

Université de Montréal

**Le locus 1q32 : susceptibilité aux maladies inflammatoires de l'intestin et rôles
biologiques de C1orf106 et KIF21B**

par

Geneviève David

Département de Médecine

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté de Médecine
en vue de l'obtention du grade de Maître
en Sciences Biomédicales

Avril, 2012

© Geneviève David, 2012

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Le locus 1q32 : susceptibilité aux maladies inflammatoires de l'intestin et rôles
biologiques de C1orf106 et KIF21B

Présenté par :
Geneviève David

évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Devandra Amre, Ph.D, président-rapporteur
Dr. John David Rioux, Ph.D, directeur de recherche
Dr. Gaétan Mayer, Ph.D, membre du jury

Résumé

La maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU) sont des maladies inflammatoires de l'intestin (MII) caractérisées par une inflammation chronique du tube digestif. Ces maladies à traits complexes sont le résultat d'un dérèglement du système immunitaire. Les études d'association pangénomique ont identifié au total 99 loci de susceptibilité aux MII. La région 1q32 du chromosome 1 a été identifiée comme locus de susceptibilité à la MC, la CU et la sclérose en plaque. La région autour du marqueur génétique (rs11584383) contient quatre gènes : Chromosome 1 open reading frame 106 (*C1orf106*), Kinesin family member 21B (*KIF21B*), Calcium channel, voltage-dependant, L type, alpha 1S subunit (*CACNA1S*) et Chromosome 1 open reading frame 81 (*C1orf81*). L'objectif de l'étude est de mettre ces quatre gènes dans un contexte biologique et de déterminer leur rôle potentiel dans les MII. Par réaction de polymérisation en chaîne quantitative (qPCR), nous avons déterminé le profil d'expression de ces gènes dans des tissus murins et des lignées cellulaires humaines. *KIF21B* et *C1orf106* sont exprimés dans les tissus gastrointestinal et immunitaire. Par la suite, nous avons testé l'implication de *KIF21B* et *C1orf106* dans les voies biologiques connues pour leur rôle dans les MII comme l'activité NF- κ B et le stress du réticulum endoplasmique (RE). Nos résultats montrent que la surexpression de *KIF21B* dans les cellules HEK293T diminue l'activité de NF- κ B et la surexpression de *C1orf106* augmente le stress du RE et l'activité de la voie Wnt. Globalement, ces résultats suggèrent que *KIF21B* et *C1orf106*, dans la région 1q32, sont des gènes candidats prometteurs puisqu'ils interviennent dans des voies biologiques connues des maladies inflammatoire de l'intestin.

Mots-clés : maladies inflammatoires de l'intestin, maladie de Crohn, colite ulcéreuse, génétique, 1q32, inflammation, stress du réticulum endoplasmique, *nuclear factor-kappa B*, *KIF21B*, *C1orf106*.

Abstract

Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) are inflammatory bowel diseases (IBD) characterized by chronic inflammation along the gastrointestinal tract. These complex diseases appear to be the result of an immune system dysregulation. Genome-wide association studies have identified 99 loci that contribute to IBD susceptibility. Region 1q32 of chromosome 1 has been identified as a CD, UC and multiple sclerosis susceptibility locus and the region around this marker (rs11584383) contains four genes: Chromosome 1 open reading frame 106 (*C1orf106*), Kinesin family member 21B (*KIF21B*), Calcium channel, voltage-dependant, L type, alpha 1S subunit (*CACNA1S*) and Chromosome 1 open reading frame 81 (*C1orf81*). The goal of the present study is to place these genes in a biological context and to determine their possible involvement in IBD. By using quantitative PCR (qPCR), we determined the expression profile of these genes in murine tissues and human cell lines and we observed that *KIF21B* and *C1orf106* were expressed in immune as well as gastrointestinal tissues. Next, we tested the involvement of *KIF21B* and *C1orf106* in biological pathways previously implicated in IBD, more specifically NF- κ B activity and endoplasmic reticulum (ER) stress. We found that overexpression of *KIF21B* in HEK293T cells decreased the activity of NF- κ B whereas *C1orf106* overexpression increased ER stress and Wnt activity. Taken together, these results suggest that *KIF21B* and *C1orf106* are good candidate causal genes in the 1q32 region.

Keywords : inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, genetics, 1q32, inflammation, endoplasmic reticulum stress, *nuclear factor*-kappa B, *KIF21B*, *C1orf106*.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Résumé | i |
| Abstract | ii |
| Table des matières | iii |
| Liste des tableaux | vii |
| Liste des figures..... | viii |
| Liste des abréviations | x |
| Remerciements | xv |
| Chapitre 1: Introduction | 1 |
| 1.1 Le tube digestif et son rôle | 1 |
| 1.2 L'épithélium du tube digestif | 4 |
| <u>1.2.1 Les barrières de protection du tube digestif</u> | 8 |
| <i>1.2.1.1 La barrière physique</i> | 8 |
| <i>1.2.1.2 La barrière chimique</i> | 9 |
| <i>1.2.1.3 La barrière cellulaire</i> | 11 |
| 1.3 Les maladies inflammatoires de l'intestin (MII) | 12 |
| Chapitre 2: Le système immunitaire | 17 |
| 2.1 L'immunité innée | 17 |
| <u>2.1.1 La voie des TLRs</u> | 20 |
| <u>2.1.2 La voie des TNFR</u> | 22 |
| 2.2 L'immunité acquise | 23 |
| <u>2.2.1 Voie des TCRs</u> | 25 |

| | |
|---------------------------|----|
| 2.2.2 Voie des BCRs | 25 |
|---------------------------|----|

Chapitre 3 : Le traitement des MII.....27

| | |
|--|----|
| 3.1 Les thérapies pharmacologiques classiques | 28 |
|--|----|

| | |
|----------------------------------|----|
| 3.1.1 Les aminosalicylates | 28 |
|----------------------------------|----|

| | |
|---------------------------------|----|
| 3.1.2 Les corticostéroïdes..... | 28 |
|---------------------------------|----|

| | |
|------------------------------------|----|
| 3.1.3 Les immunosuppresseurs | 29 |
|------------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------|----|
| 3.1.4 Les antibiotiques | 30 |
|-------------------------------|----|

| | |
|--|----|
| 3.2 Les thérapies biologiques | 30 |
|--|----|

Chapitre 4: La génétique.....33

| | |
|----------------------------|----|
| 4.1 Le génome | 33 |
|----------------------------|----|

| | |
|--|----|
| 4.2 Les études génétiques | 34 |
|--|----|

| | |
|-----------------------------------|----|
| 4.2.1 Les études de liaison | 34 |
|-----------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------------|----|
| 4.2.2 Les études d'association..... | 35 |
|-------------------------------------|----|

| | |
|--|----|
| 4.2.2.1 Approche par gène candidat | 36 |
|--|----|

| | |
|------------------------------------|----|
| 4.2.2.2 Approche pangénomique..... | 37 |
|------------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------|----|
| 4.2.3 Les méta-analyses | 37 |
|-------------------------------|----|

| | |
|---|----|
| 4.3 Les loci de susceptibilité aux MII | 38 |
|---|----|

| | |
|--------------------------------|----|
| 4.4 Le locus 1q32 | 39 |
|--------------------------------|----|

| | |
|--------------------|----|
| 4.4.1 C1orf81..... | 40 |
|--------------------|----|

| | |
|---------------------|----|
| 4.4.2 C1orf106..... | 41 |
|---------------------|----|

| | |
|--------------------|----|
| 4.4.3 CACNA1S..... | 42 |
|--------------------|----|

| | |
|-------------------|----|
| 4.4.4 KIF21B..... | 42 |
|-------------------|----|

| | |
|---|----|
| Chapitre 5 : Objectifs du mémoire | 45 |
| 5.1 Définir les profils d'expression des gènes de la région 1q32 | 45 |
| 5.2 Déterminer l'implication des gènes du locus 1q32 dans les voies biologiques cellulaire | 46 |
| 5.3 Déterminer le partenaire d'interaction | 46 |
| Chapitre 6 : Méthodes | 47 |
| 6.1 Isolation de l'ARN | 47 |
| <u>6.1.1 Biopsies humaines</u> | 48 |
| 6.2 Rétro-transcription | 49 |
| 6.3 PCR quantitatif | 49 |
| 6.4 Culture cellulaire des HEK293, HEK293T clone 17 et Caco-2 | 51 |
| 6.5 Clonages | 51 |
| <u>6.5.1 KIF21B carboxy-terminal FLAG</u> | 51 |
| <u>6.5.2 KIF21B Δmoteur</u> | 52 |
| <u>6.5.3 KIF21B-WD40</u> | 53 |
| <u>6.5.4 C1orf106</u> | 54 |
| 6.6 Transformation bactérienne | 54 |
| 6.7 Séquençage | 55 |
| 6.8 Essais gène rapporteur luciférase | 55 |
| 6.9 Immunoprécipitation | 59 |
| 6.10 Immunobuvardage | 60 |
| 6.11 Spectrométrie de masse | 61 |

| | |
|--|---------|
| Chapitre 7 : Résultats | 63 |
| 7.1 Déterminer l'expression des gènes de la région 1q32..... | 63 |
| 7.2 Déterminer les voies biologiques importantes pour les gènes de la région 1q32..... | 69 |
| 7.2.1 KIF21B et son rôle biologique..... | 70 |
| 7.2.2 C1orf106 et son rôle biologique..... | 71 |
| 7.3 Déterminer le partenaire de KIF21B | 73 |
| Chapitre 8 : Discussion et conclusion | 81 |
| 8.1 Le rôle biologique de KIF21B | 81 |
| 8.2 Le rôle biologique de C1orf106 | 88 |
| Bibliographie..... | 99 |
| Annexe I Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B... xvii | |
| Annexe II Graphiques de l'activité ATF6 pour différentes doses de CARMA1..xxxvii | |
| Annexe III Activité des voies de l'apoptose suite à la surexpression de C1orf106..... | xxxviii |
| Annexe IV Tableau des sites potentiels de clivage de KIF21B..... | xxxix |
| Annexe V Figure des données d'expression de KIF21B dans les biopsies intestinales..... | xl |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I : Comparaison de la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse | 15 |
| Tableau II : Liste des amorces pour qPCR..... | 50 |
| Tableau III : Les essais gène rapporteur contenus dans les plaques Cignal™ | 57 |
| Tableau IV : Partenaires d'interaction de KIF21B..... | 75 |
| Tableau V: Résumé des résultats du mémoire | 85 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Les différentes sections du tube digestif..... | 5 |
| Figure 2: La structure de l'intestin..... | 7 |
| Figure 3 : La voie biologique NF-kB | 19 |
| Figure 4 : Représentation schématique de la région 1q32 | 39 |
| Figure 5 : Analyse d'association de la région 1q32..... | 40 |
| Figure 6 : Schéma des mutants de KIF21B obtenus par clonage..... | 52 |
| Figure 7 : Séquence du minigène Δ moteur-WD40 | 53 |
| Figure 8 : Schéma du plasmide gène rapporteur de la luciférase et des clones C1orf106 et KIF21B..... | 58 |
| Figure 9 : Profil d'expression des gènes de la région 1q32 dans les tissus murins | 64 |
| Figure 10 : Profil d'expression de C1orf106 et KIF21B dans l'intestin et les plaques de Peyer de la souris..... | 66 |
| Figure 11 : Expression de C1orf106 et KIF21B dans les cellules humaines | 67 |
| Figure 12: Expression de C1orf106 dans les biopsies intestinales du rectum de patient MC et de contrôles sains | 68 |
| Figure 13 : Essais NF-kB luciférase rapporteur pour KIF21B..... | 70 |
| Figure 14: Immunobuvardage à différentes doses de C1orf106 transfectées dans les cellules pour les essais gène rapporteurs..... | 71 |
| Figure 15 : Essais de gènes rapporteurs pour C1orf106..... | 72 |
| Figure 16 : Immunobuvardage anti-KIF21B de l'immunoprécipitation de KIF21B avec anti-Flag..... | 74 |

| | |
|---|----|
| Figure 17 : Immunoprécipitation de KIF21B et BCLAF1..... | 78 |
| Figure 18 : Co-immunoprécipitation de KIF21B et 14-3-3 ϵ | 79 |
| Figure 19 : Modèle suggéré d'action de KIF21B sur l'activité NF-kB..... | 85 |
| Figure 20 : Alignement des nucléotides du domaine WD40 de KIF21B entre différentes espèces..... | 87 |
| Figure 21 : Schéma des voies biologiques Wnt, Stress RE, apoptose et NF-kB..... | 90 |
| Figure 22 : Modèle d'action suggéré de C1orf106 sur les voies Wnt, stress RE, apoptose et NF-kB..... | 95 |

Liste des abréviations

14-3-3 ϵ , *polypeptide tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon*

AAMP, *angio-associated migratory cell protein*

ADN, acide désoxyribonucléique

ADNc, ADN copie

APC, *adenomatous polyposis coli*

ARN, acide ribonucléique

ARNm, ARN messenger

ATF6, *Activating transcription factor 6*

ATP, adénosine triphosphate

BCL2, *B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia/Lymphoma 2*

BCL-10, *B-cell lymphoma/leukemia 10*

BCLAF1, *BCL2-associated transcription factor 1*

BCR, récepteur des cellules B (*B-cell receptor*)

BSA, *bovine serum albumin*

C1orf81, *Chromosome 1 open reading frame 81*

C1orf106, *Chromosome 1 open reading frame 106*

CACNA1S, *Calcium channel, voltage-dependant, L type, alpha 1S subunit*

CARMA1, *Caspase recruitment domain-containing protein 11*

CD#, *cluster of differentiation #*

C/EBP, *CCAAT-enhancer-binding protein*

Cellule M, cellule *microfold*

CHOP, *CCAAT-enhancer-binding protein ζ*

CU, colite ulcéreuse

DL, déséquilibre de liaison

D-MEM, *Dulbecco's Modified Eagle Medium*

DRO, dérivés réactifs de l'oxygène

EAP, étude d'association pangénomique

E. coli, Escherichia Coli

ER, *endoplasmic reticulum*

FBS, *Fetal bovine serum*

GAPDH, *Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*

GRP78, *glucose-regulated protein 78*

HEK, cellules embryonnaires de reins (*human embryonic kidney cells*)

HLA, antigènes des leucocytes humains (*human leukocyte antigen*)

HNF4, *hepatocyte nuclear factor 4*

HSP, *heat shock protein*

IBD5, *inflammatory bowel disease 5*

Ig, immunoglobuline

IkB, inhibiteur de NF-κB

IKK, IκB kinase

IL, interleukine

IL#R, interleukine # *receptor*

Kb, kilobase

KDa, kiloDalton

KIF21B, *Kinesin family member 21B*

LPS, lipopolysaccharide

MAGUK, *membrane-associated guanylate kinase*

MALT-1, *Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1*

MC, maladie de Crohn

MII, maladies inflammatoires de l'intestin

MUC #, mucine #

NF- κ B, *nuclear factor-kappa B*

NOD2, *nucleotide-binding oligomerization domain containing 2*

OCT4, *octamer-binding transcription factor 4*

Opti-MEM, *opti-Modified Eagle Medium*

PAR3, *Partitioning defective 3*

Pb, paire de base

PBS, *phosphate buffered saline*

PCR, *polymerase chain reaction*

PKC, protéine kinase C

PLC, phospholipase C

PP, plaque de Peyer

PPM1B, *Protein phosphatase 1B*

qPCR, PCR quantitatif en temps réel

RE, réticulum endoplasmique

RIN, *RNA Integrity Number*

RIP1, *receptor interacting protein 1*

RPNR, réponse aux protéines non repliées

SNP, *single nucleotide polymorphism*

SNAP, *SNP Annotation and Proxy Search*

SP-#, sphingosine-phosphate

STAT3, *Signal transducer and activator of transcription 3*

Stress RE, stress du réticulum endoplasmique

TAK1, *TGF β activated kinase 1*

TBS, *Tris-buffered saline*

TTBS, *Tween Tris-buffered saline*

TCF4, *T-cell factor (TCF)/lymphoid enhancer factor (LEF) 4*

TCR, récepteur des cellules T (*T-cell receptor*)
TGF, *transforming growth factor*
T_H, lymphocytes T auxiliaires
TLR, *Toll-like receptor*
TNF α , *Tumor necrosis factor alpha*
TNFR, *Tumor necrosis factor receptor*
TRADD, *TNF-R1-associated death domain*
TRAF#, *tumor necrosis factor associated protein #*
Tregs, lymphocytes T régulateurs
UC, *ulcerative colitis*
UTR, *untranslated region*
WDR34, *WD 40 repeat protein 34*
Wnt, *wingless-type MMTV integration site family*

Remerciements

J'aimerais remercier mon directeur de maîtrise, John D. Rioux, qui m'a accueillie au sein de son groupe de recherche. Merci à mes anciens et actuels collègues des laboratoires de John D. Rioux et de Guillaume Lettre à Montréal: Azadeh Alikachani, Mélissa Beaudoin, Gabrielle Boucher, Christian Eyendja, Geneviève Galarneau, Philippe Goyette, Caroline Lagacé, Frédéric Latour, Céline Lefebvre, Marie-Pierre Lévesque, Ken Sin Lo. Merci à Guy Charron et Sylvain Foisy qui m'ont guidée plus particulièrement à la fin de mon projet. Merci Sylvain d'avoir été un mentor lors de mes expériences concernant l'univers des protéines. Thank to my supervisor during the first two years of my master, Marcia Budarf, who supported me in my project. Thank for the helpful discussions and critics. Un merci spécial à une collègue mais surtout à une amie qui a su me supporter lors des moments difficiles; merci Claudine. Un gros merci à Catherine d'avoir été présente en tant qu'amie et collègue pour me guider durant ces années. Tu as été d'une aide considérable dans l'écriture de notre papier. Cette expérience fut enrichissante grâce à tes conseils.

Merci aussi à mes collègues de l'Institut de Cardiologie de Montréal et en particulier au laboratoire de Christine Des Rosiers qui font toujours preuve d'une grande générosité de leur temps et de leurs installations pour faciliter le déroulement des projets étudiants. Merci spécial à Roselle Gélinas et Marie-Ève Rivard pour leurs conseils et leur disponibilité.

Thank you to Ramnik Xavier who kindly hosted me as his student during my internship in Boston. Thank you to my dear colleagues from Ramnik Xavier's

laboratory : Kara Conway, Aivi Doan, Robert Heath, Alan Huett, Petric Kuballa, Bernard Khor, Bret Morin, Xhifang Cao, Jakob Begun. A special thanks to my colleagues and friends Ira Kim and Angela Papageorgiou who were always present in the laboratory (even during the middle of the night) to answer to my questions. Merci à Harry Sokol pour ses conseils et discussions durant ces six mois. Un vraiment gros merci à Agnès Garnet qui sait comment motiver et stimuler ses collègues dans le laboratoire. Tu m'as grandement aidée à faire avancer mon projet lors de mon stage à Boston.

Merci aux organismes subventionnaires qui m'ont supporté financièrement aux cours de mes études graduées : la Faculté des études supérieures de l'Université de Montréal, la Fondation de l'Institut de Cardiologie de Montréal et la Fondation Desjardins. Un merci spécial aux Fonds de recherche en santé du Québec (FRSQ) pour m'avoir permis de faire un stage de six mois à Boston.

Merci à mes amies Julie, Valérie, Catrine, Émélie, Hélène pour leur support au cours de nos études universitaires.

Finalement, un merci très chaleureux à ma petite famille Nicole, Alex et Elsa pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Chapitre 1: Introduction

1.1 Le tube digestif et son rôle

Le tube digestif est divisé en plusieurs sections allant de la bouche à l'anus en passant, dans l'ordre, par l'œsophage, l'estomac, le duodénum, jéjunum, l'iléon, le colon et le rectum (Figure 1).

Le processus de la digestion est une tâche partagée entre différentes sections du tube digestif : le brassage est assuré par l'estomac, l'absorption des nutriment simples se fait au niveau de l'iléon et la digestion de molécules complexes et l'absorption d'eau et de minéraux se fait au niveau du colon [1]. Ces différents rôles du tube digestif sont associés à une morphologie tissulaire particulière et à une spécialisation cellulaire propre à la fonction digestive ou immunitaire de chacune des parties du tube digestif [2].

Le tube digestif sécrète différentes hormones qui ont des rôles dans le contrôle de l'appétit. La ghreline est sécrétée par les cellules entéroendocrine de l'estomac [3]. Ses niveaux plasmatiques augmentent avant le repas et diminuent dans l'heure suivant l'ingestion d'aliments [4]. La ghreline augmente les niveaux de cortisol [5] et influence la sécrétion d'insuline [6]. Le Glucagonlike peptide-1, sécrété dans iléon distal et dans le colon [7, 8], le peptide Glucose-dependent insulintropic, sécrété dans le duodénum et le jéjunum [9], l'oxyntomoduline, sécrétée dans le colon distal [10, 11] et le peptide YY, sécrété dans l'iléon terminal et dans le colon [12] sont des hormones gastro-intestinales relâchées en réponse à l'ingestion d'aliments et diminuent l'appétit et l'apport en nourriture.

Le système nerveux du tube digestif, le système nerveux entérique, est une composante du système nerveux autonome avec la capacité de fonctionner sans le système nerveux central. Il contrôle des fonctions gastro-intestinales, comme la motilité, la sécrétion de mucines, le transport des fluides, l'apport sanguin, la croissance de la muqueuse et certains aspects du système immunitaire local tels la production de cytokines [13]. Les neurones du plexus mésentérique, situé entre la couche musculaire longitudinale et la couche musculaire circulaire, régule la motilité. Les neurones du plexus de sous-muqueuse, situé à la face interne de la couche musculaire circulaire, régule la sécrétion d'eau et d'électrolytes [14]. Des dommages au système nerveux entérique peuvent se développer en présence de réactions inflammatoires. L'inflammation est bien connue pour altérer la fonction du colon. Même lorsque l'inflammation est légère, celle-ci peut mener à des changements dans les nerfs gastrointestinaux et dans la fonction des muscles lisses. Une dérégulation de la motilité et de la fonction du colon, et une hypersensibilité seront les conséquences de cette atteinte du système nerveux entérique [15]. Ces changements induits par l'inflammation persistent au-delà du rétablissement tissulaire et jouent un rôle dans la genèse des symptômes associés aux maladies inflammatoire de l'intestin (MII) [16, 17]. L'analyse des tissus intestinaux de patients avec une MII montre la présence d'anomalies du système nerveux entérique tels qu'une hypertrophie et une hyperplasie des ganglions et des faisceaux nerveux [17].

Les bactéries commensales présentes dans l'intestin contribuent aussi à la santé digestive [18]. À la naissance, le colon est stérile. La colonisation par les bactéries se fera dans les premières heures de vie. Pendant l'enfance, la composition du microbiome varie entre les individus selon plusieurs facteurs comme le mode

d'alimentation et le type d'aliments consommés [19]. La diversité du microbiome augmente rapidement durant la jeune enfance et atteint un niveau stable à l'âge adulte [20]. L'humain a évolué pour vivre en symbiose avec le microbiome gastrointestinal. L'humain offre un environnement idéal pour le microbiome qui, en retour, accomplit une variété de rôles physiologiques comme la digestion de certains hydrates de carbone, la biotransformation d'acides biliaires conjugués, la synthèse de certaines vitamines [21, 22]. Toutefois, une réponse inflammatoire inappropriée et persistante envers le microbiome pourrait avoir un rôle dans la pathogénèse des MII chez certains individus génétiquement susceptibles. La colonisation bactérienne du tractus gastrointestinal est essentielle dans le développement de l'inflammation intestinale chez le modèle animal. Ceci a mené à la notion que le microbiome jouerait un rôle essentiel dans le développement des MII [23]. Des données cliniques supportent aussi cette hypothèse. Chez individus ayant une MII, les régions présentant de l'inflammation sont habituellement celles offrant la plus forte concentration de bactéries. De plus, l'utilisation d'antibiotiques peut efficacement contrôler les cas de maladie de Crohn (MC) [24]. Il existe une interactivité entre le microbiome et la motilité. Cette interactivité a été illustrée par l'utilisation de bactéries probiotiques afin de moduler la contractibilité *in vitro* des cellules musculaires lisses [25]. Une variété de voies biologiques et de médiateurs, comme les acides gras à chaînes courtes, les produits bactériens, les récepteurs couples aux protéines G [26] ou les récepteurs activés par les protéases, peuvent affecter cette interaction bactéries et motilité [27]. Dans le système digestif, la motilité supporte des rôles importants comme l'absorption, entreposage et la défécation. La physiologie des muscles lisses du colon est complexe et elle inclut une activité électrique des couches musculaires

circulaires et longitudinales [28]. Les ondes électriques lentes du muscle circulaire sont variables en fréquence et en amplitude, et elles sont sensibles aux étirements, au stress et à l'ingestion d'aliments [28]. Les cellules interstitielles de Cajal, présentes dans la paroi du colon, jouent un rôle fondamental dans la génération d'ondes lentes gastrointestinales et dans la modulation de l'activité des neurones entériques [29]. Ces cellules interstitielles de Cajal sont des stimulateurs qui propagent les ondes lentes dans les muscles gastrointestinaux. Ces cellules se retrouvent dans différentes régions dans la paroi du colon incluant dans le plexus mésentérique, à la frontière entre les couches de muscles lisses circulaires et longitudinaux, et à l'interface entre du muscle circulaire et la sous-muqueuse [29].

