, régions conservées, ...
 - propriétés structurales: cores hydrophobes, clashes stériques, ...

Fréquences dans la population, données épidémiologiques et cliniques
gnomAD, CFTR-France, ClinVar



Comment interpréter les prédictions de CYSMA ?

(Cf. CYSMA HELP page)

- **Sélection des acides aminés au cours l'évolution**

Calcule la conservation parmi les séquences orthologues du CFTR

et les domaines homologues (MSD1, NBD1, domaine R, NBD2, MSD2)

→ si le variant (ou un autre variant avec les mêmes propriétés physico-chimiques) est apparu au cours de l'évolution avec un **pourcentage élevé** (> 10%), le variant pourrait avoir **peu ou pas d'effet** sur la fonction de CFTR.

- **Impact du variant sur la structure secondaire**

Comparaison de la probabilité que le WT et le variant se retrouvent dans la structure secondaire concernée (calculs sur 8 365 structures 3D)

→ Si le variant a été beaucoup **moins observé** que le WT, il **pourrait avoir un effet délétère**

- **Impact du variant sur la structure 3D**

Comparaison de la structure 3D du WT (PDB: 5UAK, 3.87Å) avec celle du variant

→ Si le variant entraîne des **clashes stériques**, des **pertes** de réseaux hydrophobes ou de liaisons hydrogène, un **changement d'accessibilité** au solvant, il **pourrait avoir un effet délétère**

→ **combinez les informations pour tirer une conclusion générale sur le variant: si elles vont dans la même direction, vous pouvez être raisonnablement confiant sur la fiabilité de vos observations.**

Page d'annotations de CYSMA

- Fréquence allélique (de tous les variants à cette position)
- Conservation des orthologues du *CFTR*
- Conservation des homologues du domaine
- Analyse 3D
- Signification clinique (ClinVar)
- Patients dans *CFTR*-France
- Autres ressources (SIFT, PPH2)

NB pour SIFT : CYSMA utilise un alignement avec les 50 orthologues de *CFTR* (conseillé par les auteurs)

- Rapport à imprimer

CYSMA : la visualisation des données

Conservation à travers l'évolution (CFTR orthologues et homologues du domaines)

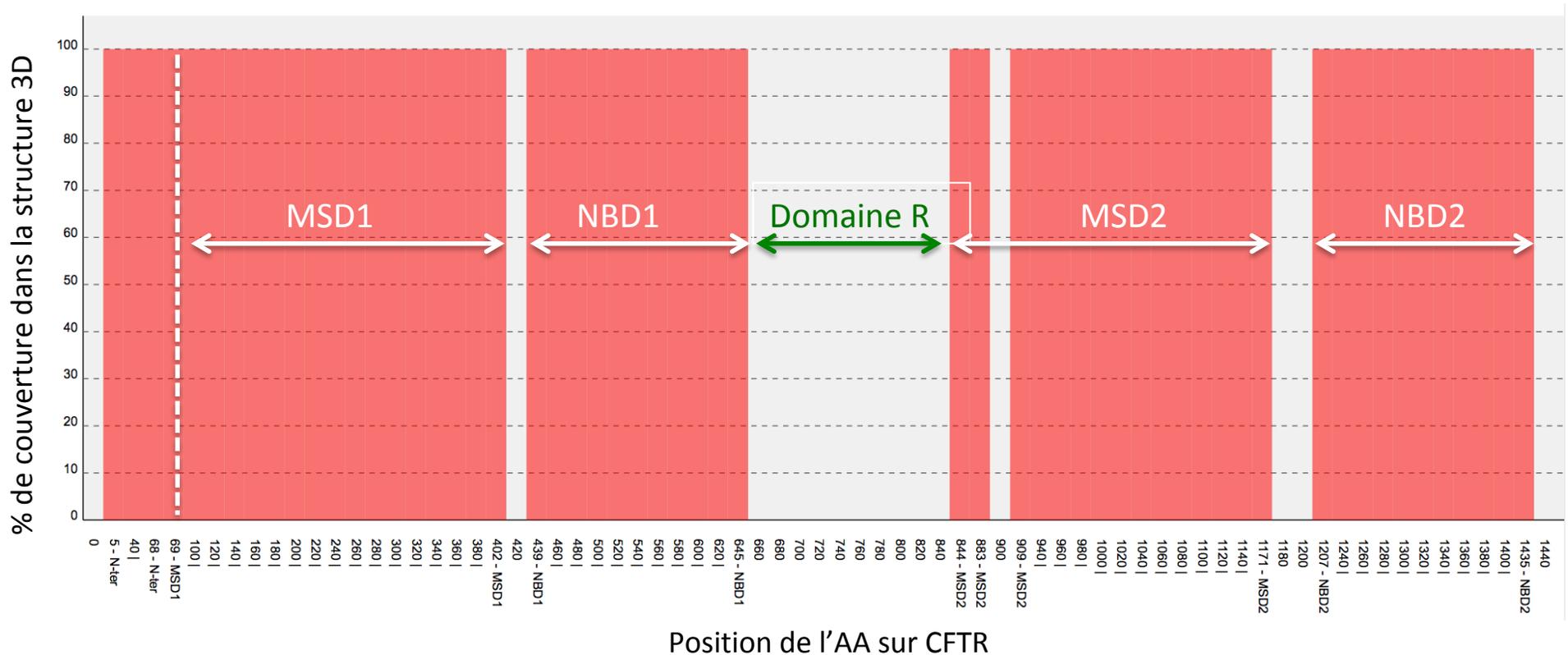
- I506L (alignement orthologues, diagramme de Venn des homologues de NBD1, prédictions SIFT, PPH2)