1.2 L'épithélium du tube digestif

La paroi de l'intestin possède plusieurs rôles comme l'absorption des nutriments et la protection contre les microbes présents dans la lumière intestinale. La paroi intestinale (Figure 2) est composée de plusieurs couches: la couche la plus externe est la muqueuse et se compose de cellules épithéliales. La sous-muqueuse supporte et attache la muqueuse aux couches musculaires sous-jacentes. La membrane séreuse recouvre la couche musculaire externe.

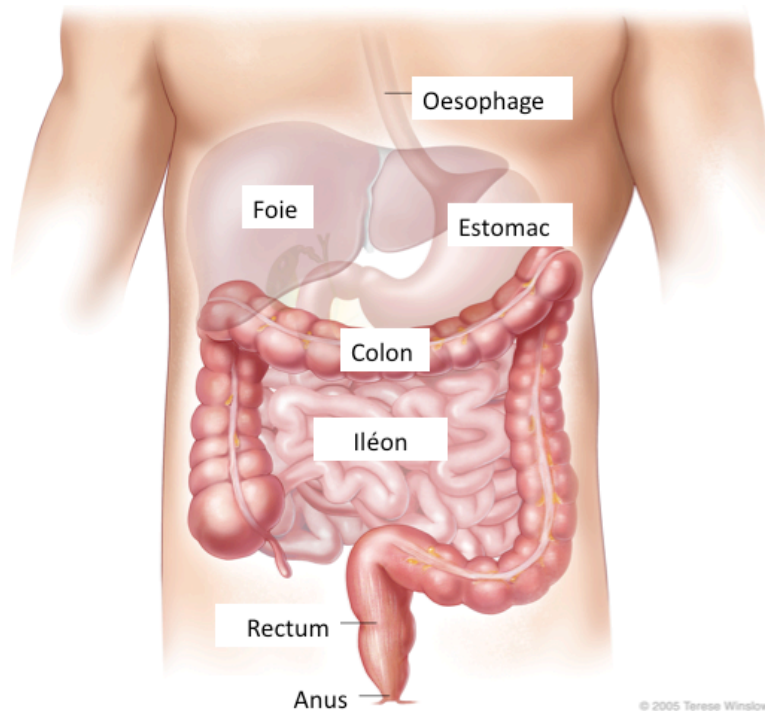


Figure 1 : Les différentes sections du tube digestif

Le tube digestif s'étend de la bouche à l'anus. (Adapté de Terese Winslow, 2005)

L'épithélium est constitué de divers types cellulaires. Les entérocytes sont responsables de l'absorption des nutriments. De plus, ils jouent un rôle important dans la défense non-spécifique en créant une barrière étanche contre l'invasion de la flore intestinale. Les cellules épithéliales, qui composent cette barrière intestinale sont polarisées. Elles possèdent une face apicale en contact avec la lumière intestinale et une face basolatérale en contact avec les couches sous-jacentes et la lamina propria [30]. Les entérocytes présentent à leur surface apicale une membrane hautement sinueuse rappelant la forme d'une brosse [31]. Cette structure permet d'augmenter la surface de contact de la muqueuse avec la lumière intestinale ce qui favorise l'absorption des nutriments [32]. Juxtaposées aux entérocytes se trouvent les cellules à goblet qui sécrètent le mucus qui recouvre l'épithélium afin de créer une barrière

protectrice [33] et les cellules de Paneth qui produisent les peptides antimicrobiens [34]. L'intestin possède aussi des îlots lymphoïdes, les plaques de Peyer, qui abritent plusieurs types de cellules immunitaires à la barrière cellulaire comme les lymphocytes T et B et les cellules dendritiques [31].

Maintenir l'intégrité de la barrière épithéliale est important et les cellules souches sont un des éléments clef dans la régénération de la muqueuse. La couche épithéliale du colon consiste en une couche simple de cellules épithéliales formant des invaginations en forme de doigts entourées par la lamina propria appelés cryptes de Lieberkühn [35]. Il y a 4 types de cellules épithéliales dans ces cryptes. Les entérocytes, les cellules à goblet et les cellules endocrines sont des cellules dites différenciées retrouvées dans le tiers supérieur des cryptes et elles dérivent de cellules souches retrouvées à la bases des cryptes [36]. Durant la division, ces cellules souches épithéliales subissent un auto-renouvellement. Elles génèrent une population de cellules qui proliféreront et différencieront lors de leur migration de la base des cryptes vers la lumière intestinale. Les cellules de Paneth, au contraire, différencient pendant leur migration vers le bas des cryptes où elles résident en-dessous des cellule souches [37]. Finalement, la signalisation *wingless-type MMTV integration site family* (Wnt)/ β -caténine joue un rôle central dans le maintien le la niche des cellules souche intestinales et dans la régulation de la dynamique normale des cryptes [38].

Toutes ces cellules spécialisées permettent de créer à la fois, une barrière physique, une barrière chimique et une barrière cellulaire afin de protéger l'intestin contre une invasion microbienne.

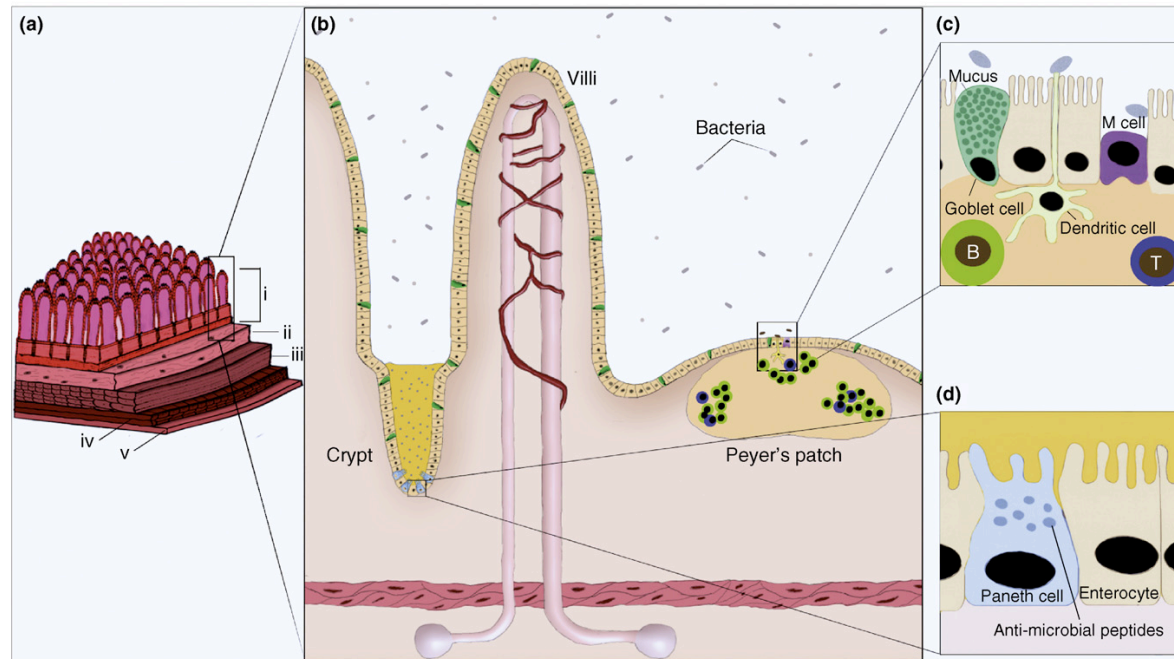


Figure 2: La structure de l'intestin

Figure de Budarf *et al.* [39]. La paroi intestinale est composée de plusieurs couches (a) : la couche la plus externe est la muqueuse et se compose de cellules épithéliales (i). La sous-muqueuse (ii) supporte et attache la muqueuse aux couches musculaires sous-jacentes (iii-iv). La membrane séreuse (v) recouvre la couche musculaire externe. L'épithélium (Ib) est constitué de divers types cellulaires : les cellules à goblet, les cellules de Paneth et les neutrophiles (Id). Les lymphocytes se trouvent dans les plaques de Peyer [32, 39, 40].

1.2.1 Les barrières de protection du tube digestif

La densité microbienne dans le colon est estimée à 10^{11} - 10^{12} cellules par millilitre [41]. L'intestin et le colon doivent ainsi continuellement se protéger contre les bactéries et pathogènes du microbiome, et ce sur une surface d'environ 200 m² que représente l'épithélium digestif [42]. L'épithélium intestinal permet cette protection. Une barrière épithéliale efficace est constituée des composantes physique, chimique et cellulaire. Une défaillance dans la composante physique contribue à une augmentation de la perméabilité de l'épithélium intestinal alors qu'une défaillance dans les défenses chimiques ou immunitaires entrainera une dysbiose qui modifiera la composition du microbiome. Ces trois phénomènes peuvent mener éventuellement à des maladies inflammatoires de l'intestin comme la colite ulcéreuse (CU) ou la MC [43-45].

1.2.1.1 La barrière physique

La barrière physique repose essentiellement sur le maintien d'une cohésion entre les cellules qui forment la couche épithéliale. Ceci est possible grâce aux jonctions serrées présentes à la membrane plasmique des cellules et qui assurent une étanchéité face au microbiome [46]. Les jonctions serrées sont composées de différentes protéines comme les occludines [47] et les claudines [48]. Les occludines sont des protéines transmembranaires qui forment les jonctions serrées des cellules épithéliales [49, 50]. Les claudines jouent un rôle central dans la barrière épithéliale en scellant les jonctions serrées [51]. C'est le cas des claudines-1,-3,-4,-5, et -8 [52-

56] tandis que les claudines-2, -10b ou -15 permettent le passage sélectif de petits ions comme le sodium et le chlore [57-59]. Un défaut de ces jonctions serrées augmente la perméabilité de l'épithélium au microbiome ce qui augmente la susceptibilité aux colites [60]. Une analyse réalisée sur des biopsies de colon de patients atteints de maladies inflammatoires de l'intestin a montré une diminution du nombre de jonctions serrées. L'expression des occludines, claudine-1 et 2 était diminuée [61] et les claudines 5 et 8 étaient redistribuées à l'extérieur des jonctions serrées [62]. De plus, des variations génétiques dans les protéines responsables de l'assemblage des jonctions serrées, comme *Partitioning-defective Protein 3* (PAR3) et *Membrane-associated guanylate kinase protein 2* (MAGUK), ou dans leur régulation, tel *Hepatocyte nuclear factor 4-alpha* (HNF4 α), ont été associés à des maladies inflammatoires de l'intestin [63, 64]. Aussi, HNF4 α régule l'expression des claudine-4, -8 et -15 [65].

1.2.1.2 La barrière chimique

La défense chimique compte plusieurs composantes réunis en deux grandes classes, le mucus et les peptides antimicrobiens. Les cellules à goblet sécrètent le mucus qui recouvre l'épithélium afin de créer une barrière contre les agressions causées par le bol alimentaire, les microbes et les sous-produits bactériens [33]. L'épaisseur de cette couche de mucus varie proportionnellement avec la densité microbienne [33], une densité qui augmente au fur et à mesure du transit vers le colon [66]. La production du mucus est constitutive et à faible niveau, et le niveau de sécrétion dépend des mouvements des granules de sécrétion par le cytosquelette [67,

68]. Toutefois, suite à une stimulation, par des sous-produits microbiens comme le lipopolysaccharide (LPS) et la flagelline, et des cytokines pro-inflammatoires, comme l'interleukine (IL)-1 et le *tumor necrosis factor* (TNF) α , une exocytose importante des granules peut être induite [69].

Le mucus est une composante d'adhésion pour les bactéries vivant dans le microenvironnement externe à la couche de mucus. Des changements dans la quantité et la composition du mucus influence la population microbienne. Une dérégulation des mucines peut résulter en une faille de la barrière épithéliale envers le microbiome. Une réponse immunitaire sera alors activée ce qui peut résulter en une inflammation chronique et mener au développement d'une MII comme la MC et la CU [70]. Des changements d'expression des mucines ont été observés dans les MII. La mucine, une glycoprotéine, est la principale composante du mucus et permet la formation d'une substance ressemblant à du gel [67, 68]. Les mucines 1 (MUC1), MUC3A, MUC3B, MUC4, MUC5B diminuent et MUC13 augmente dans la MC, et MUC17 et MUC2 diminuent et MUC1 et MUC13 augmentent dans la CU [71]. Certains gènes codant pour des mucines ont été associés aux MII. *MUC1* [72], *MUC2* [73] et *MUC3A* [74] ont été associés à la MC, et *MUC3A*, *MUC4* et *MUC13* ont été associés à la CU [71].

Le mucus contient aussi d'autres produits comme des peptides antimicrobiens sécrétés par les cellules de Paneth [34, 75]. Les cellules de Paneth sécrètent, plus particulièrement les défensines, les lysozymes et les cathélicidines [34]. Par leur action bactéricide, ces peptides antimicrobiens permettent un contrôle de la population microbienne [34], en organisant sa composition pour élimination des microbes nuisibles [76]. Ils offrent donc une protection contre les pathogènes [34]. Il a été démontré que les niveaux de peptides antimicrobiens sont altérés dans les MII

[40, 77]. De plus, un déficit d'expression de la β -défensine 2 est associé à une augmentation de la susceptibilité à la MC [78].

1.2.1.3 La barrière cellulaire

La barrière cellulaire est composée d'une part des entérocytes et d'autre part des cellules immunitaires spécialisées. Les entérocytes de la barrière épithéliale doivent pouvoir faire la distinction entre les micro-organismes pathogènes, de ceux qui sont bénéfique, comme les bactéries commensales. Ceci est possible grâce à l'expression de récepteurs membranaires, comme les *toll-like receptor* (TLR)4 et TLR5, capables de reconnaître les structures bactériennes telles que les polysaccharides et les protéines de leur membrane [79]. Si un micro-organisme réussit à traverser la barrière épithéliale physique, des molécules chimiotactiques sont relâchées par les cellules endothéliales ou les bactéries [80] amenant ainsi le recrutement, au site d'infection, de cellules immunitaires comme les neutrophiles et les monocytes [81].

Les neutrophiles qui migrent au site d'infection phagocytent les bactéries afin de contrer cette invasion [82]. Ils peuvent relâcher des enzymes lytiques de leurs granules en plus de produire des molécules dites dérivés réactifs de l'oxygène qui contribuent à l'élimination des bactéries par leur effet bactéricide [83, 84]. L'attaque des neutrophiles s'accompagne d'inflammation et de dommages tissulaires, et si l'invasion microbienne perdure une inflammation chronique peut se développer et mener à des MII.

Les cellules dendritiques quant à elles sont capables de traverser la barrière épithéliale afin d'atteindre les bactéries et de limiter leur infiltration [85, 86]. Les cellules dendritiques jouent ainsi le rôle de senseur du microbiome intestinal [46]. De plus, les cellules dendritiques expriment des protéines des jonctions serrées leur permettant ainsi de s'intercaler entre les entérocytes afin de réaliser leur fonction de capture des antigènes de la lumière intestinale [46].

Les cellules *microfold* (cellules M) permettent le transport transépithélial des antigènes étrangers et elles permettent aux cellules dendritiques sous-jacentes de capturer les microbes [87]. Elles se retrouvent principalement au niveau des plaques de Peyer, mais aussi dans les villi intestinaux[31].

La barrière intestinale cellulaire est aussi contrôlée par des lymphocytes T intraépithéliaux. Les lymphocytes $\gamma\delta$ sont les plus abondants (60% des lymphocytes intraépithéliaux) [88, 89]. Ils sont la première ligne de défense du système immunitaire acquis contre les pathogènes intestinaux [90]. Lorsque l'épithélium est endommagé, ils jouent un rôle important dans sa réparation [91]. De plus ils jouent un rôle majeur dans la restriction de l'entrée des bactéries commensales par la relâche de peptides antimicrobiens comme la cathelicidine et l'élafine [92, 93].

1.3 Les maladies inflammatoires de l'intestin (MII)

Les deux principales formes de MII sont la MC et la CU (Tableau I). Ces MII partagent la caractéristique commune d'une réponse inflammatoire. Toutefois elles diffèrent, entre autre, par la localisation de l'inflammation. La MC peut affectée toutes les parties du tube digestif, de la bouche à l'anus. Cependant, c'est l'iléon

terminal qui est la portion de l'intestin qui est le plus souvent affectée (Figure 1). L'inflammation, dans la MC, est caractérisée par des segments d'inflammation séparés par des régions de tissus sains. C'est une inflammation transmurale, c'est-à-dire qu'elle peut affecter toutes les couches de la paroi intestinale. Les régions d'ulcération profonde peuvent former des granulomes ou des fistules reliant l'intestin à d'autres organes ou à la peau adjacente. L'inflammation dans la CU se limite généralement au rectum et au colon sigmoïde. Contrairement à la MC, on observe que la région enflammée est continue dans la CU. L'inflammation retrouvée dans la CU se limite le plus souvent à la muqueuse mais peut cependant atteindre la sous-muqueuse au fur et à mesure que progresse la maladie [39, 94].

L'incidence des MII varie de 3 à 14 cas par 100 000 habitants selon les populations. L'incidence est plus grande dans les populations de l'Amérique du Nord, du Royaume-Uni et le nord de l'Europe [95-99]. Ces données varient selon le groupe ethnique. Chez les juifs ashkenazi, il y a une prévalence plus élevée pour ces maladies [100]. La prévalence des MII en Amérique du Nord et au nord de l'Europe a augmenté rapidement depuis le début et milieu du 20^e siècle [101]. Cette augmentation de l'incidence des MII, accompagnée d'une population de plus en plus industrialisée, a contribué à émettre l'hypothèse des conditions d'hygiène aseptiques. L'hypothèse propose qu'une faible exposition à certains agents infectieux durant l'enfance, résultant d'un accroissement des conditions d'hygiène, induirait une réponse immunitaire hyperactive plus tard dans la vie [102]. Il est connu que l'environnement et le style de vie sont des composantes importantes dans le risque de développer ces maladies. Des facteurs comme la diète, la pratique de l'allaitement

maternel, l'usage de contraceptifs oraux et les infections durant l'enfance contribuent à l'étiologie des MII. Toutefois, les plus fortes associations sont le tabagisme et l'appendicectomie qui augmentent la susceptibilité de développer la MC, mais le tabagisme semble protecteur dans le cas de la CU [103, 104].

À ces facteurs environnementaux s'ajoute une composante génétique. En effet, plusieurs études ont montré qu'une personne affectée par la maladie possède déjà un membre de sa famille ayant la maladie dans 5-10% des cas [105-108]. Les études de jumeaux apportent des évidences additionnelles de la contribution génétique dans les MII. La concordance est significativement plus grande dans les jumeaux monozygotes que dizygotes pour la MC (50-58% versus 12%) et la CU (6-14% versus 0-5%)[108].

Tableau I : Comparaison de la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse

| | Maladie de Crohn | Colite Ulcéreuse |
|--------------------------------------|--|---|
| Incidence | 3,1-14,6 par 100 000 | 6 à 14,3 par 100 000 |
| Présentation clinique de la maladie | <p>Toutes les parties du tube digestif, de la bouche à l'anus, peuvent être affectées</p> <p>La plupart des cas sont dans l'iléon terminal et début du colon</p> <p>La moitié des patients ont à la fois l'iléon et le colon d'affectés</p> <p>Le tiers des patients adultes ont une maladie limitée à l'iléon</p> <p>De 20 à 25% des cas sont limités au colon</p> <p>Inflammation de la muqueuse, la sous-muqueuse et de façon transmurale</p> <p>L'inflammation apparaît de manière discontinue</p> | <p>Apparaît premièrement dans le rectum et progresse de manière proximale</p> <p>L'inflammation est restreinte au colon</p> <p>Inflammation de la muqueuse mais non-transmurale</p> <p>Inflammation de façon continue</p> |
| Distribution sociogéographique | Plus haut taux dans les latitudes nordiques et dans les populations industrialisées, urbaines et riches | Plus haut taux dans les latitudes nordiques et dans les populations industrialisées, urbaines et riches |
| Facteurs de risques environnementaux | Le tabagisme et l'appendicectomie sont des facteurs de risque aggravant | Le tabagisme et l'appendicectomie semblent protecteurs |

(Adapté de Budarf et al, 2009 [39])

Chapitre 2: Le système immunitaire

Le microbiome intestinal est impliqué dans l'homéostasie et le fonctionnement du système immunitaire local. Un équilibre entre le microbiome intestinal et les mécanismes de défense est retrouvé normalement dans l'intestin des individus sains [109]. La capacité à se défendre contre une invasion de microorganismes dépend du système immunitaire inné et acquis. Les bactéries commensales tout comme les pathogènes influencent autant le système immunitaire inné qu'acquis et ils peuvent provoquer une inflammation chronique de la muqueuse qui, ultimement, peut mener au développement des MII [110]. C'est ainsi que les cellules immunitaires des systèmes inné et acquis, présentent des récepteurs capables de lier et ainsi détecter la présence de pathogènes.

2.1 L'immunité innée

Le système immunitaire inné déclenche une réponse rapide mais non spécifique face à aux agents microbiens (bactéries et virus). Les molécules qu'ils portent à leur surface sont reconnues par des récepteurs, les TLR et les *tumor necrosis factor receptors* (TNFR), présents à la surface des cellules épithéliales de l'intestin qui déclenchent les mécanismes de réponse du système immunitaire inné en cas d'invasions pathogènes. Un de ces mécanismes est l'activation de la voie *Nuclear Factor-kappa B* (NF-kB) [111] (Figure 3). NF-kB est un facteur de transcription dimérique formé des sous-unités p50 et p65 [112]. Dans les cellules au repos, NF-kB est maintenu dans le cytoplasme par son association avec son inhibiteur IκB, qui

masque le signal de localisation nucléaire [112]. Les cellules immunitaires, comme les monocytes/macrophages, les lymphocytes B et les cellules dendritiques peuvent être stimulées par des cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL-1 et le TNF α , et par des polysaccharides et peptides des micro-organismes, comme le LPS et la flagelline, qui s'associent aux divers récepteurs du système immunitaires comme les TLR et les TNFR [113, 114]. Les signaux d'activation transmis par des récepteurs amènent le complexe I κ B kinase (IKK) à phosphoryler I κ B ce qui entrainera son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome. NF- κ B pourra ainsi se transporter dans le noyau et agir sur la transcription de certains gènes [115]. Par exemple, l'activation de NF- κ B mène à l'augmentation de la transcription des gènes qui encodent pour des chimiokines, des cytokines, des molécules d'adhésion comme *intercellular adhesion molecule 1*, *vascular cell adhesion molecule-1* et *endothelial-leukocytes adhesion molecule 1* ainsi que des inhibiteurs de l'apoptose [116-118]. Certaines de ces molécules ont un pouvoir chimiotactique et sont nécessaires pour stimuler les cellules inflammatoires et phagocytaires à migrer vers le tissu où NF- κ B est activé.

Cette activation du complexe IKK, composé de IKK α , IKK β (unités catalytiques) et IKK γ (unité régulatrice) [114], est le point de convergence de plusieurs voies de signalisation menant toutes à l'activation de NF- κ B (Figure 3).

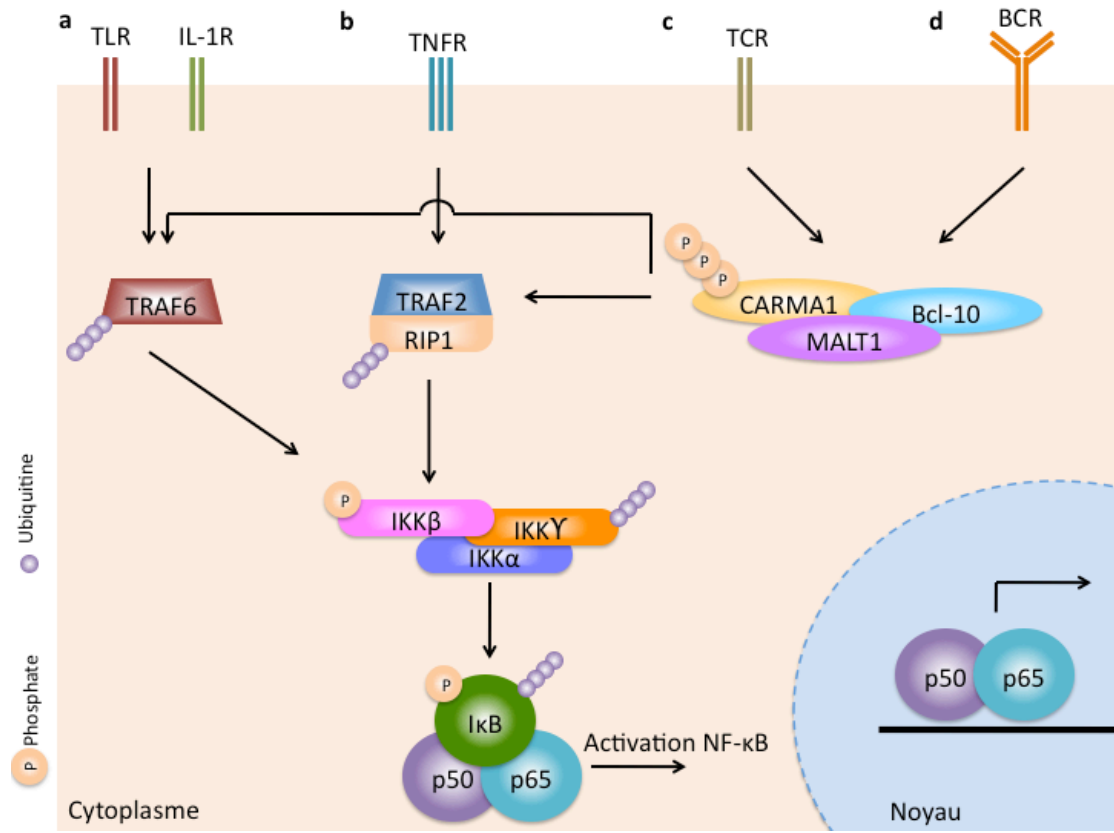


Figure 3 : La voie biologique NF-κB

La capacité à se défendre contre une invasion de microorganismes dépend du système immunitaire inné par la voie des TLR, IL1R (a) et TNFR (b), et du système immunitaire acquis par les TCR (c) et BCR (d) (Adapté de Rawling *et al.*) [119].

La voie du récepteur à l'IL-1 et certains TLR activent le TNF *associated protein 6* (TRAF6) (Figure 3a). TRAF6 sera alors polyubiquitinilée et activera la sous-unité régulatrice IKK γ permettant l'activation du complexe IKK [120]. La voie des TNFR active TRAF2 qui liera la protéine *receptor interacting protein 1* (RIP1). Ceci initiera la polyubiquitination de RIP1, le recrutement de IKK γ et son activation, permettant à NF-kB d'être transloqué au noyau et d'activer la transcription de ses gènes cibles [121, 122]. La dérégulation de cette réponse immunitaire de la muqueuse intestinale peut mener au développement d'une MII sévère [123]. Une inhibition excessive de NF-kB amène une augmentation de la mort cellulaire des entérocytes et une diminution de l'expression des peptides antimicrobiens. Ceci perturbe la barrière épithéliale et permet aux bactéries commensales d'envahir la muqueuse et engendrer une colite chronique et sévère [124]. Dans le modèle murin, l'inhibition de l'activité de NF-kB, par *knock-out* constitutif, cause une mortalité embryonnaire [125, 126]. De plus, l'activation constitutive de la voie NF-kB par suppression des différents inhibiteurs, génère une inflammation sévère et une mortalité post-natale précoce [127, 128]. Donc, la voie NF-kB se doit d'être finement régulée afin de maintenir une homéostasie de la réponse immunitaire inflammatoire.

2.1.1 La voie des TLRs

L'analyse phylogénétique nous indique que plusieurs composantes du système immunitaire inné actuellement retrouvé chez les mammifères ont fait leur apparition bien avant l'évolution du système immunitaire acquis. C'est le cas des progéniteurs des TLRs qui sont retrouvés chez des espèces aussi éloignées des mammifères que

Drosophila melanogaster [129]. Ces récepteurs sont exprimés sur certains types cellulaires comme les cellules épithéliales, les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B et T [130-133]. Les signaux émanant des TLRs sont importants dans la prolifération des cellules épithéliales, le maintien des jonctions serrées et l'expression de peptides antimicrobiens [79, 134, 135]. La voie des TLRs induit une puissante réponse pro-inflammatoire. Une régulation négative des TLR par des microacide ribonucléique (microARNs) permet d'éviter une réponse pro-inflammatoire excessive. Ces microARNs lient le 3' *untranslated region* (UTR) des ARN messagers des TLRs et des composantes de la voie des TLRs [136] permettant de limiter leur expression. Le dérèglement de la voie des TLRs amène une susceptibilité aux maladies inflammatoires [137].

Les TLR sont regroupés en une grande famille composée de plus de 11 membres ayant une localisation et des ligands propres à chacun. Dans l'intestin on retrouve principalement les TLR 1 à 9. Leurs expressions varient selon la région du tube digestif mais aussi dans le compartiment cellulaire. C'est ainsi que les TLR1, TLR2, TLR6 et TLR9 sont détectés à la face apicale des entérocytes du colon [138, 139] alors que l'expression de TLR2, TLR3, TLR4, TLR5 et TLR9 se retrouve à leur face basolatérale. Certains d'entre eux sont aussi intracellulaire et localisé au niveau des endolysosomes, c'est le cas de TLR3, TLR7, TLR8 et TLR9 [139]. Le niveau d'expression peut varier avec l'état de la maladie : TLR2 et TLR4 sont peu exprimés dans sur les cellules épithéliales du colon d'individus sains. De plus, l'expression des TLR2 et TLR4 est plus élevée dans le cas de MII et le TLR4 se retrouve plutôt à la face apicale dans la MC active [138]. Le TLR5 est normalement abondant dans le

colon et l'intestin grêle [139], mais son expression est diminuée dans les cas de MII [138].

Les ligands des TLR sont très variés, allant des peptides et polysaccharides bactériens, pour le TLR2 [140, 141], TLR4 [142], TLR5 [143], TLR6 [139] jusqu'aux acides nucléiques bactériens et viraux comme pour TLR3 [144], TLR7, TLR8 [139] et TLR9 [145]. Ces ligands induisent l'activation de la voie NF- κ B via les TLR. Le système immunitaire inné possède un autre mode d'activation de cette voie : les TNFR.

2.1.2 La voie des TNFR

Le TNF α régule plusieurs fonctions [146], dont l'inflammation et la réponse immunitaire, en se liant aux récepteurs TNFR1 et TNFR2 [147]. Le TNF α est sécrété par les macrophages activés suite à la phagocytose d'antigènes étrangers [80]. C'est un inducteur puissant de l'inflammation et il a un rôle important dans le développement de l'inflammation intestinale [148, 149]. La liaison de TNF α avec TNFR1 amène le recrutement de la protéine *TNF-R1-associated death domain* (TRADD) qui à son tour recrute la protéine *FAS-associated death domain*. Ce complexe recrutera ensuite TRAF2 et RIP1 (Figure 3b). Cette liaison de TRAF2 et de RIP1 à TRADD active le complexe IKK [150, 151]. RIP1 sera polyubiquitinilé et permettra le recrutement et l'activation du complexe IKK [152]. RIP1 peut aussi activer la phosphorylation de *TGF β activated kinase 1* (TAK1) ce qui permettra la phosphorylation de IKK β et subséquemment la phosphorylation de I κ B permettant à

NF- κ B d'être transloqué au noyau et d'activer la transcription de gènes cibles [120-122].

Plusieurs mécanismes d'immunorégulation de la réponse inflammatoire existent comme le *transforming growth factor* (TGF) β et l'IL-10. Le TGF β est une cytokine ayant un effet immunosuppresseur et un rôle dans la tolérance orale décrite dans la prochaine section [153, 154]. Cette cytokine inhibe la réponse immunitaire à plusieurs niveaux. Son effet sur les lymphocytes T inclut l'inhibition de l'activation induite par l'antigène, la prolifération et la différenciation [155]. L'IL-10 est une puissante cytokine immunorégulatrice. Chez le modèle murin déficient en IL-10, on observe le développement d'une colite spontanée [156]. Si une invasion microbienne ne peut être contrôlée par le système immunitaire inné, des signaux pro-inflammatoires sont relâchés et ceux-ci activeront la réponse du système immunitaire acquis.

2.2 L'immunité acquise

Le microbiome influence la fonction immunitaire à plusieurs niveaux entre autre par l'induction de l'immunité mucoale [157] et la tolérance orale [158-160]. À son tour, le système immunitaire influence la composition du microbiome [161] et il peut contribuer à certains troubles immunitaires comme les MII. Le système immunitaire acquis est responsable d'initier une réponse spécifique face à des antigènes étrangers et c'est principalement dans l'intestin que se fait la rencontre entre antigènes et cellules immunitaires. La reconnaissance des antigènes du microbiome est importante pour préserver l'homéostasie de la réponse immunitaire.

La présentation d'antigènes dans l'intestin apporte une tolérance locale qui se définit comme une réponse non-inflammatoire à l'égard de l'antigène. Une rupture de cette tolérance, par exemple envers les antigènes bactériens, peut déclencher une susceptibilité aux MII [162].

La détection des antigènes se fait grâce aux TCR, et aux BCR qui sont des protéines de la famille des immunoglobulines [163]. Ces cellules B et T sont présentes, entre autre, dans l'intestin au niveau des plaques de Peyer. Ces structures sont des îlots lymphoïdes organisés de manière comparable à un ganglion lymphatique, c'est-à-dire avec de larges follicules de lymphocytes B et des zones de lymphocytes T [164]. Les plaques de Peyer jouent un rôle de défense immunitaire au niveau de l'intestin. Les cellules M, retrouvées à la surface des plaques de Peyer, délivrent de petits échantillons d'antigènes étrangers provenant de la lumière intestinale [165]. Les cellules M, suite à l'endocytose, transportent les antigènes aux lymphocytes B et T localisées sous leur membrane basale [30]. Ceci permet de monter une réponse immunitaire appropriée et contrôlée face au microbiome. Les plaques de Peyer contiennent aussi des cellules dendritiques [166]. Grâce à leurs prolongements cytoplasmiques, ils sont responsables de la capture des antigènes à travers l'épithélium intestinal pour la présentation d'antigènes [46, 167, 168] ou une tolérance aux protéines du bol alimentaire [169]. Dans l'intestin, cette tolérance prévient l'induction d'une réponse immunitaire face aux antigènes du soi et des microorganismes commensaux requis pour la fonction digestive [164].

2.2.1 Voie des TCRs

Dans les cellules T, l'activation de la voie des TCR a plusieurs effets cytotoxiques et proinflammatoires dont l'activation de la voie NF- κ B afin d'activer la transcription de gènes cibles comme le TNF α . La reconnaissance de l'antigène par le TCR engendre sa phosphorylation. Il s'en suit une cascade de phosphorylations permettant l'activation de la phospholipase C (PLC)- γ 1. PLC- γ 1 catalyse l'hydrolyse des phospholipides de la membrane plasmique générant un second messenger qui activera la protéine kinase C (PKC) θ . Il y aura stimulation de PKC θ qui sera transloqué vers la synapse immunologique créé au foyer du contact du lymphocyte T et de la cellule présentatrice d'antigènes [170, 171]. PKC θ est responsable de la phosphorylation de *Caspase recruitment domain-containing protein 11* (CARMA1) sur les résidus sérines (Figure 3c) [172, 173]. Cette phosphorylation engendre un changement conformationnel de CARMA1 qui permet sa liaison avec *B-cell lymphoma/leukemia 10* (BCL-10) pour former un complexe protéique. Ce complexe de CARMA1 et de BCL-10 recrutera alors *Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1* (MALT1). Finalement, le complexe CARMA1-BCL-10-MALT1 interagit avec TRAF2 et TRAF6 afin d'activer la cascade menant à l'activation de NF- κ B (Figure 3) [172-174].

2.2.2 Voie des BCRs

Dans les cellules B, le BCR est composé d'une sous-unité Ig membranaire qui lie les antigènes et une sous-unité signalétique intracellulaire (Figure 3d). La reconnaissance de l'antigène par le BCR induit la phosphorylation de sa sous-unité

signalétique. Cette phosphorylation de BCR, tout comme pour le TCR, entrainera l'activation de NF- κ B. Toutefois, chez les lymphocyte B, PLC- γ 2 et PKC β joueront les rôles de PLC- γ 1 et PKC θ respectivement [175, 176].

On constate que dans l'intestin, l'homéostasie de la réponse immunitaire face aux antigènes du microbiome est régulée par différentes voies, comme les TLRs, TNFRs, TCR, et BCR, et par différents types cellulaires. C'est un processus biologique important dont les dérèglements entraînent une susceptibilité aux maladies inflammatoires [137].

Chapitre 3 : Le traitement des MII

Les maladies inflammatoires de l'intestin sont le résultat d'un dérèglement du système immunitaire menant à une inflammation chronique de certaines portions du tube digestif ou parfois dans son intégralité [177]. Il existe une multitude de traitements pour contrôler les symptômes de ces maladies afin de maintenir une rémission chez le patient. Le défi pour le médecin traitant est grand car chaque médicament a une efficacité variable et son lot d'effets secondaires qui varient selon l'état et la réponse physiologique du patient.

Historiquement, au début du 20^e siècle, des médecins remarquèrent que certains patients avaient une diminution de leurs symptômes de colite ulcéreuse lorsqu'ils prenaient leur médication pour leur arthrite rhumatoïde [178]. Sachant qu'une réponse immunitaire désordonnée est présente dans les deux maladies, ces observations ont contribué au développement des principaux traitements des maladies inflammatoires de l'intestin qui visaient à atténuer la réponse immunitaire. Les traitements actuels visent contrôler les symptômes plutôt que de traiter directement les mécanismes pathogéniques sous-jacents [179]. Les corticoïdes, les aminosalicyles et les agents immunosupresseurs, comme l'azathioprine, sont couramment utilisés [180]. Certains antibiotiques sont aussi efficaces dans certains cas.

3.1 Les thérapies pharmacologiques classiques

3.1.1 Les aminosalicylates

Les aminosalicylates sous forme topique et orale sont utilisés chez les patients ayant des symptômes légers et modérés de leur maladie inflammatoire de l'intestin. Ce médicament possède un large spectre d'effets sur le système immunitaire. Ces effets sont l'inhibition de la production d'IL-1, de TNF α et l'inhibition de l'activité de NF-kB [181]. Les aminosalicylates oraux sont efficaces dans les cas de colites ulcéreuses légères à modérées et leur taux de réponse est de 60-80% [182]. Leur efficacité dans les cas de MC est moins frappante et exige des doses plus élevées que chez la CU [183].

3.1.2 Les corticostéroïdes

Les corticostéroïdes sont utilisés pour les symptômes plus sévères. Ce traitement, bien qu'efficace, reste temporaire puisqu'il engendre beaucoup d'effets secondaires et ne permet pas de maintenir une rémission [184]. La réponse aux stéroïdes peut être diverse : de la non-réponse à la dépendance. Les patients présentant une réponse aux stéroïdes voient une amélioration clinique de leurs symptômes habituellement dans les deux semaines suivant l'initiation du traitement et ils maintiennent une rémission en présence d'une dose décroissante ou discontinuée. Les patients dépendants aux stéroïdes répondent bien aux stéroïdes mais ils ont une rechute lorsque la dose diminue. Finalement, les patients qui ne répondent pas aux

stéroïdes ne voient pas leurs symptômes s'améliorer et ce malgré de fortes doses de stéroïdes [184].

3.1.3 Les immunosuppresseurs

Plusieurs médicaments initialement développés pour la chimiothérapie anticancéreuse ou des agents immunosuppresseurs utilisés dans les cas de transplantation d'organes ont été adaptés pour le traitement des MII. Malgré leurs effets secondaires considérables, les immunosuppresseurs sont plus sûrs et ils sont mieux tolérés que la thérapie par stéroïdes [185].

L'azathioprine et les mercaptopurines sont utilisés pour le traitement des MII depuis les années 1970. Leur effet complet peut être observé au bout de trois mois de traitement continu et ils sont bénéfiques dans 50-70% des cas de MC sévères [184]. Le mercaptopurine et l'azathioprine sont utilisés pour les cas de MII sévères chez des patients soit résistants ou soit dépendants des stéroïdes [186]. Leur principal effet est de diminuer la synthèse de purines et d'inhiber la prolifération cellulaire. Ces molécules ont montré leur efficacité pour maintenir une rémission dans les MII.

Le méthotrexate bloque la synthèse d'acide déoxyribonucléique (ADN) et cause la mort cellulaire. Utilisé initialement dans le traitement du cancer, il a été reconnu ensuite pour ses effets bénéfiques sur les maladies auto-immunes comme l'arthrite rhumatoïde et le psoriasis. Le méthotrexate est bénéfique dans 70% des cas de MII sévères [187].

La cyclosporine est une molécule immunosuppressive utilisée dans la transplantation d'organes. Cette drogue est aussi utilisée pour le traitement des MII

depuis les années 1980. La cyclosporine orale est moins efficace dans une thérapie de maintien que la cyclosporine intraveineuse. Elle peut être utilisée dans le traitement des fistules, mais les rechutes sont fréquentes et d'autres stratégies médicales sont plus adéquates pour traiter cette complication [188].

3.1.4 Les antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être utilisés en combinaison à d'autres médicaments, comme les immunosuppresseurs, pour le traitement des MII actives [184, 189]. Le métronidazole, le ciprofloxacine, et la clarithromycine sont les antibiotiques les plus utilisés [189]. Ces antibiotiques sont souvent utilisés pour induire une rémission dans les cas de MC légères et modérées. Ils sont importants dans le traitement des fistules, le surdéveloppement bactérien et les abcès abdominaux [190].

3.2 Les thérapies biologiques

Au cours de la dernière décennie des voies biologiques spécifiques ont été ciblées afin de contrôler la réponse immunitaire et ainsi traiter les MII. Les thérapies biologiques permettent de cibler plus efficacement certaines voies biologiques clés impliquées dans le processus inflammatoire.

Lors d'une invasion microbienne des médiateurs sont relâchés afin de monter une réponse immunitaire appropriée et contrer cette invasion. Dans les MII, cette réponse est exagérée et elle est responsable de l'inflammation chronique. Les médiateurs de l'inflammation dans les MII comprennent la cytokine pro-

inflammatoire TNF α , et la glycoprotéine de surface intégrine α 4. Des études ont démontré que les concentrations de TNF α sont plus élevées dans les fèces [191], dans la muqueuse intestinales [192, 193] et dans le sang des patients atteints d'une MII [194].

Ainsi, des anticorps contre le TNF α ont été développés. Ils ont montrés leur efficacité dans le traitement des colites induites dans un modèle animal [195, 196]. Ces nouvelles thérapies sont utilisées pour le traitement des patients atteint de MII pour qui les thérapies traditionnelles n'ont pas fonctionné à réduire l'état d'inflammation et à induire une rémission soutenue.

Les anti-TNF α sont intéressants pour le traitement des MII car leur action inhibitrice est dirigée sur l'activité de la cytokine pro-inflammatoire TNF α . Le premier médicament de cette catégorie mis en marché et approuvé pour le traitement de la maladie de Crohn est l'infliximab [197]. C'est un anticorps chimérique (75% humain et 25% murin) [198, 199] qui diminue la fréquence des poussées dans près des deux tiers des cas sévères de MC en plus de faciliter la fermeture des fistules [200].

Adalimumab est un anti-TNF α semblable à l'infliximab. Cet anticorps est entièrement humanisé et il est administré de manière sous-cutanée. L'efficacité de l'adalimumab est comparable à l'infliximab et il est bien toléré chez les patients qui présentent une intolérance à l'infliximab [201].

Certolizumab pegol est un anticorps anti-TNF α humanisé. Sa demie-vie plasmatique est plus longue comparativement à adalimumab et permet d'être administré mensuellement [202].

Tout comme les anti-TNF α , d'autres traitements visent des voies clés dans le processus inflammatoire. C'est le cas des anti-intégrines $\alpha 4$. Les intégrines $\alpha 4$ ont un rôle dans la migration des cellules immunitaires, comme les neutrophiles, à travers l'endothélium vasculaire. Les intégrines facilitent leur recrutement au site d'inflammation de l'intestin afin d'initier et de maintenir l'inflammation [203, 204]. Le Natalizumab ou le MLN-02 sont des anticorps ciblant les intégrine $\alpha 4$ [205].

Les agents biologiques sont de plus en plus utilisés comme traitements des maladies inflammatoires. Ils permettent d'obtenir une période et un taux de rémission plus efficace que les traitements conventionnels pharmacologiques [206]. Si ces traitements ont été rendus possibles c'est que les voies biologiques ciblées ont été mises en évidence grâce aux études génétiques. Encore aujourd'hui, aidé par la recherche en génétique, de plus en plus de voies biologiques sont associées aux MII et notre compréhension grandissante laisse entrevoir de grandes promesses.

Chapitre 4: La génétique

4.1 Le génome

En 2001, le séquençage du génome humain fut terminé et permis de constater qu'il contient 3 milliards de paires de bases et compte environ 31 000 gènes codants pour des protéines [207]. Au cours de l'évolution des mutations sont apparues dans la séquence des nucléotides, causant parfois des maladies. Les mutations causales apparaissent sur une copie du génome et s'accompagne d'un ensemble d'allèles. Dans les loci à proximité, cet ensemble d'allèles forme un haplotype. Le taux de recombinaison étant faible (~1 croisement par 100 mégabases par génération), il apparait un déséquilibre de liaison (DL) [208]. Ceci se traduit par une combinaison d'allèles ou de marqueurs génétiques plus ou moins souvent que ce qui est attendu par une formation aléatoire des haplotypes basés sur leurs fréquences dans une population [209]. Le *International HapMap Project* a débuté en 2002 et il avait pour but de caractériser les fréquences des *single nucleotide polymorphisms* (SNP) et les motifs des DL du génome humain chez 270 échantillons de l'Europe, l'Asie et l'Afrique de l'ouest. Le projet a génotype environ 1 million de SNP en 2005 [210], plus de 3 millions en 2007 [211] et maintenant autour de 10 millions de variants rares et communs [212]. Toutes ces informations sur les motifs des DL et les variants du génome ont permis leur utilisation pour des études génétiques dans le contexte de maladies complexes.

4.2 Les études génétiques

Plusieurs maladies ont une composante héréditaire c'est-à-dire que des variations dans les gènes contribuent au développement de la maladie ou influencent le risque d'en développer une. La transmission de ces variations géniques des parents à leur descendance forme un schéma familial d'héritabilité [213]. Cette influence de la génétique est plus franche pour les maladies monogéniques dominantes et récessives qui ne nécessitent qu'une mutation dans un gène particulier pour causer la maladie ou la mutation des deux allèles respectivement. D'un autre côté, dans le cas des maladies à traits complexes ou polygéniques plusieurs gènes peuvent contribuer à la pathologie mais à des niveaux individuel moindre [214]. C'est ainsi que le simple fait d'avoir une variation génique n'assure pas le développement de la pathologie mais plutôt confère un risque accru. Une maladie est dite à forte pénétrance lorsque le schéma familial d'héritabilité montre un transfert du risque important. Le concept de pénétrance ajoute à l'héritabilité stricte la composante de l'effet de l'environnement. Une forte pénétrance des mutations est habituellement délétères ou rares dans un contexte d'évolution de l'espèce. Cette caractéristique de rareté a permis de développer des méthodes d'analyse que sont les études de liaisons et les études d'association.