Impact sur le repliement du CFTR

- I506T (perte du corps hydrophobe: rapport, 3D)
- D44G (perte de nombreuses liaisons hydrogène: rapport, 3D)
- P574H (maintien du corps hydrophobe mais clashes stériques: rapport, 3D)

Limites de la structure expérimentale (PDB: 5UAK)

- Variants localisés dans le domaine R et les boucles: pas d'information structurales et/ou peu de séquences (régions en rouge = régions couvertes par la structure 3D)



- Pas d'info sur l'effet du variant sur le transport des ions/conductivité du canal
- Interprétation de changements « légers » dans la structure 3D nécessite une expertise

CYSMA : les limites

Le domaine R

- S737F (pas d'information 3D, peu de séquences)

La fonction du canal

- D1152H: localisé à l'intérieur du canal et exposé au solvant

La liaison avec l'ATP

- T1246I (Walker A motif): pas d'information sur l'effet

Dans la structure expérimentale, la poche de liaison à l'ATP n'est pas formée. Le domaine R (non phosphorylé) empêche les 2 domaines NBDs de se rapprocher

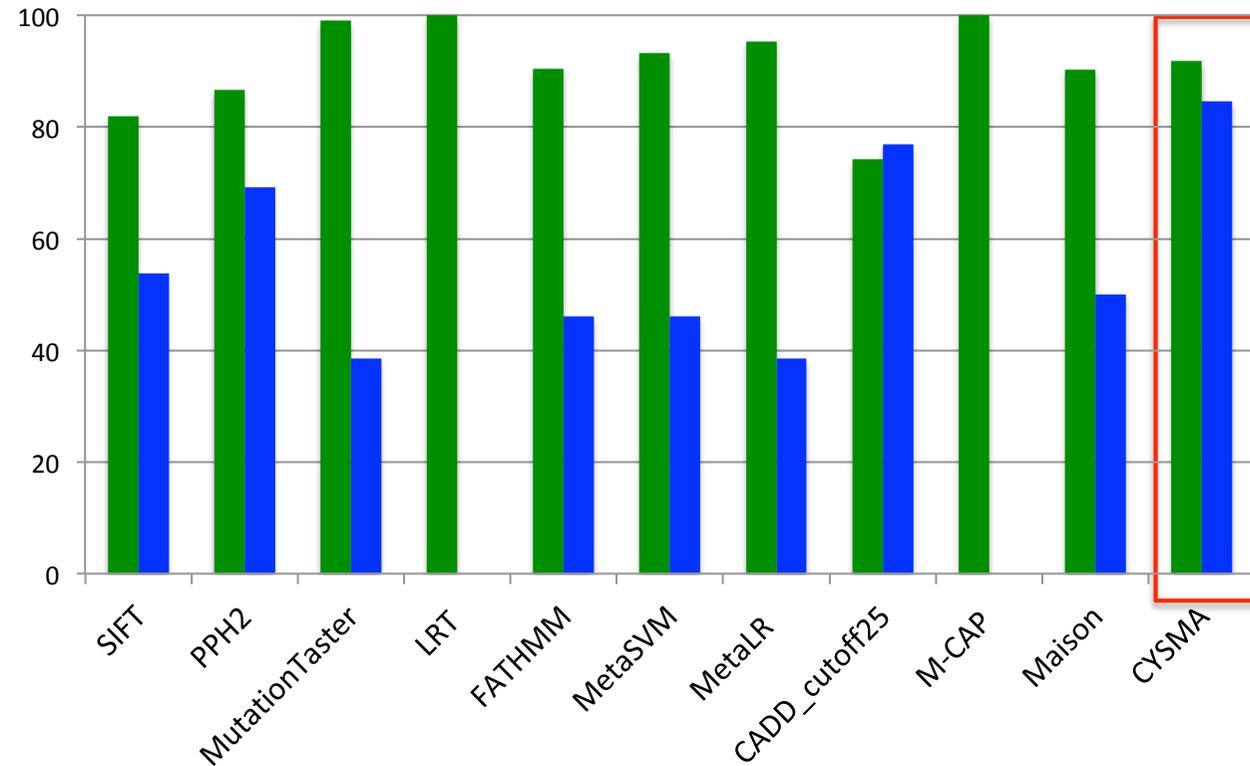
➔ Testez votre variant favori !

CYMA : les performances

Sensibilité: 93%, spécificité: 84%

■ **Sensibilité**
(taux de vrais positifs)

■ **Spécificité**
(taux de vrais négatifs)



Set de validation :

- **105** variants «disease-causing»

parmi eux, **7** faux négatifs: p.Arg117Cys, p.Arg117His, p.Phe200Ile, p.Ile556Val, p.Ile980Lys, p.Gly1069Arg, p.Asp1152His

- **13** variants «non disease-causing»

parmi eux, **2** faux positifs: p.Arg297Gln, p.Met348Lys

Merci !



CHU Montpellier

S. Sasorith, D. Baux, C. Bareil, C. Thèze,
A. Bergougnoux, F. Verneau, J.-P. Altieri,
L. Larrieu, M. Claustres, **C. Raynal**