4.2.1 Les études de liaison

Les études de liaison porte sur des mutations hautement pénétrantes qui ont un effet clair sur l'altération de la fonction d'une protéine [215, 216]. L'identification des régions, sur les chromosomes, porteuses de mutation capable de produire une

pathologie repose sur l'emploi de marqueurs polymorphiques. Ce sont des variations inter individus dans la séquence d'ADN, les SNP. Ces variants sont répartis sur l'ensemble du génome et servent à marquer, en quelque sorte, des régions du génome.

L'héritabilité des maladies communes, comme le diabète et les maladies cardiovasculaires, est de 30-50% [217, 218]. Dans de telles maladies, plusieurs gènes sont impliqués en plus de l'influence de l'environnement. C'est la combinaison de l'hérédité et de l'environnement qui est responsable de la susceptibilité à ces maladies. Puisque ce sont plusieurs gènes qui sont nécessaires pour causer la maladie, le schéma d'héritabilité familial est moins clair comparativement aux maladies monogéniques. Les études de liaison qui avaient été utilisées avec succès pour les maladies monogéniques ont ensuite été appliquées pour les maladies polygéniques. Toutefois, l'identification de régions de susceptibilité dans les maladies polygéniques ont eu moins de succès [216]. L'effet ne provenant pas d'un gène unique ces études de liaison ne possédaient qu'un faible pouvoir de détection des variants génétiques à effet modeste [219-221]. De nouvelles approches ont alors été proposées pour élucider les bases génétiques des maladies complexes : les études d'association.

4.2.2 Les études d'association

Les études d'association permettent d'identifier les régions du génome qui influencent le phénotype. Dans les études d'association pour une maladie, les variants sont génotypés chez les individus atteints et des individus sains. Les fréquences respectives des variants sont comparées entre ces deux groupes. Si un variant est plus fréquent statistiquement dans le groupe atteint que dans le groupe sain, il sera défini

comme un variant associé à la maladie. Un variant peut aussi être plus fréquent statistiquement dans le groupe sain que dans le groupe atteint, il sera défini comme un variant protecteur. Les gènes se trouvant aux abords du variant seront considérés comme des gènes candidats.

La principale différence entre les études de liaison et les études d'association réside dans les groupes à comparer. Dans une étude de liaison, les génotypes sont comparés entre les membres d'une même famille alors que dans les études d'association, cette comparaison est faite avec une population contrôle. Cette distinction entre les deux types d'analyse permet aux études d'association d'être mieux adapté pour trouver des variants génétiques communs avec un effet modeste tandis que les études de liaison ont plus de pouvoir pour identifier les régions contenant un variant avec un effet plus fort [216, 219]. Les études d'association permettent d'identifier une région, plus ou moins grande, contenant le variant. Cette région peut être réduite en utilisant la corrélation entre les variants d'une population grâce au DL. Ainsi, les études d'association permettent d'identifier une région, qui contient un ou plusieurs gènes, mais ces études ne peuvent pas cibler le gène causal dans cette région. Plusieurs approches peuvent être utilisées pour les études d'association : par gène candidat et pangénomique.

4.2.2.1 Approche par gène candidat

Les premières études d'association ont été réalisées selon une approche dite par gène candidat. Ainsi, un ou plusieurs variants d'un seul gène était testé pour sa corrélation avec la maladie. Donc, par cette approche par gène candidat, il était

nécessaire d'avoir un gène suspecté avant même la réalisation de l'étude. Quelques associations entre les gènes *human leukocyte antigen* (HLA) et les MII ont été fait par les études d'association par gène candidat [222]. L'effet modeste de ces variants communs des premières études d'association, limitées à une centaine d'échantillons, typiquement ne présentait pas une forte évidence d'association. En augmentant le nombre d'échantillons et en utilisant des méthodes de génotypage plus robustes, il fut possible d'accéder à des études mieux contrôlées qui ont permis d'effectuer de bonnes études d'association valables [223, 224].

4.2.2.2 Approche pangénomique

Les études d'association pangénomique, contrairement à l'approche par gène candidat, ne ciblent pas un gène en particulier, mais le génome complet. Toutefois, l'approche pangénomique a nécessité quelques outils afin d'être fiable. Ainsi, une base de données des variants communs et leurs corrélations (déséquilibre de liaison) [210, 211, 225] et des techniques de génotypage à haut débit (des centaines de milliers de marqueurs) furent nécessaires [226]. Les premières études d'association de ce type remontent aux années 2006-2007. Elles incluaient quelques centaines d'individus et certaines ont identifié quelques variants communs associés avec des maladies communes comme les MII [227-230].

4.2.3 Les méta-analyses

L'effet modeste de certains variants communs nécessite de larges cohortes afin de détecter et d'atteindre un seuil statistique pangénomique puisque le génome entier

est testé et non seulement une région déjà ciblée. Ainsi, se sont formés des consortiums qui ont uni leurs ressources afin d'augmenter la taille des cohortes. C'était la naissance des méta-analyses d'association. Le résultat fut une explosion de la découverte de nouvelles associations. Il y a près de 1 000 associations entre les variants génétiques communs et les maladies polygéniques [231, 232] comme les MII. Plusieurs loci de susceptibilité aux MII ont été ainsi découverts.

4.3 Les loci de susceptibilité aux MII

Quelques variants communs ont été associés aux MII avant l'ère des études d'association pangénomique. C'est par des études de liaison que le gène *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD2)* [233] et la région *inflammatory bowel disease 5 (IBD5)* [234] ont été associés à la MC. Par la suite, les études d'association pangénomique ont permis d'identifier *tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 15* [235], *IL23R* [228], *autophagy related 16-like 1* [229, 236], *macrophage stimulating 1* [237], *prostaglandin E receptor 4* [238], *immunity-related GTPase family, M* [230], *zinc finger protein 365* [229], *NK2 homeobox 3* [230] et *protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2* [230]. Des études d'association pangénomique ont aussi été faites sur des cohortes CU ce qui a permis d'identifier 22 gènes et régions de susceptibilité [237, 239-242].

En 2008, dans le but d'améliorer le pouvoir de détection de loci dont l'effet est plus modeste, les données de trois études d'association pangénomique indépendantes publiées en 2007 furent utilisées lors d'une méta-analyse [243]. Cette méta-analyse a permis d'identifier ou de valider 32 loci de susceptibilité à la MC dont

21 nouveaux loci de susceptibilité.

4.4 Le locus 1q32

Une des nouvelles régions associées (rs11584383) à la MC se trouve au niveau du chromosome 1q32. Cette région a aussi été associée à la susceptibilité à la CU (rs11584383) [244] et à la sclérose en plaque (rs12122721) [245]. C'est une région de 170 kilobases qui contient quatre gènes : *Chromosome 1 open Reading Frame 106* (*C1orf106*), *Chromosome 1 open Reading Frame 81* (*C1orf81*), *Kinesin family member 21B* (*KIF21B*) et *Calcium channel, voltage-dependant, L type, alpha 1S subunit* (*CACNA1S*). Le SNP associé, rs11584383, est localisé dans la région intergénique entre *C1orf81* et *KIF21B* (Figure 4). L'étendue de la région de susceptibilité définie par rs11584383 fut établit en incluant les gènes se trouvant dans la même région avec une corrélation de 0,5 avec ce SNP (Figure 5).

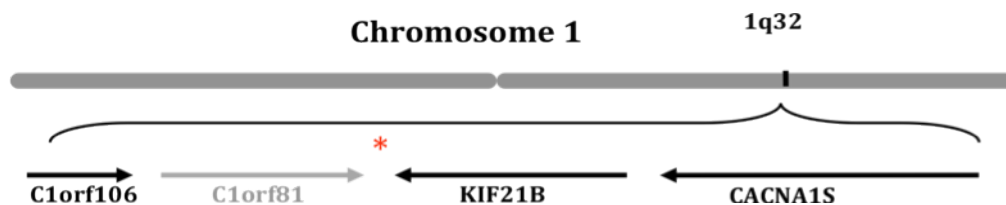


Figure 4 : Représentation schématique de la région 1q32

Le SNP associé, rs11584383, est localisé par une étoile rouge.

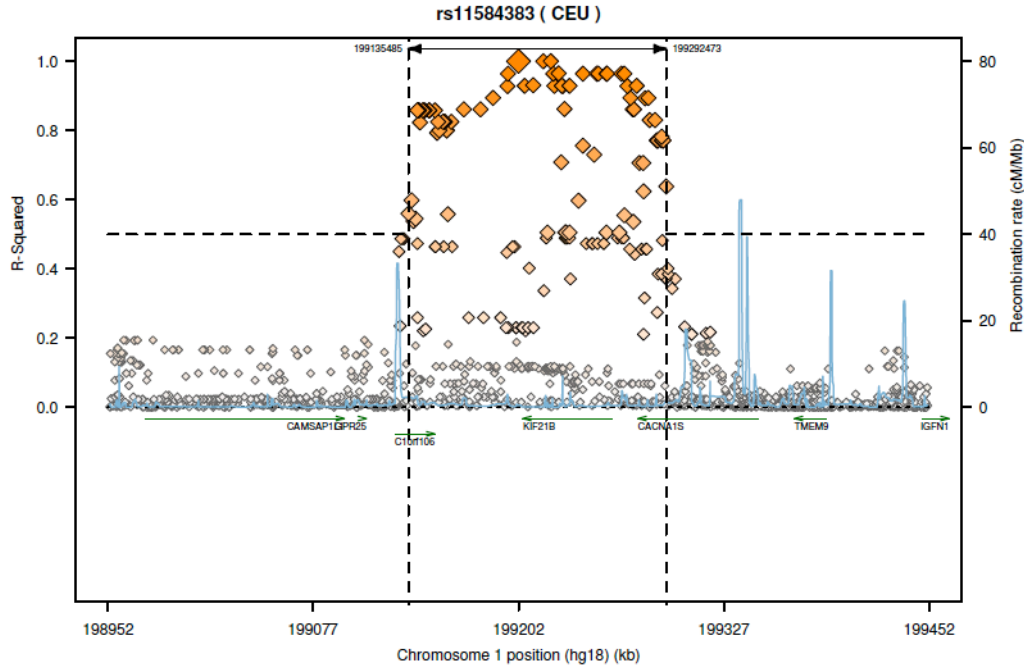


Figure 5 : Analyse d'association de la région 1q32

La corrélation (r^2) entre le SNP significatif associé (rs11584383) et tous les SNPs de la population caucasienne de HapMap (release 21). Tous les SNPs corrélés avec rs11584383 sont représentés par des losanges oranges. La région définie par les SNPs corrélés avec rs11584383 avec un $r^2 > 0.5$ est représentée par les lignes verticales pointillées. Ceci montre que les SNPs corrélés avec rs11584383 définissent une région de corrélation qui s'étend sur 170 kilobases (Figure générée par *SNP Annotation and Proxy Search* (SNAP) [246]).

4.4.1 C1orf81

C1orf81 est un pseudogène unitaire de 2625 nucléotides [213]. Il existe deux types de pseudogènes ; les pseudogènes unitaires et les pseudogènes dupliqués. Les pseudogènes unitaires sont caractérisés par l'absence du gène homologue fonctionnel. Le génome humain compte 76 pseudogènes unitaires [247]. Les pseudogènes dupliqués quant à eux sont la copie d'un gène intact et fonctionnel [247]. Toutefois, la plupart des pseudogènes ont perdu la capacité d'être transcrit et

ainsi de produire une protéine fonctionnelle. Ceci est dû soit à l'accumulation de mutations dans le promoteur qui le rendent non-fonctionnel ou encore sa localisation dans les régions silencieuses du génome [248, 249]. Il arrive que certains pseudogènes soient biologiquement actifs et qu'ils jouent une fonction importante dans la cellule via différents mécanismes. Lorsqu'un pseudogène est transcrit il peut entrer en compétition avec le gène codant homologue et ainsi affecter la stabilité des ARNm et ultimement affecter le niveau d'expression du gène codant [250]. C'est le cas de *octamer-binding transcription factor 4 (OCT4)* qui en générant un ARN antisens ou de *AU76* qui produit des structures en épingles à cheveux régulent les ARNm du gène codant homologue à la façon des petits ARN interférents [250]. De plus, *C1orf81* semble, selon une publication [214], contenir une insertion d'un nucléotide au niveau de l'exon 8 causant ainsi un changement de cadre de lecture. Ce nouveau cadre de lecture amène la création d'un codon stop dans l'exon 9 créant ainsi une éventuelle protéine tronquée [251]. L'expression de *C1orf81* est faible et ubiquitaire dans les différents tissus humain testés [251].

4.4.2 C1orf106

C1orf106 est un gène de 1992 nucléotides qui code pour une protéine de 72,9 kiloDaltons (kDa) [213]. Sa fonction et ses domaines fonctionnels potentiels restent inconnus à ce jour.

4.4.3 CACNA1S

CACNA1S est un gène de 5 622 nucléotides qui code pour une protéine de 212 kDa. *CACNA1S* est une des sous-unités nécessaire à la formation des canaux calciques présents notamment dans les cellules du muscle squelettique. Ces canaux sont nécessaires à l'excitation et la contraction musculaire. En effet, l'excitation et la contraction sont assurées par les variations de la concentration intracellulaire de calcium qui est régulé par ces canaux [252]. Certaines mutations affectent la fonction de la protéine *CACNA1S*. Par exemple, la mutation Tyr1354Ser provoque l'hyperthermie maligne [253] alors que, plusieurs mutations de *CACNA1S* provoquent la paralysie hypokaliémique périodique, une maladie autosomale dominante [254-257]. Dans la littérature, rien à ce jour ne montre un lien entre la fonction de *CACNA1S* et une susceptibilité aux MII.

4.4.4 KIF21B

KIF21B est une protéine de 182,6 kDa de la famille des kinésines. Elle contient 1637 acides amides et trois domaines fonctionnels sont connus : un domaine moteur en N-terminal, un domaine prédit *coiled-coil* et une région de sept répétitions WD40 [258]. Les domaines WD40 sont des motifs d'environ 40 acides aminés constitués de répétitions de tryptophane et d'acide aspartique. Les répétitions WD40 sont présentes dans plusieurs protéines fonctionnellement différentes et elles semblent impliquées dans les interactions protéine-protéine [258]. KIF21B fait partie de la grande famille des protéines motrices. Trois types de protéines motrices ont été identifiés et permettent de véhiculer divers cargo à l'intérieur de la cellule : kinésines, dynéines et

myosines [259]. Les kinésines utilisent les microtubules comme support pour transporter leur cargo et nécessitent l'adénosine triphosphate (ATP) comme énergie afin de générer la force motrice [260]. Quinze sous-groupes de kinésines ont été identifiés, chez les mammifères, jusqu'à présent, pour un total de 46 gènes codants [261, 262]. De façon générale, les familles des kinésines peuvent être classées en 3 types selon la position du domaine moteur : N-kinésines ont un domaine moteur en amino-terminal, M-kinésines ont un domaine moteur au milieu de la protéine et C-kinésines ont un domaine moteur en carboxy-terminal. En général, les N-kinésines et C-Kinésines se déplacent le long des microtubules avec une motilité antérograde et rétrograde respectivement, alors que les M-kinésines dépolarisent les microtubules [263, 264]. Les kinésines sont impliquées dans le transport de diverses molécules ou organelles à l'intérieur de la cellule : KIF1A et KIF1B β dans le transport de vésicules synaptiques [265, 266], KIF1B α et KIF5 dans le transport de mitochondries [267], KIF3A et KIF3B dans le transport de molécules pour l'élongation des neurites sont quelques exemples de transport d'organelles. Les kinésines peuvent aussi transporter des lysosomes et des endosomes. D'autres kinésines sont spécialisées dans le transport de protéines qu'elle déplace du Golgi au réticulum endoplasmique et du réseau trans-golgi à la membrane plasmique. Le transport de ces molécules se fait par un lien entre la queue de la kinésine, c'est-à-dire la région opposée au domaine moteur, et le cargo tandis que le déplacement sur le réseau de microtubules est assuré par le domaine moteur. Bien au-delà de la fonction de protéine motrice, certaines dynéines et kinésines ont des fonctions autant au niveau du réarrangement du cytosquelette que de la réponse immunitaire. Par exemple, il est connu que le réseau

de microtubules est réorganisé lors de la formation de la synapse immunologique qui se forme lors du contact entre un lymphocyte T et une cellule présentatrice d'antigènes. KIF13B se localise dynamiquement à la synapse immunologique et redistribue CARMA-1 de la synapse immunologique à une région distale [268] créant ainsi une forme de régulation de la réponse immunitaire. KIF13B est une kinésine qui régule négativement le signal des TCR vers NF- κ B en s'associant avec CARMA1. Il compétitionne avec Bcl-10 pour une association avec CARMA1.

Chapitre 5 : Objectifs du mémoire

Les études d'association pangénomique ont permis d'identifier un nombre important de gènes et de régions de susceptibilité aux MII [72, 244]. Toutefois, certaines de ces régions contiennent parfois un ou plusieurs gènes. C'est le cas de la région 1q32. Dans certains cas, les études d'association ne permettent pas d'identifier le gène qui est porteur de la susceptibilité dans une région donnée. Il est donc important de procéder à une caractérisation exhaustive des gènes du locus pour déterminer celui qui est responsable de cette susceptibilité.

Le but général de mon mémoire est de déterminer le gène de la région 1q32 qui est impliqué dans les maladies inflammatoires de l'intestin et de définir par quel mécanisme biologique il agit sur la pathologie.

5.1 Définir les profils d'expression des gènes de la région 1q32

Dans le modèle murin, je déterminerai, par la réaction de polymérisation en chaîne quantitatif (qPCR), les profils d'expression tissulaire de C1orf106, C1orf81, KIF21B et CACNA1S. Les ARN totaux provenant de toutes les régions du tube digestif ainsi que des plaques de Peyer seront utilisés. Des analyses par qPCR seront aussi exécutées sur les ARN totaux provenant de populations de cellules immunitaires primaires humaines ainsi que sur des ARN totaux provenant de lignées cellulaires immortalisées et de biopsies intestinales humaines. Selon les résultats obtenus, nous choisirons les gènes les plus probables d'être impliqués dans la pathologie.

5.2 Déterminer l'implication des gènes du locus 1q32 dans les voies biologiques cellulaire

Par les essais fonctionnels basés sur le gène rapporteur de la luciférase et des transfections des plasmides de surexpression dans les cellules *Human Embryonic Kidney* (HEK) 293T, je déterminerai les voies biologiques affectées par les gènes du locus 1q32 présentant un profil d'expression compatible avec la maladie.

5.3 Déterminer le partenaire d'interaction

Suite aux travaux de la section 5.2, nous espérons qu'un gène aura pu être identifié comme influençant une voie biologique importante dans la susceptibilité aux MII. Je planifie utiliser les techniques de spectrométrie de masse et d'immunoprécipitation pour déterminer le ou les partenaires de la protéine codée par le gène candidat de la région 1q32. Ces partenaires seront validés par des co-immunoprécipitations.

Chapitre 6 : Méthodes

6.1 Isolation de l'ARN

Des souris C57BL/6 mâles, protocole approuvé par le comité de déontologie animale de l'Institut de Cardiologie de Montréal, âgés de 3 mois ont été sacrifiées afin de prélever divers organes. Les souris sacrifiées étaient utilisées initialement par un autre laboratoire qui ne prélevait que le cœur ou le cerveau. Nous utilisons donc les autres organes non utilisés afin de réduire le nombre d'animaux nécessaires aux expériences des deux groupes de recherche. La lignée ne présentait pas un profil génétique particulier, comme un *knock-down* ou un *knock-in*, qui aurait pu influencer nos résultats. Plus précisément, le cerveau, le cervelet, le cœur, les poumons, la rate, le foie, les reins, le thymus, le muscle squelettique (quadriceps) ainsi que les différentes parties du tube digestif (œsophage, estomac, duodénum, iléon, caecum, colon, rectum) ont été prélevés dans les trente minutes suivant le sacrifice. Les plaques de Peyer, facilement visible dans le tissu de l'intestin grêle, et/ou le tissu intestinal adjacent ont aussi été prélevés. Les tissus ont été mis dans l'azote liquide (*flash freeze*) dès qu'ils ont été prélevés. Les tissus (30 mg) ont été ensuite réduits en poudre à l'aide d'un pilon et mortier refroidis à l'azote liquide avant d'être utilisé pour en extraire les ARN.

Les ARN ont été isolés de ces tissus en utilisant la trousse *RNeasy Mini* (Qiagen) selon les indications du fabricant. Les ARN totaux ont été élués dans un volume de 30 µl d'eau, traités pour en retirer les nucléases, puis quantifiés sur Bioanalyzer 2100 (Agilent) pour en déterminer la quantité et la qualité. Toutes les

préparations d'ARN ont été conservées à -80°C. Les ARN des cellules primaires CD4+, CD8+, CD14+ et CD19+ proviennent de la compagnie Allcells (Californie, États-Unis).

6.1.1 Biopsies humaines

Des biopsies du colon et du rectum provenant soit de patients atteints de la MC ou de contrôles (biopsies de dépistage du cancer), ont été prélevées au site d'inflammation (pour MC) et dans la région adjacente saine (MC et contrôles) (Hôpital Royal Victoria et Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Montréal, Canada). Au total, 4 biopsies enflammées et 4 biopsies non-enflammées provenant de patients MC, et 4 biopsies de contrôles sains ont été utilisées. Les biopsies des patients ont été sélectionnées selon qu'elles étaient de bonne qualité (ARN peut dégradé) et que des biopsies à la fois de région enflammées et non-enflammées provenaient du même patient. Ainsi, les huit biopsies de patients MC (enflammées et non-enflammées) proviennent de 4 patients ayant chacun fourni une biopsies enflammée et une autre non-enflammée. Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique de l'Institut de Cardiologie de Montréal (#06-867 et # 05-813). Les biopsies ont été conservées dans la solution RNA Later de la trousse *RNeasy Mini* (Qiagen). Les ARN ont été extraits dans les 24 heures suivant l'intervention endoscopique.

6.2 Rétro-transcription

Seulement les ARNs ayant un *RNA integrity number* (RIN) égal ou supérieur à 7,6 ont été utilisés pour la rétro-transcription. Les ARNs (1 µg) ont été rétro-transcrits avec la trousse *High Capacity cDNA Reverse Transcription* (Applied Biosystems) avec le programme 10 minutes à 25°C, 120 minutes à 37°C et 5 secondes à 85°C. Les acides déoxyribonucléiques copies (ADNc) ont été conservés à -20°C.

6.3 PCR quantitatif

Les réactions de PCR ont été amplifiées et quantifiées avec l'appareil Stratagene Mx3005p. Un nanogramme d'ADNc (équivalent RNA rétro-transcript) a été utilisé pour chaque réaction de qPCR. Nous avons utilisé la trousse 2x platinum SYBR green mix de Invitrogen selon les indications du manufacturier en diminuant le volume à 25 µl. Les amorces de qPCR ont été élaborées en utilisant le logiciel Beacon Designer v6.0 (voir Tableau II) et elles ont été validées par la suite. Seules les paires d'amorces présentant un efficacité supérieure à 90% ont été utilisées pour les analyses et une corrélation $r^2 \geq 0.985$. Toutes les amorces ont été utilisées à des concentrations finales de 0,02 µM. Les données d'expression des différents gènes ont été normalisées avec le gène *Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase* (GAPDH).

Tableau II : Liste des amorces pour qPCR

| Gènes | Espèces | Noms des amorces | Séquences |
|----------|--------------------|----------------------|-----------------------------|
| C1orf106 | <i>H. sapiens</i> | HUM-C1orf106-01-sens | CCG ACA GTG GCA TCA TCC |
| | <i>H. sapiens</i> | HUM-C1orf106-01-anti | GAT ACT CCG CTG GCA AGG |
| | <i>M. musculus</i> | MIC-C1orf106-03-sens | GTA CGC AAG CAG CAG AGG |
| | <i>M. musculus</i> | MIC-C1orf106-03-anti | GGC AAA GTC CCA GTC AGC |
| KIF21B | <i>H. sapiens</i> | HUM-KIF21B-01-sens | GTG GCT GGA CCT GAG TTC |
| | <i>H. sapiens</i> | HUM-KIF21B-01-anti | GAT GAG GCG AGA AGT GAC G |
| | <i>M. musculus</i> | MIC-KIF21B-05-sens | AGT GAC CTG TTC CGA GAG |
| | <i>M. musculus</i> | MIC-KIF21B-05-anti | GGA TCA GAG CAC CAA TGG |
| CACNA1S | <i>M. musculus</i> | MIC-CACNA1S-02-sens | TGT CAC TCT TCA CGG TCT CC |
| | <i>M. musculus</i> | MIC-CACNA1S-02-anti | CCA TCT CCA CTC GGT TGT TG |
| C1orf81 | <i>H. sapiens</i> | HUM-C1orf81-01-sens | CAG ATG TGG CAG CCT TAG TG |
| | <i>H. sapiens</i> | HUM-C1orf81-01-anti | GGA GTA GCA GCA GTT CAG C |
| | <i>H. sapiens</i> | HUM-C1orf81-02-sens | CTT CAA GAG CCC ATA GGT TCC |
| | <i>H. sapiens</i> | HUM-C1orf81-02-anti | GAA AGT CTG CGT GGT GAG G |

6.4 Culture cellulaire des HEK293, HEK293T clone 17 et Caco-2

Les lignées cellulaires proviennent directement de l'*American Type Culture Collection* et sont maintenues en culture dans du milieu *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (D-MEM, Gibco), supplémenté avec 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS, Gibco) ou 20% FBS pour les cellules Caco-2. Les cellules sont maintenues en phase logarithmique de croissance jusqu'à une confluence de 90-95%. Les cellules sont alors remises en culture à une dilution de 1 :10 après trypsination pour un maximum de passage de 25 au total. Les autres cellules utilisées pour les études d'expression par qPCR ont été cultivées de la même manière.

6.5 Clonages

Pour tous les clonages (KIF21B carboxy-terminal FLAG, KIF21B delta moteur FLAG, KIF21B WD40 FLAG, C1orf106 amino-terminal FLAG, C1orf106 Y333F FLAG), les ligations ont été faites en utilisant la Quick ligase (New England Biolabs, NEB) 5 minutes à température pièce ou la ligase T4 (Invitrogen) 16 heures à température pièce. Toutes les enzymes de restriction utilisées proviennent de la compagnie NEB.

6.5.1 KIF21B carboxy-terminal FLAG

L'ADNc de KIF21B (Source BioScience clone #9021278) a été sous-cloné dans pCMV-FLAG (dérivé de Clontech #631604, gracieuseté du Laboratoire de Dr Ramnik Xavier, CCIB, Boston, États-Unis) pour obtenir une protéine contenant un

épitope unique. Les sites de restriction Sall et KpnI ont été utilisés à cette fin et ont permis d'obtenir un épitope FLAG (3 x DYKDDDDK) en position carboxy-terminal (Figure 6A).

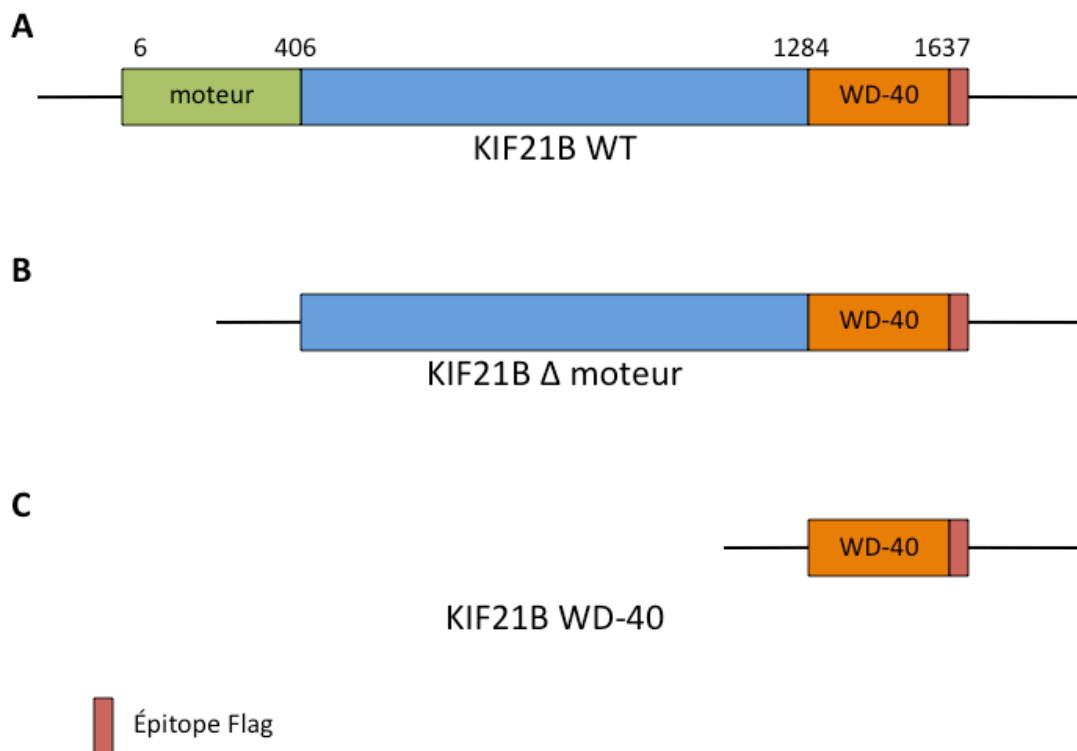


Figure 6 : Schéma des mutants de KIF21B obtenus par clonage

Le clone KIF21B WT, de 1637 acides aminés, contient la séquence codante complète de KIF21B avec un épitope Flag en position carboxy-terminale (A). Le clone KIF21B Δ moteur, de 1231 acides aminés, ne contient pas le domaine moteur de KIF21B (B). Le clone KIF21B WD40, de 353 acides aminés, ne contient que la portion WD40 de KIF21B (C). Les chiffres au-dessus du schéma représentent la position des acides aminés qui délimitent les différents domaines de KIF21B qui ont été utilisés pour le clonage.

6.5.2 KIF21B Δ moteur

Le clone KIF21B carboxy-terminal FLAG (20 μ g ; Figure 6A) a été digéré avec EcoRI (40 U) et HindIII (25 U) afin d'enlever le domaine moteur de la protéine

KIF21B. Une séquence d'ADN (minigène Δ moteur-WD40, Integrated DNA technologies, fait sur mesure voir Figure 7) a été utilisée afin d'insérer un codon méthionine initiateur et une portion du domaine moteur de KIF21B perdu lors de la digestion. Le minigène Δ moteur-WD40 (40 μ g) a été digéré avec HindIII (20U) et EcoRI (10U).

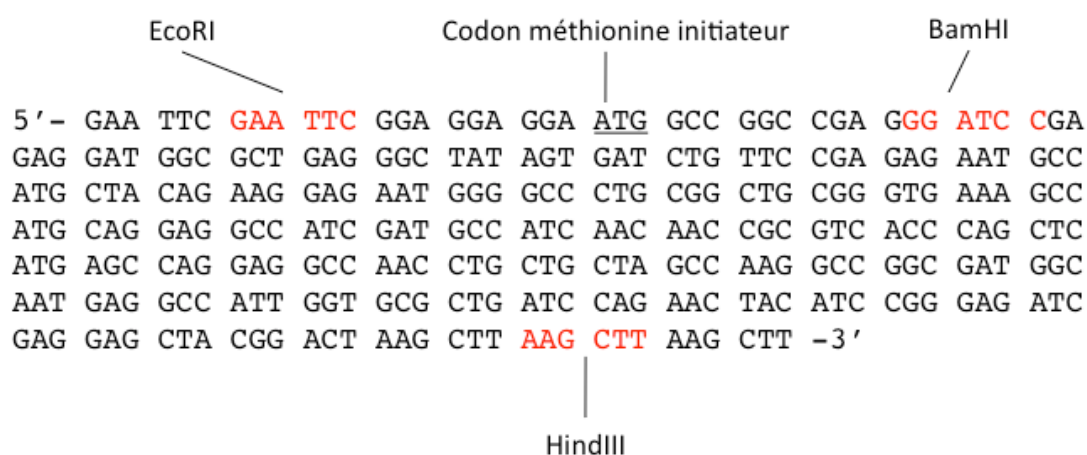


Figure 7 : Séquence du minigène Δ moteur-WD40

Le minigène Δ moteur-WD40 a été utilisé comme outil de clonage pour construire les clones KIF21B- Δ moteur, en utilisant les sites EcoRI et HindIII, et KIF21B-WD40, en utilisant les sites EcoRI et BamHI. Le minigène a permis de garder le codon initiateur et la séquence de nucléotides voisins dans les mutants KIF21B- Δ moteur et KIF21B-WD40.

6.5.3 KIF21B-WD40

Le clone KIF21B carboxy-terminal FLAG (10 μ g) a été digéré avec EcoRI (20U) et BglII (10U) afin de ne garder que le domaine WD40 de la protéine KIF21B. Une séquence d'ADN (minigène Δ moteur-WD40, Integrated DNA technologies, fait

sur mesure Figure 7) a été utilisée afin d'insérer un codon méthionine initiateur de KIF21B. Le minigène Δ moteur-WD40 (40 μ g) a été digéré avec BamHI (20U) et EcoRI (10U).

6.5.4 C1orf106

Le clone C1orf106 a été obtenu de Open Biosystems (clone #40026425). C1orf106 (10 μ g) a été sous-cloné dans pCMV-FLAG pour obtenir une protéine contenant un tag en utilisant les sites KpnI et NotI pour obtenir un épitope FLAG à l'extrémité amine de la protéine.

6.6 Transformation bactérienne

Des bactéries compétentes NEB 5-alpha compétent *E.coli* (NEB) ont été transformées en suivant le protocole de la compagnie. De manière générale, 5 μ l de produit de ligation est ajouté à 100 μ l de bactéries compétentes. Les bactéries sont ensuite incubées sur glace pour 20 minutes puis successivement 30 secondes à 42°C et 2 minutes sur glace. Ensuite, 1 ml de milieu S.O.C (Invitrogen) est ajouté aux bactéries puis incubées 1 heure à 37°C sous agitation constante. Les bactéries sont ensuite étalées sur des pétris Luria-Bertani (10 g tryptone, 5 g *yeast extract*, 10 g NaCl, 15g Agar) contenant de l'ampiciline (100 μ g/ml). Les pétris sont mis à 37°C pour 18-24 heures avant de procéder à des mini préparations en utilisant la trousse *PureYield™ Plasmid Miniprep System* (Promega).

6.7 Séquençage

Pour valider les clones suite à un sous-clonage ou à une mutagénèse, les clones ont été envoyés pour séquençage avec la technologie 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems) au Centre d'innovation Génome Québec (Université McGill, Montréal, Canada). L'analyse des séquences a été faite avec le logiciel CLC DNA Workbench (CLC Bio).

6.8 Essais gène rapporteur luciférase

Le plasmide rapporteur utilisé lors de nos essais possède le gène de la luciférase. En amont de ce gène se trouve des répétitions de site de liaison pour les facteurs de transcription des essais à tester (Figure 8). La liaison du facteur de transcription induit la transcription du gène de la luciférase qui produira la protéine. La protéine de la luciférase est utilisée pour produire de la luminescence lorsque mis en contact avec le réactif LAR II (Promega). Cette luminescence est ensuite détectée et mesurée afin de quantifier l'activité du facteur de transcription. Le plasmide Renilla qui produit la protéine Renilla produira de la luminescence lors du contact avec le réactif *Stop and Glo* (Promega). La Renilla sera induite de manière constitutive et servira de normalisateur des essais gène rapporteur luciférase. Deux approches d'essais luciférase ont été utilisées : l'approche essai individuel et l'approche multi essais permettant de tester 45 voies (Tableau III) dans une même expérience à l'aide des plaques Cignal™ (SA Bioscience). Dans l'essai individuel, NF-kB a été testé. Les cellules HEK293T sont mises en culture dans des plaques de

12 puits à une confluence de 25%. Vingt-quatre heures plus tard, 25 ng de rapporteur NF- κ B et 0,1 ng de Renilla ont été transfectés avec 200 μ l d'opti-MEM (Gibco) et 2 μ l de lipofectamine 2000 par puit. La quantité de plasmides des constructions KIF21B, KIF21B WD40, KIF21B Δ moteur sont de 200 ng/puit. Dans les multi-essais, les plasmides gènes rapporteurs, préalablement inclus dans la plaque Cignal™, sont resuspendus avec 100 μ l d'opti-MEM et 1 μ l de lipofectamine 2000 par puit. Une quantité de 20 ng/puit pour C1orf106 est utilisée dans les multi-essais. Dans les deux types d'approches, 24 heures après la transfection, les cellules sont lavées au *phosphate buffered saline* (PBS) et 100 μ l (essai individuel) ou 20 μ l (multi essais) de la solution *Passive Lysis* (le tampon de lyse) 5X de la trousse *Dual Luciferase Reporter Assay* (Promega) est ajouté à chaque puit contenant les cellules. Les cellules ont été lysées pendant 20 minutes à température pièce avec une agitation constante. Dans une plaque vide et opaque (blanche) de 96 puits à fond plat, 20 μ l de lysat ont été mis par puit. L'injection des réactifs et la lecture de la luminescence pour chaque puit a été fait en utilisant un lecteur BioTek Synergy4 et le logiciel Gen5 selon le protocole d'injection et de lecture suivant : injection de 100 μ l de LAR II dans chaque puit, lecture de la luminescence (luciférase) pour chaque puit, injection de 100 μ l de *Stop and Glo* dans chaque puit, lecture de la luminescence (Renilla) pour chaque puit. Les valeurs de luciférase ont été normalisées par rapport à la Renilla.

Tableau III : Les essais gène rapporteur contenus dans les plaques Cignal™

| Essais | Facteurs de transcription |
|--|---------------------------------|
| Réponse à la privation d'acide aminés | ATF2,-3,-4 |
| Voie des récepteurs aux androgènes | Récepteurs aux androgènes |
| Réponse antioxydante | Nrf1,-2 |
| Stress RE | ATF6 |
| Différenciation, prolifération et maintien des cellules souches | C/EBP |
| Voie cAMP/PKA | CREB |
| Cycle cellulaire | E2F/DP1 |
| Apoptose/dommage à l'ADN | p53 |
| Différenciation et mitogenèse | EGR1 |
| Stress RE | CBF/NF-Y/YY1 |
| Récepteur aux oestrogènes | Récepteur aux oestrogènes |
| Voie GATA | GATA |
| Récepteurs aux glucocorticoïdes | Récepteurs aux glucocorticoïdes |
| Réponse des chaperones | HSP |
| Stress aux métaux lourds | MTF1 |
| Voie Hedgehog | GLI |
| Expression des gènes hépatiques | HNF4 |
| Réponse à l'hypoxie | HIF-1 |
| Suppression tumorale | IRF1 |
| Voie Interféron type-1 | STAT1/2 |
| Voie interféron gamma | STAT1 |
| Maintien des cellules souches embryonnaires | KLF4 |
| Fonction des macrophages | LXRa |
| Voie MAPK/ERK | Elk/SRF |
| Voie MAPK/JNK | AP-1 |
| Morphogenèse cardiaque | MEF2 |
| Prolifération cellulaire et apoptose | Myc/Max |
| Prolifération des cellules souches embryonnaire et leur renouvellement | Nanog |
| Voie de signalisation Notch | RBP-Jk |
| Voie NF-κB | NFκB |
| Développement embryonnaire | Oct4 |
| Développement système nerveux | Pax6 |
| Voie apoptotique PI3K/AKT/mTOR | FOXO |
| Régulation des cytokines | NFAT |
| Métabolisme des lipides | PPAR |
| Récepteur à la progestérone | Récepteur à la progestérone |
| Récepteur à l'acide rétinoïque | Récepteur à l'acide rétinoïque |
| Métabolisme osseux | Retinoid X Receptor |
| Développement embryonnaire | Sox2 |
| Croissance cellulaire et apoptose | SP1 |
| Croissance cellulaire et apoptose | STAT3 |
| Différenciation et division cellulaire | SMAD2/SMAD3/SMAD4 |
| Homéostasie du calcium | Vitamin D Receptor |
| Voie Wnt | TCF/LEF |
| Réponse aux xénobiotiques | AhR |

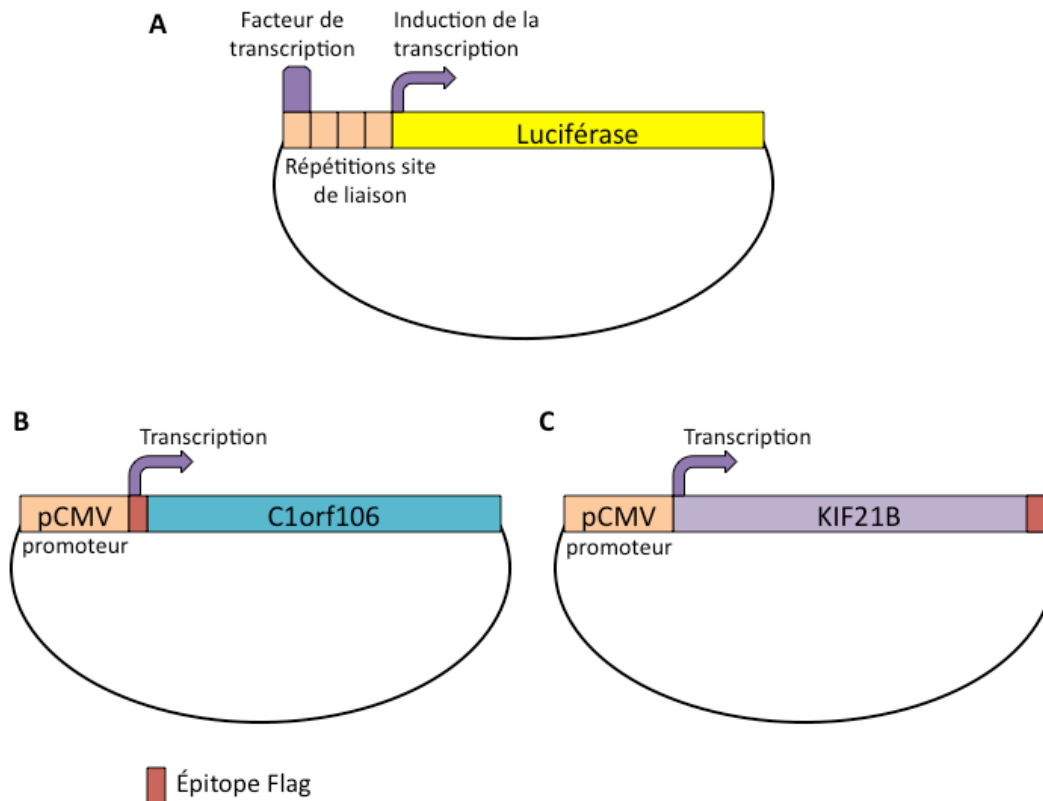


Figure 8 : Schéma du plasmide gène rapporteur de la luciférase et des clones C1orf106 et KIF21B

Chaque plasmide rapporteur contient, en amont du gène de la luciférase, des répétitions de sites de liaisons pour différents facteurs de transcription dépendamment de l'essai (A). Lorsque le facteur de transcription se lie à son site, au niveau du promoteur, la transcription de la luciférase est induite. Parallèlement au plasmide rapporteur luciférase, les plasmides C1orf106 (B) ou KIF21B (C) sont transfectés dans les cellules HEK 293T afin de déterminer l'effet de la surexpression de ces gènes sur différentes voies biologiques en utilisant les essais gène rapporteur luciférase.

6.9 Immunoprécipitation

Les cellules HEK293T sont mises en culture dans des pétris 10 cm à une confluence de 25%. Vingt-quatre heures plus tard, 200 ng d'ADN, correspondant aux constructions KIF21B, KIF21BΔmoteur ou KIF21B-WD40 (Figure 6), ont été transfectés avec 5 ml d'opti-MEM (Gibco) et 50 µl de lipofectamine 2000 (Invitrogen) par pétri. Vingt-quatre heures post-transfection, les cellules sont lavées au *phosphate buffered saline* (PBS) et 1 ml de tampon de lyse est ajouté à chaque pétri contenant les cellules. Les cellules ont été lysées pendant 20 minutes à 4°C. Les protéines ont été quantifiées avec la trousse Pierce BCA (Fisher). Trente microlitres de billes Protein A/G Plus Agarose (Santa Cruz) ont été lavées avec 500 µl de PBS avec inhibiteurs de protéases (Sigma) 3 fois avant l'utilisation. Un microgramme de l'anticorps anti-FLAG M2 (Sigma) ou anti-*Bcl-2-associated transcription factor 1* (BCLAF1) (Millipore) ou l'anti- *polypeptide tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, epsilon* (14-3-3 epsilon) (Santa Cruz) a été ajouté à 500 µl de PBS et incubé aux billes pour 1 heure à 4°C avec rotation constante. Ensuite, les billes ont été lavées 3 fois avec 300 µl de PBS avec inhibiteurs de protéases. Les billes ont été incubées avec de la PBS 1% *bovine serum albumin* (BSA) pendant 30 minutes à 4°C avec rotation constante. Les billes ont été lavées 3 fois avec 500 µl de PBS avec inhibiteurs de protéases. Les billes ont été incubées avec 500 µg de protéines provenant du lysat cellulaire pendant 4 heures à 4°C sous rotation constante. Les billes ont été lavées 4 fois avec 500 µl de PBS. Les billes ont soit été congelées à -20°C (pour l'envoi au spectromètre de masse), soit été

mélangées avec un volume égal de solution de dénaturation Laemli 2X (Biorad) et mises à 95°C pour 5 minutes. Un immunobuvardage pour fin de validation a été effectué suite à l'immunoprécipitation.

6.10 Immunobuvardage

Les cellules sont lavées avec du PBS puis un tampon de lyse à 4°C (50 mM Tris-Cl pH 7,5; 0,5% NP-40; 100 mM NaCl) est ajouté aux cellules. Les cellules ont été lysées pendant 20 minutes à 4°C. Les protéines ont été quantifiées avec la trousse BCA Pierce (Fisher). Avant de mettre chaque échantillon sur gel, un volume équivalent de solution de dénaturation Laemli 2X (BioRad) a été ajouté au lysat et mis à 95°C pour 5 minutes. Les extraits protéiques ont été mis sur un petit gel 5% ou un grand gel 12% d'acrylamide. L'électrophorèse des protéines a été fait à 150 V pendant 1 heure (petit gel) ou 7 heures (grand gel). Le transfert sur membrane de nitrocellulose (Biorad) a été fait à 100V pendant 1 heure et 30 minutes à 4°C. La membrane contenant les protéines a été incubée dans un tampon de blocage (*Tris-Buffered Saline* (TBS), 0,1% Tween avec 5% lait écrémé en poudre) pendant une heure avec agitation à température pièce. Ensuite, une incubation avec l'anti-KIF21B (dilution 1 :2000, Millipore), l'anti-BCLAF1 (dilution 1 :200, Millipore) ou l'anti-Flag M2 (dilution 1 :2000, Sigma) ou l'anti-14-3-3 epsilon (dilution 1 :250) dilué dans le tampon de blocage est effectuée pour une heure avec agitation à température pièce. L'excès d'anticorps est éliminé par un lavage dans du TBS, 0,1% Tween (TTBS) pour 15 minutes. Ensuite, l'incubation avec un anticorps secondaire anti-

lapin lié à la peroxydase de raifort (HRP) (Cederlane) ou avec un anticorps anti-souris HRP (Cederlane) dans le tampon de blocage pour une heure. Trois lavages de cinq minutes chacun ont été fait dans du TTBS. La détection a été faite en utilisant le *Western Blot Lightning Plus-ECL* en suivant le protocole du fabricant (Perkin Elmer).

6.11 Spectrométrie de masse

Les culots de billes et de protéines provenant des immunoprécipitations ont été envoyés en spectrométrie de masse. Les manipulations ainsi que les analyses des données brutes ont été fait par Eric Bonneil de l'Institut de recherche en immunologie et en cancérologie (IRIC) de l'Université de Montréal (Montréal, Canada). Au laboratoire, nous avons reçu la liste des peptides présents dans les échantillons envoyés au spectromètre de masse.

Chapitre 7 : Résultats

7.1 Déterminer l'expression des gènes de la région 1q32

Les gènes de la région 1q32 sont peu connus ou avec des annotations qui ne semblent pas les relier à un rôle dans les MII. Afin de déterminer le gène de la région 1q32 qui semble le plus probable d'avoir un rôle dans les MII, leur profil d'expression a été établi.

Une analyse par qPCR a été exécutée sur des ARNs totaux provenant d'un groupe représentatif de tissus et de régions du tube digestif murins de la souche C57BL/6 ainsi que de plusieurs lignées cellulaires humaines immortalisées de type épithélium du colon ou immunitaire. Les analyses ont portées plus spécifiquement sur les gènes *CACNA1S* (Figure 9A), de *KIF21B* (Figure 9B) et *C1orf106* (Figure 9C). L'expression de *C1orf81* n'a pu être développée et ce même après avoir testé plusieurs tissus et amorces, en plus des amorces précédemment publiées [251]. Notre analyse démontre que l'expression de *CACNA1S* est principalement localisée dans le tissu musculaire squelettique. C'est un gène dont la fonction est connue et qui agit surtout dans les échanges ioniques nécessaires à la contraction musculaire. Son expression dans les tissus immunitaires est absente et les tissus intestinaux qui l'expriment sont richement composés de muscle (rectum et œsophage). *KIF21B* et *C1orf106* présentent des niveaux d'expression plus élevés dans le tube digestif et/ou dans les tissus immunitaires. Même si on note que le niveau d'expression de *KIF21B* est plus important dans le tissu rénal, la présence de niveaux détectables dans les tissus intestinaux le place parmi les candidats potentiels. Une étude plus détaillée

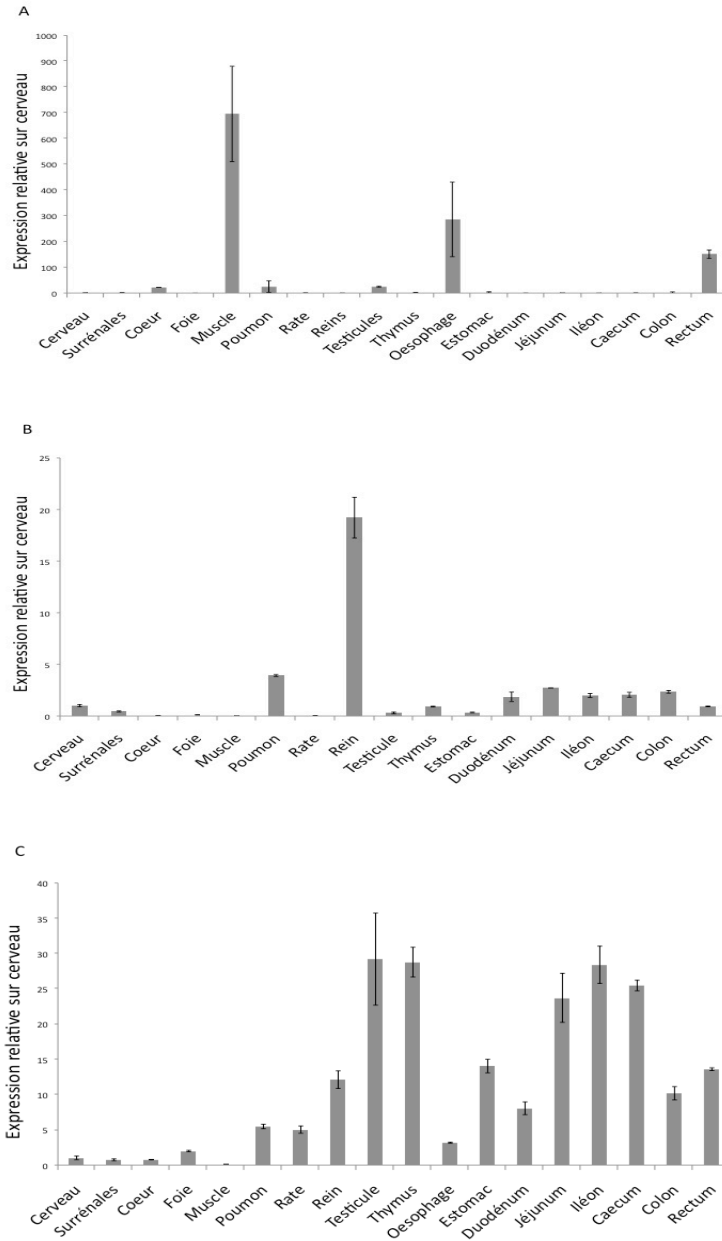


Figure 9 : Profil d'expression des gènes de la région 1q32 dans les tissus murins

Expression par qPCR de CACNA1S (A), KIF21B (B) et C1orf106 (C) dans les tissus de souris C57BL/6. Les données sont normalisées avec le gène GAPDH. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre duplicata.

exécutée sur des préparations d'ARN isolé des plaques de Peyer, des îlots lymphoïdes de l'intestin, et des portions intestinales adjacentes, nous a permis de localiser plus finement l'expression observée dans les régions de l'intestin (Figure 10). Alors que l'expression de C1orf106 dans ces tissus ne montre pas vraiment de différence, KIF21B présente des niveaux d'expression nettement plus élevés dans les plaques de Peyer. De plus, dans les cellules humaines primaires, KIF21B est exprimé dans les CD4+, CD8+ et les CD19+ alors que les CD14+ en sont exemptes (Figure 11B). Ce profil immunitaire est aussi retrouvé dans presque que toutes les lignées cellulaires de type immunitaire testées avec une prépondérance dans les Jurkat et les THP-1 (Figure 11C). Pour C1orf106, son expression est principalement dans les cellules THP-1 et Caco-2 (Figure 11A). Bien que ces données restent à être validées avec un échantillon plus grand, l'expression de C1orf106 semble diminuer dans les biopsies intestinales de patients MC présentant de l'inflammation (Figure 12).

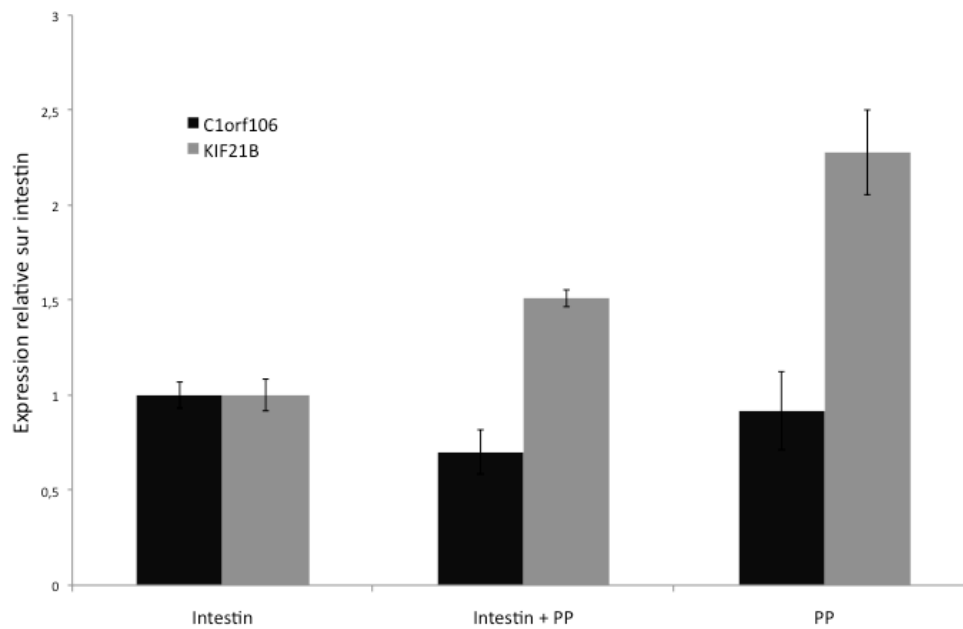


Figure 10 : Profil d'expression de C1orf106 et KIF21B dans l'intestin et les plaques de Peyer de la souris

Expression par qPCR de C1orf106 et KIF21B dans les plaques de Peyer (PP) et du tissu intestinal adjacent de souris C57BL/6. Les données sont normalisées avec le gène GAPDH. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre duplicata.

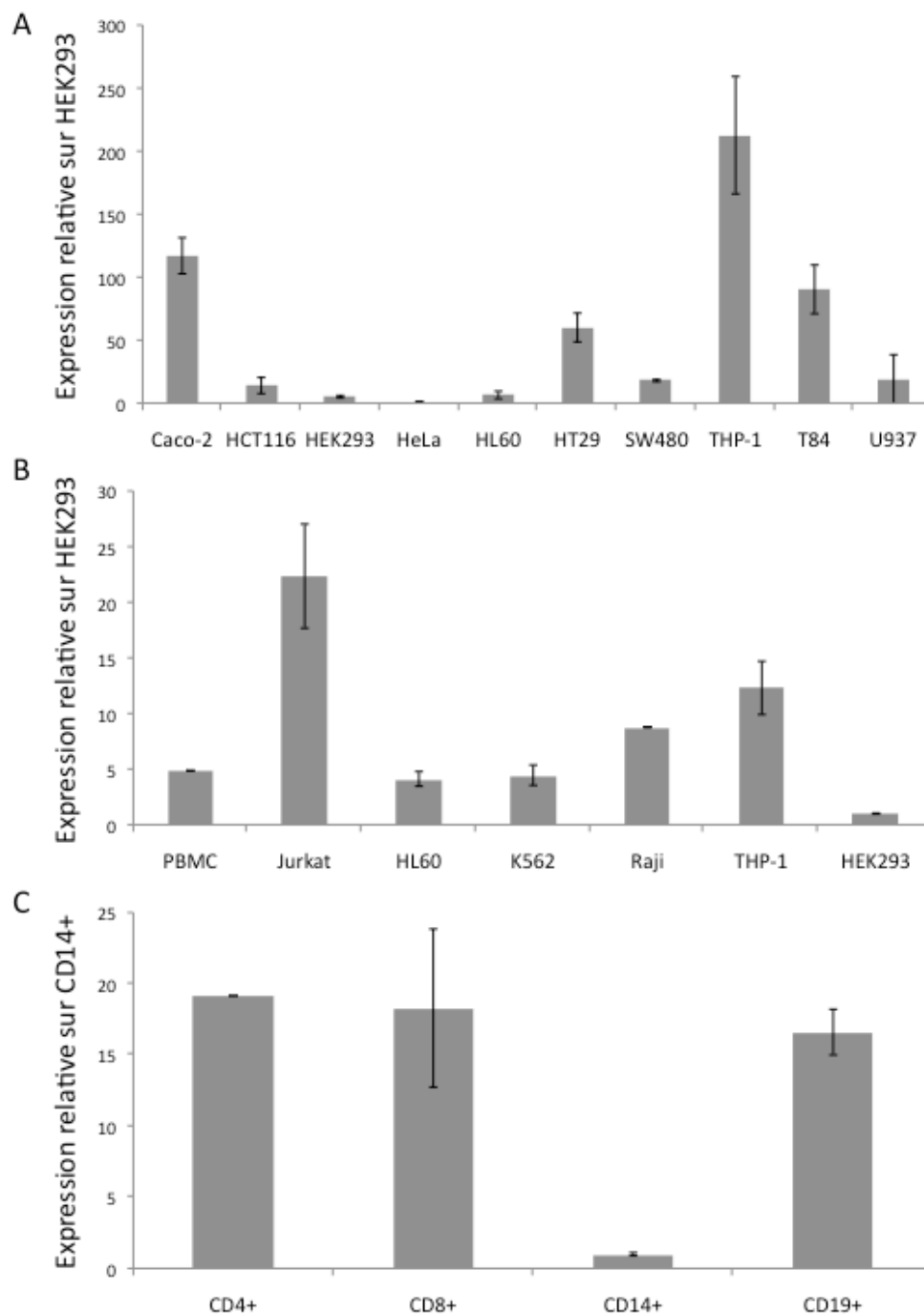


Figure 11 : Expression de C1orf106 et KIF21B dans les cellules humaines

Expression par qPCR de C1orf106 (A) et KIF21B (B-C) dans lignées cellulaires et cellules primaires humaines. Les données sont normalisées avec le gène GAPDH. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre duplicata.

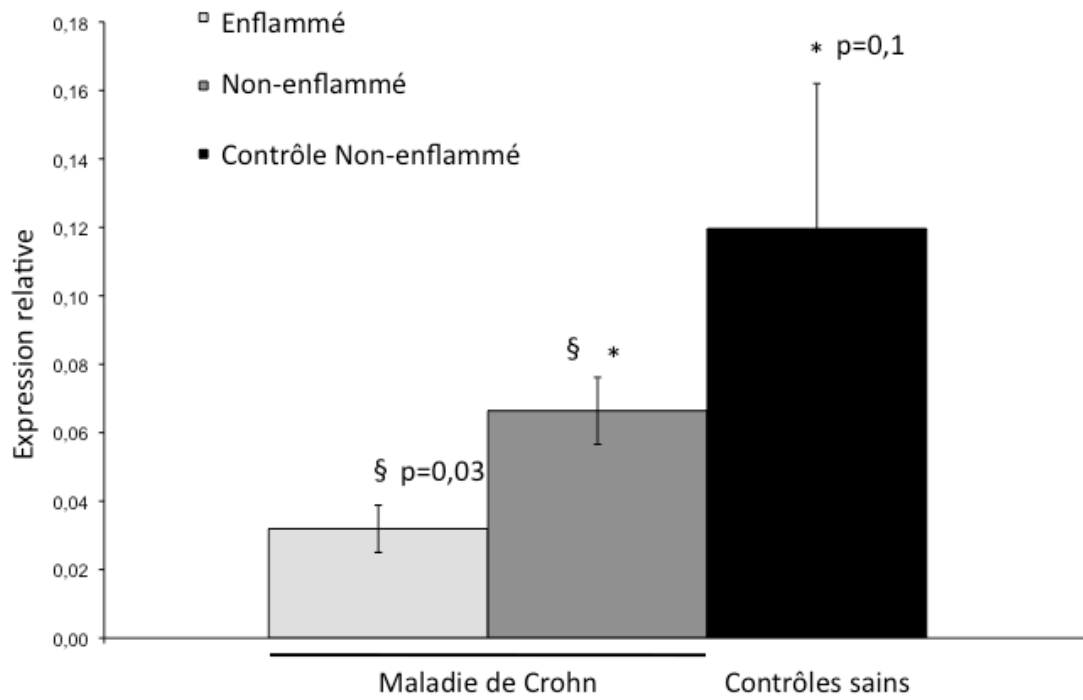


Figure 12: Expression de C1orf106 dans les biopsies intestinales du rectum de patient MC et de contrôles sains

Les biopsies enflammées et non-enflammées proviennent des mêmes patients MC à qui deux biopsies (une enflammée et une non-enflammée) ont été prélevées. Les contrôles sains sont des individus sans diagnostic de MII. Les données représentent la moyenne des valeurs pour 4 échantillons. Les données sont normalisées avec le gène GAPDH. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre les 4 données. Les valeurs p représentent les résultats du test T Student (*2 sided*).

7.2 Déterminer les voies biologiques importantes pour les gènes de la région

1q32

Des essais basés sur la modulation de l'expression de la luciférase ont servi à établir les voies biologiques sur lesquelles KIF21B et C1orf106 ont un rôle. Pour C1orf106, 45 voies biologiques différentes ont été évaluées simultanément en utilisant les plaques Cignal™ de SABiosciences (Tableau III) alors que pour KIF21B des essais individuels portant sur la voie NF- κ B et la voie du stress du réticulum endoplasmique ont été évaluées. Nous nous sommes limités à quelques essais individuels pour KIF21B puisque nous n'avions pas à ce moment là introduit l'approche par plaques Cignal™ dans le laboratoire à Boston ou à Montréal. Ces essais permettent de déterminer l'activation des voies biologiques suite à une surexpression de C1orf106 ou de KIF21B. Toutefois, pour déterminer l'effet d'inhibition que peut avoir la surexpression de C1orf106 ou KIF21B sur les voies biologiques testées, des inducteurs doivent être utilisés. La protéine CARMA-1 est utilisée en co-transfection dans l'essai pour activer la voie NF- κ B. La thapsigargine et la tunicamycine sont deux agents pharmacologiques qui permettent d'activer la voie du stress du réticulum endoplasmique. Des cellules HEK293T, ne présentant peu ou pas d'expression de KIF21B ou C1orf106, ont été co-transfectées avec un vecteur rapporteur composé du gène de la luciférase et un vecteur de surexpression de C1orf106 ou KIF21B (Figure 8). L'expression du gène rapporteur est dirigée par un promoteur synthétique. Spécifique à une voie biologique précise, ce promoteur est constitué de répétitions du site de liaison de facteur de transcription.

7.2.1 KIF21B et son rôle biologique

Nous avons débuté par évaluer la voie pro-inflammatoire médiée par le facteur de transcription NF- κ B. Nos résultats montrent que la surexpression de KIF21B dans les HEK293T diminue de 51% l'activité NF- κ B induite par CARMA-1, un activateur connu de cette voie (Figure 13). Une diminution similaire est obtenue lorsque le domaine moteur de KIF21B est tronqué. La diminution atteint 84% si seulement le domaine WD40 est utilisé (Figure 13).

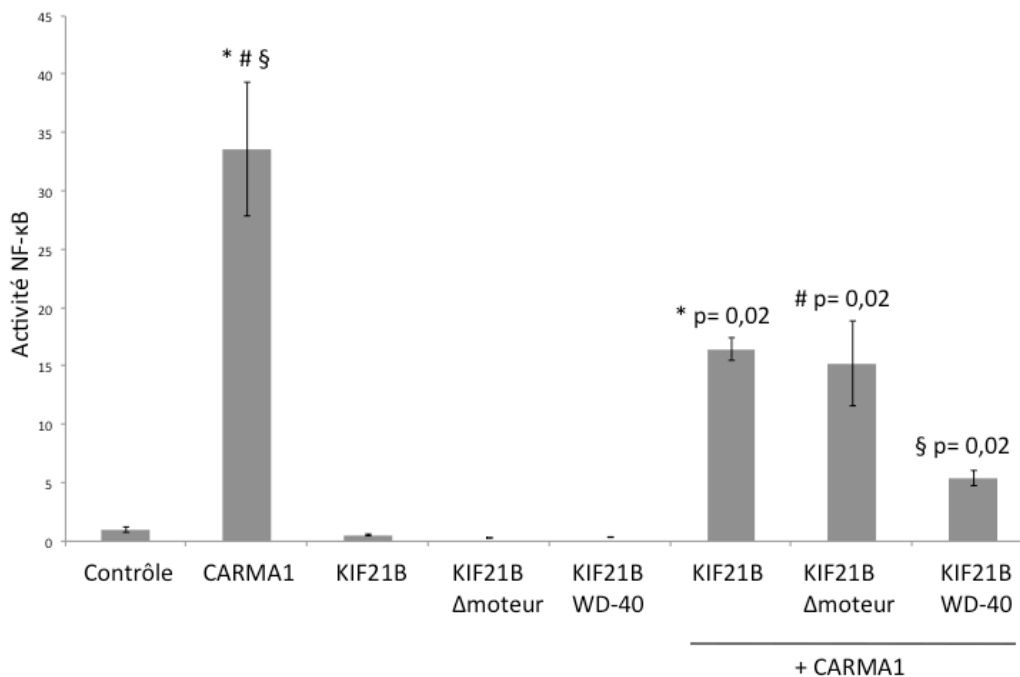


Figure 13 : Essais NF- κ B luciférase rapporteur pour KIF21B

Essais de NF- κ B luciférase rapporteur en surexpression des isoformes de KIF21B dans les cellules HEK293T. CARMA1 est utilisé comme contrôle positif pour induire l'activité de NF- κ B. La *Renilla* utilisée comme normalisateur dans l'essai. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre six données. Les valeurs p représentent les résultats du test de Wilcoxon (*2 sided*).

7.2.2 C1orf106 et son rôle biologique

Dans un premier temps, des immunobuvardages ont été effectués pour déterminer la dose minimalement détectable pour C1orf106 afin de s'assurer de ne pas saturer les cellules par les transfections des plasmides lors des essais rapporteurs (Figure 14). La concentration de 20 ng/puit de C1orf106 a été choisie pour effectuer les essais. Ensuite, les plaques Cignal™ nous ont servi à établir l'effet de la surexpression de C1orf106 sur 45 voies biologiques différentes. Quatre voies se sont démarquées par une augmentation de plus de 4 fois par rapport au niveau contrôle. Les résultats en-dessous d'une augmentation d'activité de 4 fois n'ont pas été pris en compte dans nos résultats puisque nous devons faire un choix arbitraire afin d'analyser et de planifier les expériences futures concernant C1orf106 et les voies biologiques induites. Les voies des facteurs de transcription *Activating transcription factor 6 (ATF6)*, *(CCAAT)-enhancer-binding protein (C/EBP)*, *Heat shock protein (HSP)* et *Wnt* ont vu leur activité augmenter de 4 à 6 fois par rapport à la condition contrôle (Figure 15).

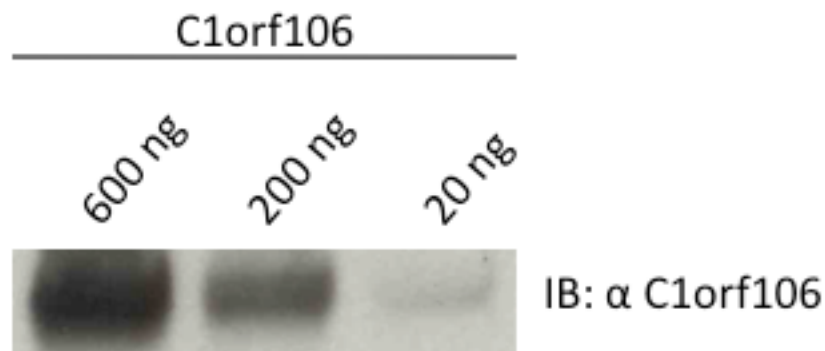


Figure 14: Immunobuvardage à différentes doses de C1orf106 transfectées dans les cellules pour les essais gène rapporteurs

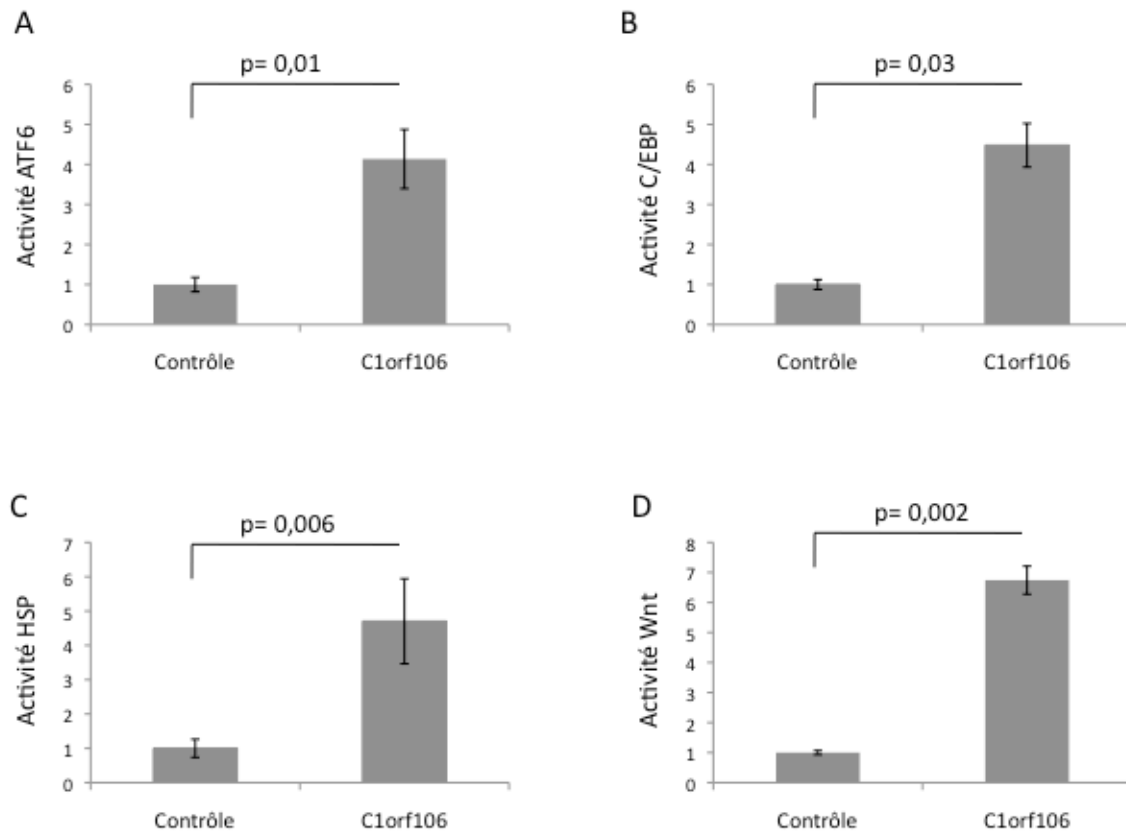


Figure 15 : Essais de gènes rapporteurs pour C1orf106

Essais de gènes rapporteurs luciférase ATF6 (A), C/EBP (B), HSP (C) et Wnt (D) en surexpression de C1orf106 dans les cellules HEK293T. Renilla utilisée comme normalisateur dans les essais. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre triplicata. Les valeurs p représentent les résultats du test T Student (*2 sided*).

7.3 Déterminer le partenaire de KIF21B

Les kinésines sont des protéines de transport déplaçant des vésicules, des ARN ou même des protéines. Le transport implique que la kinésine puisse établir un lien stable avec son cargo et le réseau de microtubules de la cellule. KIF21B possède un domaine de liaison possible à des protéines avec son domaine WD40 en position carboxy-terminale. De façon à identifier si des protéines peuvent s'associer avec KIF21B nous avons procédé à des immunoprécipitations de KIF21B suivit par une analyse par spectrométrie de masse. La présence de KIF21B dans les immunoprécipitations a été validée par immunobuvardage anti-KIF21B (Figure 16). Les bandes secondaires présentes dans la colonne (+) de la figure 16 sont peut-être des fragments de KIF21B qui auraient été clivés par une ou des enzymes (Annexe IV). Toutefois, la bande d'intérêt pour la protéine KIF21B est celle d'un poids moléculaire de 181 kDa ce qui représente la protéine entière.

Ces analyses ont été exécutées sur des lysats provenant de cellules HEK293T, soit dans les mêmes conditions expérimentales que celles dans lesquelles nous avons établies l'influence de KIF21B sur NF-kB. Suite à l'analyse par spectrométrie de masse, une liste de protéines comportant 56 candidats a été obtenue (Tableau IV). De cette liste, nous avons soustrait toutes les protéines se trouvant sur les immunoprécipitations contrôles ainsi que les protéines connues pour être insolubles comme les filaments cellulaires (Annexe I). BCLAF1 et 14-3-3 ϵ , ayant un rôle connu avec NF-kB, ont été

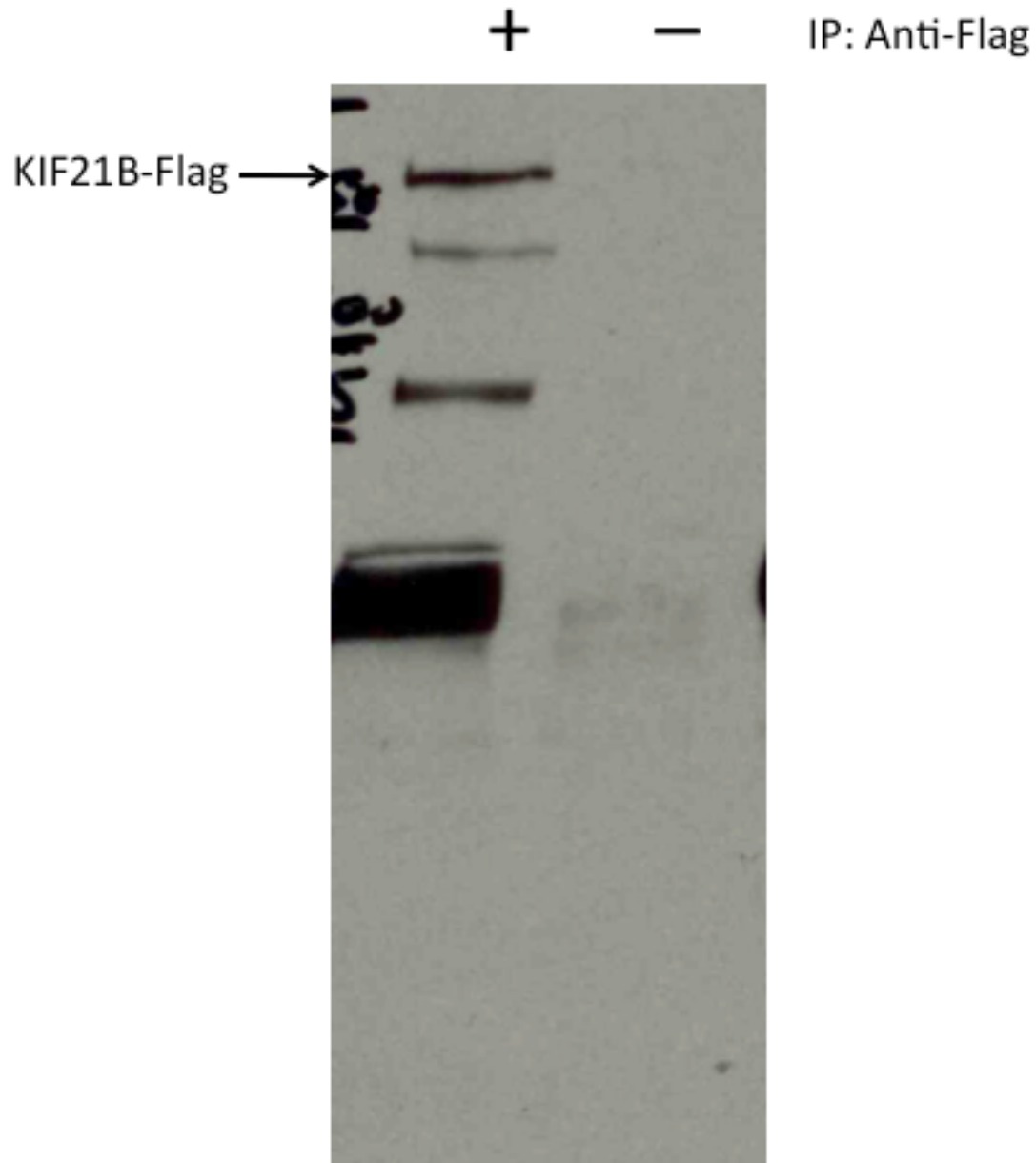


Figure 16 : Immunobuvardage anti-KIF21B de l'immunoprécipitation de KIF21B avec anti-Flag.

Immunobuvardage servant à valider l'immunoprécipitation de KIF21B. La flèche indique KIF21B-Flag à son poids moléculaire attendu soit 182,6 kDa. La condition contrôle négatif (-) représente l'immunoprécipitation sans l'anticorps anti-FLAG.

Tableau IV : Partenaires d'interaction de KIF21B

| UniProtID | Nom de la protéine | Symbole | Nombre de peptides |
|----------------------------|--|-----------|--------------------|
| Réponse immunitaire | | | |
| IPI :IPI00293276 | <i>Macrophage migration inhibitory factor</i> | MIF | 1 |
| Kinésines | | | |
| IPI :IPI00872997 | <i>Kinesin-like protein KIF21B (bait protein)</i> | KIF21B | 77 |
| IPI :IPI00425404 | <i>Kinesin-like protein KIF21A</i> | KIF21A | 7 |
| IPI :IPI00294749 | <i>Kinesin-like protein KIF27</i> | KIF27 | 4 |
| IPI :IPI00394856 | <i>Kinesin-like protein KIF7</i> | KIF7 | 2 |
| Apoptose | | | |
| IPI :IPI00007334 | <i>Apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus</i> | ACIN1 | 26 |
| IPI :IPI00072377 | <i>Protein SET</i> | SET | 5 |
| Heat Shock Proteins | | | |
| IPI :IPI00414676 | <i>Heat shock protein HSP 90-beta</i> | HSP90AB1 | 25 |
| IPI :IPI00382470 | <i>Heat shock protein class A member 1</i> | HSP90AA1 | 19 |
| IPI :IPI00784154 | <i>Heat shock protein mitochondrial</i> | HSPD1 | 17 |
| IPI :IPI00007765 | <i>Stress-70 protein mitochondrial</i> | HSPA9 | 8 |
| IPI :IPI00555915 | <i>Heat shock protein 90Bf</i> | HSP90AB6P | 2 |
| Adapteurs | | | |
| IPI :IPI00000816 | <i>14-3-3 protein epsilon</i> | YWHAE | 13 |
| IPI :IPI00216318 | <i>14-3-3 protein beta/alpha</i> | YWHAB | 12 |
| IPI :IPI00021263 | <i>14-3-3 protein zeta/delta</i> | YWHAZ | 10 |
| IPI :IPI00018146 | <i>14-3-3 protein theta</i> | YWHAQ | 6 |
| IPI :IPI00216319 | <i>14-3-3 protein eta</i> | YWHAH | 4 |
| IPI :IPI00220642 | <i>14-3-3 protein gamma</i> | YWHAG | 4 |
| Chaperones | | | |
| IPI :IPI00290770 | <i>T-complex protein 1 subunit gamma</i> | CCT3 | 2 |
| IPI :IPI00302925 | <i>T-complex protein 1 subunit theta</i> | CCT8 | 9 |
| IPI :IPI00297779 | <i>T-complex protein 1 subunit beta</i> | CCT2 | 5 |
| IPI :IPI00220624 | <i>A-kinase Anchor protein 9</i> | AKAP9 | 4 |
| IPI :IPI00302927 | <i>T-complex protein 1 subunit delta</i> | CCT4 | 3 |
| Transcription | | | |
| IPI :IPI00005198 | <i>Interleukin enhancer-binding factor 2</i> | ILF2 | 5 |
| IPI :IPI00219330 | <i>Interleukin enhancer-binding factor 3</i> | ILF3 | 4 |

Tableau IV : Partenaires d'interaction de KIF21B (suite)

| UniProtID | Nom de la protéine | Symbole | Nombre de peptides |
|--|---|---------------|--------------------|
| Récepteurs membranaires | | | |
| IPI :IPI00152540 | CD109 | CD109 antigen | 1 |
| Division cellulaire et cycle cellulaire | | | |
| IPI :IPI00872177 | <i>Serine/76 repetitive-protein phosphatase PPI-beta</i> | PPP1CB | 1 |
| IPI :IPI00005705 | <i>Serine/76 repetitive-protein phosphatase PPI-gamma</i> | PPP1CC | 1 |
| IPI :IPI00023785 | <i>DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 17</i> | DXX17 | 6 |
| IPI :IPI00025087 | <i>Cellular tumor antigen p53</i> | TP53 | 4 |
| Métabolisme | | | |
| IPI :IPI00465028 | <i>Triosephosphate isomerase</i> | TPI1 | 1 |
| IPI :IPI00017726 | <i>3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2</i> | HSD17B10 | 1 |
| IPI :IPI00465248 | <i>Alpha-enolase</i> | ENO1 | 15 |
| IPI :IPI00220644 | <i>Pyruvate kinase isozymes M1/M2</i> | PKM2 | 11 |
| IPI :IPI00022977 | <i>Creatine kinase B-type</i> | PKB | 6 |
| IPI :IPI00440493 | <i>ATP synthase subunit alpha mitochondrial</i> | ATP5A1 | 5 |
| IPI :IPI00007188 | <i>ADP/ATP translocase 2</i> | SLC25A5 | 4 |
| IPI :IPI00217966 | <i>L-lactate dehydrogenase A</i> | LDHA | 3 |
| Épissage | | | |
| IPI :IPI00782992 | <i>Serine/arginine 76 repetitive matrix protein 2</i> | SRRM2 | 42 |
| IPI :IPI00007928 | <i>Pre-mRNA-processing-splicing factor 8</i> | PRPF8 | 26 |
| IPI :IPI00014230 | <i>Complement component 1 Q binding protein mitochondrial</i> | C1QBP | 8 |
| IPI :IPI00219866 | <i>Zinc finger Ran-binding domain-containing protein 2</i> | ZRANB2 | 6 |
| IPI :IPI00004968 | <i>Pre-mRNA-processing factor 19</i> | PRPF19 | 5 |
| Transcription/Traduction | | | |
| IPI :IPI00104050 | <i>Thyroid hormone receptor-associated protein 3</i> | THRAP3 | 22 |
| IPI :IPI00186290 | <i>Elongation factor 2</i> | EEF2 | 16 |
| IPI :IPI00025491 | <i>Eukaryotic initiation factor 4A-I</i> | EIF4A1 | 10 |
| IPI :IPI00005154 | <i>FACT complex subunit SSRP1</i> | SSRP1 | 10 |

Tableau IV : Partenaires d'interaction de KIF21B (suite)

| UniProtID | Nom de la protéine | Symbole | Nombre de peptides |
|--------------------------|---|---------|--------------------|
| Transcription/Traduction | | | |
| IPI :IPI00304596 | <i>Non-POU domain-containing octamer-binding</i> | NONO | 9 |
| IPI :IPI00013174 | <i>RNA-binding protein 14</i> | RBM14 | 8 |
| IPI :IPI00792352 | <i>GTP-binding nuclear protein Ran</i> | RAN | 5 |
| IPI :IPI00014424 | <i>Elongation factor 1-alpha 2</i> | EEF1A2 | 4 |
| IPI :IPI00413671 | <i>Bcl-2-associated transcription factor 1</i> | BCLAF1 | 24 |
| IPI :IPI00396485 | <i>Elongation factor 1-alpha 1</i> | EEF1A1 | 14 |
| Ubiquitination | | | |
| IPI :IPI00645078 | <i>Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1</i> | UBA1 | 11 |
| Facteur de croissance | | | |
| IPI :IPI00885081 | <i>Hepatoma-derived growth factor-related protein 2</i> | HDGF2 | 10 |
| Hydrolyse | | | |
| IPI :IPI00414127 | <i>Ran-specific GTPase-activating protein</i> | RANBP1 | 3 |

sélectionnés pour des co-immunoprécipitations avec KIF21B. En immunoprécipitant KIF21B, nous n'avons pas retrouvé BCLAF1 dans le culot de protéines immunoprécipitées (Figure 17A) même si KIF21B avait bel et bien été immunoprécipité (Figure 17B). Toutefois, 14-3-3 ϵ a été détecté dans le culot de l'immunoprécipitation de KIF21B (Figure 18A). Ces résultats ont montrés que le seul des 2 candidats, soit 14-3-3 ϵ , peut se lier de façon stable à KIF21B (Figures 17 et 18).

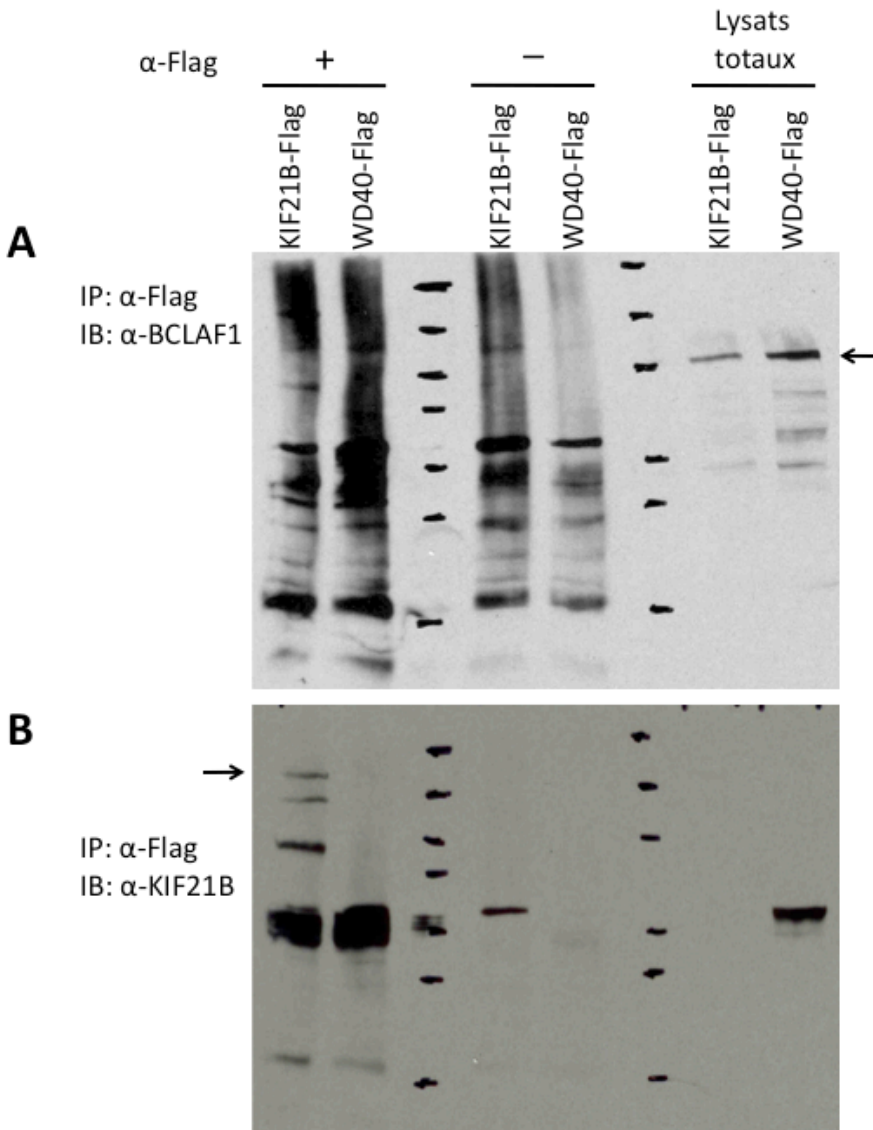


Figure 17 : Immunoprécipitation de KIF21B et BCLAF1.

Immunoprécipitation avec l'anti-Flag et immunobuvardage avec l'anti-BCLAF1 (A). Immunobuvardage avec l'anti-KIF21B (B). Les flèches indiquent BCLAF1 (A) et KIF21B (B). Lysats totaux sur gel sont de 50 µg. L'immunobuvardage en (B) représente la même membrane qu'en (A) en utilisant plutôt l'anti-KIF21B afin de valider la présence de KIF21B dans les immunoprécipitations. La bande présente dans la colonne WD40-Flag (lysats totaux) représente WD40 reconnu par l'anti-KIF21B. Le site de reconnaissance de l'anti-KIF21B se trouve à l'extrémité C-terminale de KIF21B, soit la portion où se trouve le domaine WD40. La bande de la colonne KIF21B-Flag (-) représente de l'attachement non-spécifique aux billes d'agarose.

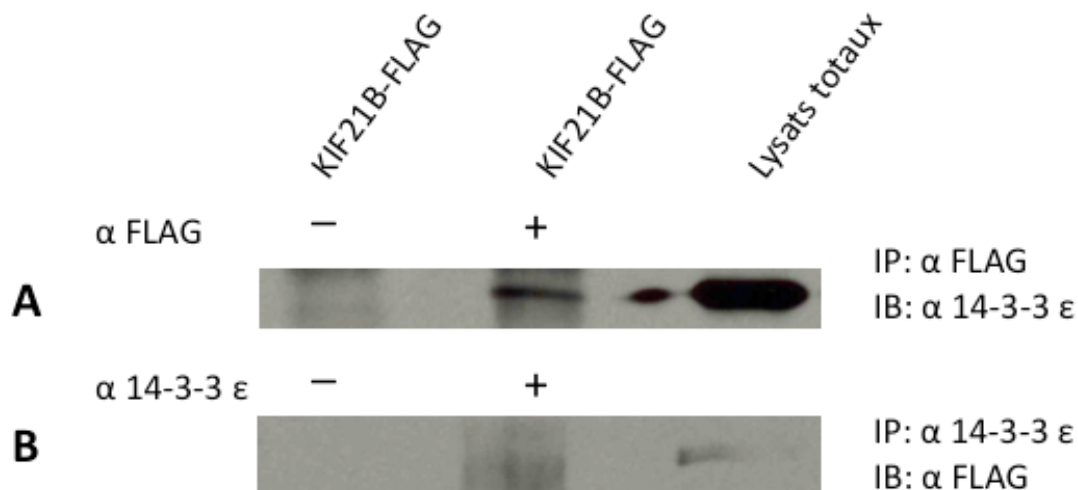


Figure 18 : Co-immunoprécipitation de KIF21B et 14-3-3 ϵ .

Immunoprécipitation avec l'anti-FLAG et immunobuvardage avec l'anti-14-3-3 ϵ (A). Immunoprécipitation avec l'anti-14-3-3 ϵ et immunobuvardage avec l'anti-FLAG (B). Lysats totaux sur gel sont de 50 μ g. La condition contrôle négatif (-) ne contient pas d'anticorps pour l'immunoprécipitation.

Chapitre 8 : Discussion et conclusion

La CU et la MC diffèrent sur certains aspects, comme la localisation et l'étendue de la maladie, mais un point les réunit : l'inflammation. Le processus inflammatoire chronique s'établit suite à un bris de l'homéostasie de la réponse inflammatoire dans le tissu intestinal. Seul deux gènes de la région 1q32, soit KIF21B et C1orf106, ont présenté un profil d'expression compatible avec la pathologie.

Tandis que les caractéristiques phénotypiques des MII sont bien caractérisées, les fondements moléculaires à l'origine de ces désordres inflammatoires restent élusifs. Les résultats d'études génétiques et immunologiques ont identifié plusieurs voies biologiques qui ont permis une meilleure compréhension des mécanismes d'homéostasie tissulaire et le déclenchement des MII. L'activation de NF- κ B, le stress du RE, l'intégrité de l'épithélium et l'apoptose sont quelques exemples de voies biologiques qui, lorsqu'elles sont dérégulées, induisent les MII.

8.1 Le rôle biologique de KIF21B

Les différents récepteurs cellulaires, comme les TLR, IL-1R, TNFR, TCR et BCR, peuvent être activés et leur signalisation converge sur la voie de NF- κ B (Figure 3). Lorsque stimulées, ces voies se concluent par la translocation au noyau du facteur de transcription NF- κ B afin d'activer la transcription de gènes pro-inflammatoires.

Les MII sont caractérisées par une inflammation chronique et les médiateurs de la réaction inflammatoire sont depuis longtemps ciblés pour comprendre les bases moléculaires de ces maladies. Nos analyses démontrent que KIF21B joue un rôle

dans cette cascade inflammatoire. La surexpression de KIF21B entraîne une diminution marquée de l'activité de NF- κ B induite par CARMA-1. Cette diminution est similaire à celle observée pour KIF13B, une autre kinésine principalement exprimée dans le système nerveux, mais aussi dans les cellules immunitaires comme les cellules dendritiques [268, 269]. De plus, tout comme pour KIF13B, la délétion du domaine moteur n'affecte pas l'activité de répression exercée sur la voie de NF- κ B. En fait, l'abolition de l'activité NF- κ B est presque complète lorsque le domaine central et le domaine moteur sont retirés pour ne conserver que le domaine WD40. Le domaine central semble donc jouer un rôle régulateur de l'activité de KIF21B et son ablation contribue à créer une molécule dominante négative de la voie NF- κ B.

Lamason *et al.* ont montré que KIF13B s'associait directement avec CARMA1 afin de la séquestrer et ainsi inhiber son interaction directe avec Bcl-10 (pour schéma de la voie NF- κ B, voir Figure 3). Nous avons montré par spectrométrie de masse qu'une liaison de KIF21B avec CARMA1 ne semble pas être détectable (Tableau IV et résumé des résultats dans Tableau V). CARMA1 ne fait pas parti des protéines immunoprécipitées (Tableau V). Certaines difficultés techniques pourraient être en cause. Il est possible que KIF21B ait besoin d'être activé ou clivé pour que le domaine WD40 soit accessible au partenaire potentiel. Il serait intéressant de refaire ces spectrométries de masse en comparant la protéine KIF21B entière à la protéine tronquée qui ne possède que le domaine WD40. Par la suite, il serait intéressant de faire les co-immunoprécipitations avec des protéines connues, comme TAK1, pour leur interaction avec des protéines possédant un domaine WD40 et qui module l'activité de NF- κ B. L'immunoprécipitation de KIF21B a permis malgré tout

Tableau V: Résumé des résultats du mémoire et de la littérature

| Expériences | KIF21B | C1orf106 | Figures/ Tableaux |
|---|--|---|------------------------------|
| Expression principale dans les tissus | Rein, poumon et système digestif. Plus élevée dans les plaques de Peyer que dans le tissu intestinal adjacent. | Thymus et système digestif | Figures 9, 10 |
| Expression principale dans les cellules | Jurkat (lymphocytes T) et THP-1 (monocytes) | THP-1 (monocytes) et Caco-2 (épithélium du colon) | Figure 11 |
| Expression dans les biopsies | N/A | Tissu sain > non enflammé MC > enflammé MC | Figure 12 |
| Essais gènes rapporteur | KIF21B diminue l'activité de NF-kB induite par CARMA1 | C1orf106 augmente l'activité des voies ATF6, Wnt, HSP et C/EBP | Figures 13, 15 |
| Spectrométrie de masse et immunobuvardage | 14-3-3 ε est un partenaire potentiel | N/A | Tableau III et Figure 18 |
| Séquençage | Variants non significatifs | Variant rare associé, Y333F, à une susceptibilité aux MII [270] | |

N/A : non disponible

d'identifier 14-3-3 ϵ comme partenaire (Figure 18A). Toutefois, l'immunoprécipitation de 14-3-3 ϵ n'a pas détecté une interaction avec KIF21B (Figure 18B). Ceci pourrait s'expliquer par une efficacité moindre de l'anticorps 14-3-3 ϵ ou des conditions sous optimales pour les techniques d'immunoprécipitations avec cet anticorps. D'autres immunoprécipitations seront nécessaires afin de valider cette hypothèse.

Toutefois, KIF21B peut se lier à 14-3-3 ϵ de façon suffisamment stable pour permettre son immunoprécipitation avec l'anti-FLAG. La protéine 14-3-3 ϵ fait partie d'une famille comportant sept isoformes : α/β , γ , ϵ , η , τ/θ , σ et ζ/δ [271]. Ces protéines agissent comme adaptateurs et reconnaissent certains acides aminés phosphorylés comme les phosphosérines [271]. Ces protéines sont impliquées dans la régulation de divers processus cellulaires comme la signalisation mitotique et la survie cellulaire [272], le cycle cellulaire [272], l'activité transcriptionnelle [273], la réplication de l'ADN [274] et plus particulièrement dans la réponse inflammatoire [271, 275]. Zuo *et al.* ont montré une interaction entre 14-3-3 ϵ et TAK1, une protéine de la voie d'activation de NF- κ B [271]. Leur modèle suggère que 14-3-3 ϵ permet l'interaction entre TAK1 et *Protein phosphatase 1B* (PPM1B), interaction nécessaire pour l'activation du complexe IKK, ce qui induit l'activité de NF- κ B. Cette interaction entre KIF21B et 14-3-3 ϵ pourrait entrer en compétition avec PPM1B pour une liaison au complexe 14-3-3-TAK1 ce qui se solderait par une diminution de l'activité NF- κ B (Figure 19). Pour tester cette hypothèse, nous pourrions surexprimer PPM1B, qui compétitionnerait potentiellement alors avec KIF21B, ou utiliser une lignée cellulaire KIF21B *knock-down* et tester si l'activation de NF- κ B

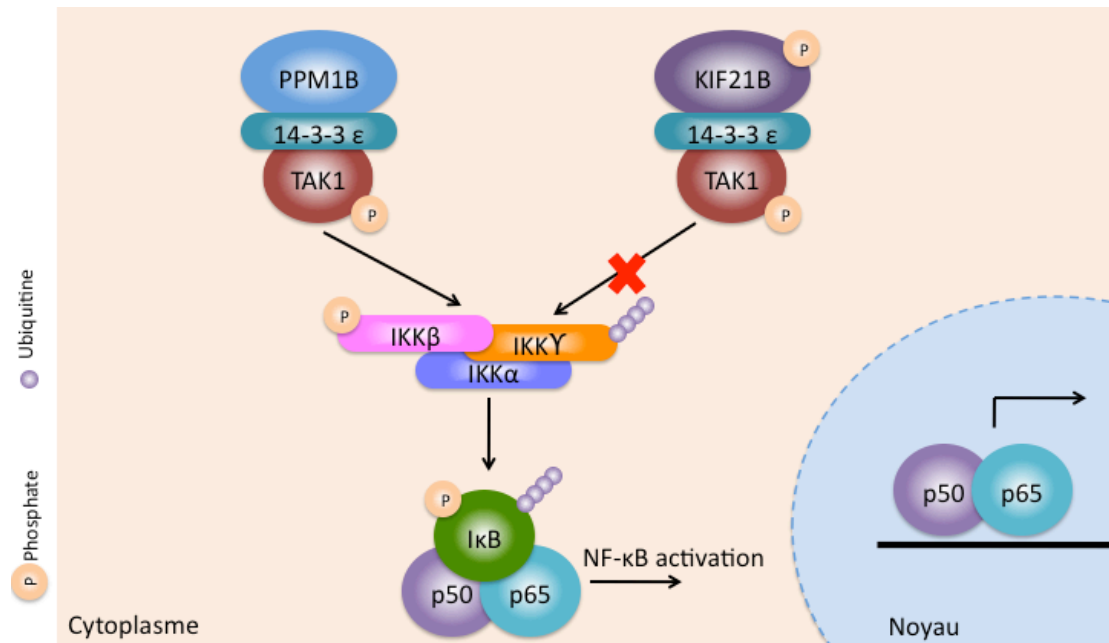


Figure 19 : Modèle suggéré d'action de KIF21B sur l'activité NF-κB.

La protéine 14-3-3 ε agit comme adaptateur entre PPM1B et TAK1 ce qui permet leur interaction. Ce complexe pourra alors activer le complexe IKK, ce qui induit l'activité de NF-κB. Dans un modèle de surexpression, KIF21B pourrait entrer en compétition avec PPM1B pour une liaison au complexe 14-3-3-TAK1. Une diminution de l'activité NF-κB pourrait alors survenir.

est revenue soit au niveau initial soit a augmenté respectivement. Actuellement, le mécanisme par lequel cette diminution de l'activité de NF-kB se produit n'est pas encore expliqué. Toutefois, KIF21B ne serait pas la seule protéine contenant un domaine WD40 à moduler l'activité de NF-kB.

Il est connu que le domaine WD40 d'une protéine peut inhiber l'activité de NF-kB. La liaison du domaine WD40 à une protéine de la cascade d'activation de NF-kB est responsable de cette baisse d'activation. La protéine *WD 40 repeat protein* 34 (WDR34) interagit avec TAK1. La surexpression de WDR34 diminue l'activité NF-kB via son interaction avec TAK1. L'absence du domaine WD40 abolit cet effet [276]. Une autre protéine contenant un domaine WD40 diminue l'activité NF-kB. L'*angio-associated migratory cell protein* (AAMP) interagit avec NOD2 et sa surexpression diminue l'activité de NF-kB. Le domaine WD40 est nécessaire pour maintenir la liaison avec NOD2 et son action sur NF-kB [277]. KIF21B pourrait interagir directement avec une protéine de la cascade NF-kB via son domaine WD40 et ainsi moduler, comme WDR34 et AAMP, l'activité de NF-kB.

Il existe des interactions stables entre des kinésines et des protéines de la famille 14-3-3. Liang *et al.* ont montré, par spectrométrie de masse, une interaction entre 14-3-3 ϵ et KIF11 [278] tandis que Dorner *et al.* ont montré par co-immunoprécipitations que 14-3-3- γ , - β , - ϵ et - ζ , s'associent avec KIF1C [279]. De plus, cette liaison nécessite le domaine WD40 dans la portion carboxy-terminale de KIF1C. La phosphorylation joue un rôle important dans la liaison de la kinésine à son partenaire car une mutation empêchant la phosphorylation de la sérine 1092 de KIF1C abolie cette interaction. L'analyse de la séquence d'acide aminé de KIF21B

(*Human Protein Reference Database*, [280]) montre plusieurs sites potentiels de phosphorylation sur des sérines du domaine WD40 qui sont conservées entre les espèces suggérant qu'elles pourraient être importantes fonctionnellement (Figure 20). Des études par mutagenèse dirigée seront nécessaires pour démontrer que ces sérines sont ou non importantes à la liaison de KIF21B à 14-3-3 ϵ .

| | | | |
|---------|------|--|------|
| Humain | 1275 | GGAKGARTAPLQCVSMAEGHTK*PILCLDATDELLFTGSK | 1312 |
| Gorille | 1296 | GGAKGARTAPLQCVSMAEGHTK*PILCLDATDELLFTGSK | 1333 |
| Souris | 1290 | GGAKGARTAPLQCVSMAEGHTK*PILCLDATDELLFTGSK | 1327 |
| Chien | 1319 | GGAKGARTAPLQCVSMAEGHTK*PILCLDATDELLFTGSK | 1357 |
| Poulet | 1283 | GGTKNARTAPLQCVSVAEGHTK*PVLCLDATDELLFTGSK | 1320 |

Figure 20 : Alignement des nucléotides du domaine WD40 de KIF21B entre différentes espèces.

La phosphorylation de sérines du domaine WD40 joue un rôle important dans la liaison de certaines kinésines à son partenaire. Un alignement de la séquence des acides aminés montre que certaines sérines du domaine WD40 de KIF21B sont conservées entre les espèces. Les étoiles rouges montrent les sites potentiels de phosphorylation des sérines. Les chiffres représentent la position des nucléotides.

8.2 Le rôle biologique de C1orf106

La surexpression de C1orf106 dans les HEK293T, telle que montré par les essais gène rapporteur luciférase, entraîne une augmentation de l'activité de HSP, ATF6, C/EBP et WNT (Figure 15 et résumé des résultats Tableau V). Un point relie ces 4 essais et c'est le stress du RE. C'est dans le RE que les protéines sont glycosylées et que des ponts disulfures sont créés. Ces modifications assurent une structure tertiaire appropriée et le bon fonctionnement de certaines protéines telles que les mucines. Plusieurs de ces processus sont dépendants de la séquence d'acides aminés de la protéine mais aussi des protéines résidentes du RE comme les chaperones. Le repliement des protéines nouvellement synthétisées est dépendant de leur séquence primaire et est assuré par des chaperones dont les HSP et la *glucose-regulated protein 78* (GRP78) [281]. Il est connu que le niveau de HSP et des autres chaperones suit les variations des niveaux de protéines mal repliées et cette variation du niveau des chaperones est un marqueur du stress du RE [282]. La surproduction protéique sature la fonction des chaperones dans leur rôle de repliement ce qui amène un niveau de protéine mal ou non repliée plus élevé qui à son tour amène du stress RE. De plus, les mutations dans la séquence primaire des protéines empêchent les chaperones de fonctionner adéquatement dans la reconnaissance des sites nécessaires au repliement approprié des protéines. Ces deux exemples de facteur altèrent l'homéostasie du RE et qui peuvent entraîner la cellule dans une phase de stress du RE [283]. Plusieurs facteurs contribuent à augmenter le mauvais repliement des protéines comme une augmentation de la synthèse de protéine ou un polymorphisme non-synonyme dans la séquence de la protéine. Quand les protéines mal repliées

s'accumulent et que l'homéostasie du RE n'est pas maintenu, la cellule entre dans une phase de stress RE [283]. Il y aura alors engagement d'un ensemble d'évènements appelé réponse aux protéines non repliées (RPNR). L'élévation de l'activité HSP dans nos essais aurait pu être causée par une production trop abondante de C1orf106 suite à la transfection. Cette production a pu permettre l'accumulation de protéines C1orf106 mal repliées tel que pourrait l'indiquer l'augmentation de l'activité ATF6, un indicateur que le système de RPNR a été stimulé. Nous avons vérifié les niveaux de protéine présents dans les cellules par immunobuvardage. Une quantité de 20 ng/puit est la plus faible dose nécessaire pour une détection (Figure 14). Les résultats présentés à la figure 15 correspondent à une dose de 20 ng/puit, soit la dose de plasmide minimale pour permettre la détection par immunobuvardage (Figure 14). Bien qu'il soit possible que le niveau de C1orf106 est contribué non pas par la fonction de la protéine mais par sa seule présence à induire le stress du RE, la dose plasmidique utilisée est considérée comme très faible. Au sein de notre groupe, j'ai testé d'autres ADNc codant pour des protéines de grande taille, et ce à des doses 5 fois plus élevées, et nous n'avons pas réussi à stimuler la voie du stress RE (Annexe II).

Un élément clef de la RPNR est la chaperone GRP78 qui s'associe aux molécules initiatrices de la voie RPNR comme ATF6 (Figure 21). En présence de protéines mal repliées qui induisent un stress RE, les GRP78 se détacheront de ATF6 afin d'agir comme chaperones. De son côté, ATF6 sera transloqué à l'appareil de Golgi où il sera clivé et activé par site-1 et site-2 protéases. ATF6 est une protéine hétérodimérique de la membrane du RE qui agit, une fois activé, comme facteur de transcription au niveau du noyau [284].

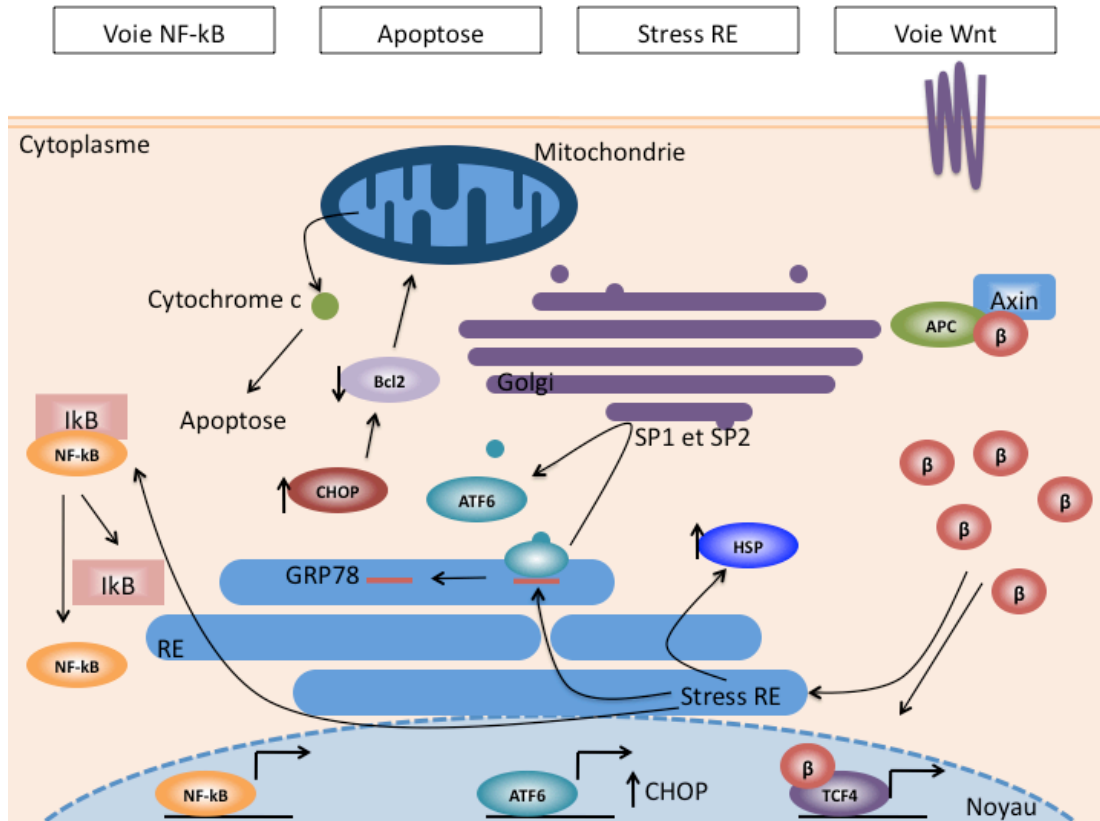


Figure 21 : Schéma des voies biologiques Wnt, Stress RE, apoptose et NF-kB.

Voie NF-κB : En présence de stress RE, IκB sera phosphorylé ce qui libérera et activera NF-κB [285]. Voie apoptose : Le stress RE augmente les niveaux d'ATF6 actif ce qui augmente l'expression de CHOP qui diminue les niveaux de Bcl2. Il y aura alors la relâche de cytochrome c de la mitochondrie qui induit l'apoptose [286]. Voie stress RE : l'accumulation de β-caténine libre engendre du stress RE qui augmente l'expression des HSP qui amène la libération de l'ATF6 de la membrane du RE [284]. Voie Wnt : En absence de signal Wnt, *adenomatous polyposis coli* (APC) facilite la phosphorylation de résidus sérine sur la β-caténine (β) ce qui permet son ubiquitination et sa destruction par le protéasome [287]. En présence de signal Wnt cette voie de dégradation de β-caténine est inhibée. Il y aura alors une accumulation de β-caténine dans le cytosol et au noyau.

Lorsque les protéines mal repliées demeurent dans le RE, s'accumulent et atteignent le seuil limite, d'autres voies biologiques comme l'apoptose et l'inflammation peuvent être induites [288, 289]. Ces deux voies sont impliquées aussi dans le développement des MII. Toutefois, malgré l'induction de ATF6 dans nos essais la voie de l'apoptose n'a pas été activée. Aucune activation significative n'a été observée pour les essais Myc, Foxo, SP1 et STAT3 (Annexe III). Il est connu qu'une augmentation de ATF6 contribue à augmenter la transcription de *C/enhancer binding protein* ζ (CHOP), une protéine de la famille des *C/enhancer binding protein* (C/EBP) (Figure 21) [286]. Nos résultats montrent effectivement une augmentation de l'activité des C/EBP en général (Figure 15). Les protéines C/EBP sont impliquées dans les processus de différenciation et prolifération cellulaire et du contrôle du métabolisme [290]. Leur rôle est plus particulièrement connu dans la littérature pour la différenciation des adipocytes et des cellules myéloïdes [291-293]. Toutefois, CHOP diffère par son rôle dans l'apoptose. Il diminue la transcription du gène anti-apoptotique Bcl2 [294] qui contribue à la relâche de cytochrome c [295] et l'activation subséquente de la cascade pro-apoptotique [296].

L'autre effet d'un stress RE prolongé est l'activation de la voie NF- κ B. Le stress RE dans les cellules sécrétrices de l'intestin peut induire l'inflammation en réduisant l'efficacité de la barrière mucoale par une diminution de la sécrétion de substances antimicrobiennes et en relâchant des signaux de RPNR. Ces cellules produisent des éléments importants comme du mucus et des peptides antimicrobiens afin de protéger contre les infections et l'inflammation [297, 298]. Les données morphologiques, biochimiques et génétiques appuient le rôle des cellules sécrétrices

intestinales dans les MII. Plusieurs études se sont intéressées aux cellules de Paneth qui présentent une diminution de la production de défensines dans les cas de MC actifs [299]. Une demande accrue de la production de protéines, telle que retrouvée dans les cellules sécrétrices, est susceptible d'induire du stress RE. Nos résultats de surexpression de C1orf106 n'ont toutefois pas montré une augmentation de l'activité NF- κ B. Toutefois, plusieurs modèles murins ont permis de montrer que le dérèglement du stress RE engendre de l'inflammation intestinale [300, 301]. Une importante production de protéines, susceptible d'induire du stress RE, est présente dans les cellules intestinales et pourrait activer à long terme la voie NF- κ B tel que retrouvé dans les biopsies intestinales de patients MII actifs. Donc, les essais luciférasas ont permis de mettre en évidence que le stress du RE a été induit suite à une surexpression de C1orf106 mais que le temps d'incubation de 24h n'a pas permis d'observer les effets prolongés sur les voies de l'apoptose ou de l'inflammation. En supposant que la seule accumulation de C1orf106 était responsable de l'élévation du stress, telle que semble l'indiquer les niveaux d'activité HSP, ATF6, et C/EBP, ils ne permettent pas d'expliquer l'élévation de la voie de Wnt. Ces voies biologiques affectées par la surexpression de C1orf106 sont en aval de Wnt (Figure 21) tout comme celle de l'apoptose et de l'inflammation. Il est connu que Wnt joue un rôle important chez une majorité de patients avec une MC de l'iléon [299, 302]. C'est une voie de signalisation qui contrôle la maturation des cellules de Paneth et la prolifération des cellules intestinales [303]. Or, il a été démontré qu'il existe un trouble de la différenciation de ces cellules chez les patients atteints de la MC de l'iléon. En absence de signal Wnt, *adenomatous polyposis coli* (APC) facilite la phosphorylation de résidus sérine sur la β -caténine ce qui permet son ubiquitination

et sa destruction par le protéasome [304]. En présence de signal Wnt cette voie de dégradation de β -caténine est inhibée. Il y aura alors une accumulation de β -caténine dans le cytosol et au noyau (Figure 21) [305, 306]. L'accumulation de la β -caténine est un activateur du facteur de transcription T-cell factor (TCF)/lymphoid enhancer factor (LEF) 4 (TCF4) [307, 308]. TCF4 est le facteur de transcription activé par la voie Wnt qui est, entre autre, responsable de la prolifération cellulaire. De plus, la voie Wnt possède plusieurs rôles dans le système digestif dont celui de promouvoir la migration des cellules de Paneth à la base des cryptes et en assurant l'homéostasie des cellules souches intestinales [307, 309, 310]. Un dérèglement de la voie Wnt, par une perte de fonction de TCF4, résulte en une désorganisation des cryptes [311, 312]. Une diminution de l'ARNm de TCF4 a été observée dans la muqueuse iléale de patient MC. De plus, un variant du promoteur de TCF4 est associé avec la MC de l'iléon [302]. Nos résultats montrent que la surexpression de C1orf106 augmente l'activité de la voie Wnt (Figure 15). Cette activation induirait une accumulation de β -caténine ce qui pourrait être responsable de l'augmentation de l'activité du facteur de transcription TCF4 mais également du stress RE retrouvés dans nos résultats (Figure 15). Pour valider cette hypothèse, nous pourrions mesurer qualitativement les niveaux de β -caténine libre, qui se relocalise au noyau, par immunofluorescence. De plus, nos résultats ont montré une augmentation de l'activité de la famille des C/EBP (Figure 15). Il semble que la voie Wnt et les C/EBP soient intimement liés dans le processus de différenciation des adipocytes. En effet, plusieurs Wnt inhibent l'expression des C/EBP ce qui se traduit par une inhibition de la différenciation [313-315]. Aussi, CHOP, une protéine de la famille des C/EBP, est connu comme inhibiteur du facteur

de transcription TCF4 de la voie Wnt [316]. Ainsi, il est possible que les C/EBP agissent comme régulateur de l'activité de TCF4 lorsque les concentrations de β -caténine augmentent dans la cellule.

L'activation de la voie Wnt amène la déphosphorylation, la stabilisation et l'entrée de la β -caténine dans le noyau. Le complexe β -caténine avec le facteur de transcription TCF4 active la transcription de gènes tels que cyclin D1, c-Myc and *ATP-binding cassette sub-family B member 1* [307]. Des polymorphismes de facteurs de transcription et de protéines impliquées dans la voie Wnt ont déjà été associés aux MII tel que *low density lipoprotein receptor-related protein 6* et TCF7L2 [302, 317]. Nos résultats ayant montrés que la surexpression de C1orf106 augmente l'activité de Wnt (Figure 15), nous pouvons suggérer qu'une diminution de C1orf106 pourrait diminuer l'activité de TCF4. Cette diminution de l'activité de TCF4 pourrait avoir un effet tout aussi important dans les MII en diminuant la production des défensines nécessaires pour la défense de l'épithélium intestinal contre le microbiome (Figure 22) [299]. Notre modèle suggère donc que les niveaux de C1orf106 doivent être finement régulés afin de maintenir des quantités stables de cette protéine (Figure 22). Dans un premier temps, pour valider cette hypothèse, nous pourrions faire des lignées cellulaires stables *knock-down* de C1orf106 et mesurer l'activité TCF4. De plus, l'expression de C1orf106 semble avoir une tendance à diminuer dans les biopsies provenant de régions enflammées du colon de patient MC ce qui rend d'autant plus attrayant le modèle *knock-down* (Figure 12). Toutefois, les études d'expression de C1orf106 dans les biopsies restent à être validées avec un plus grand nombre d'individus puisque pour l'instant les données d'expression ne sont pas appuyées

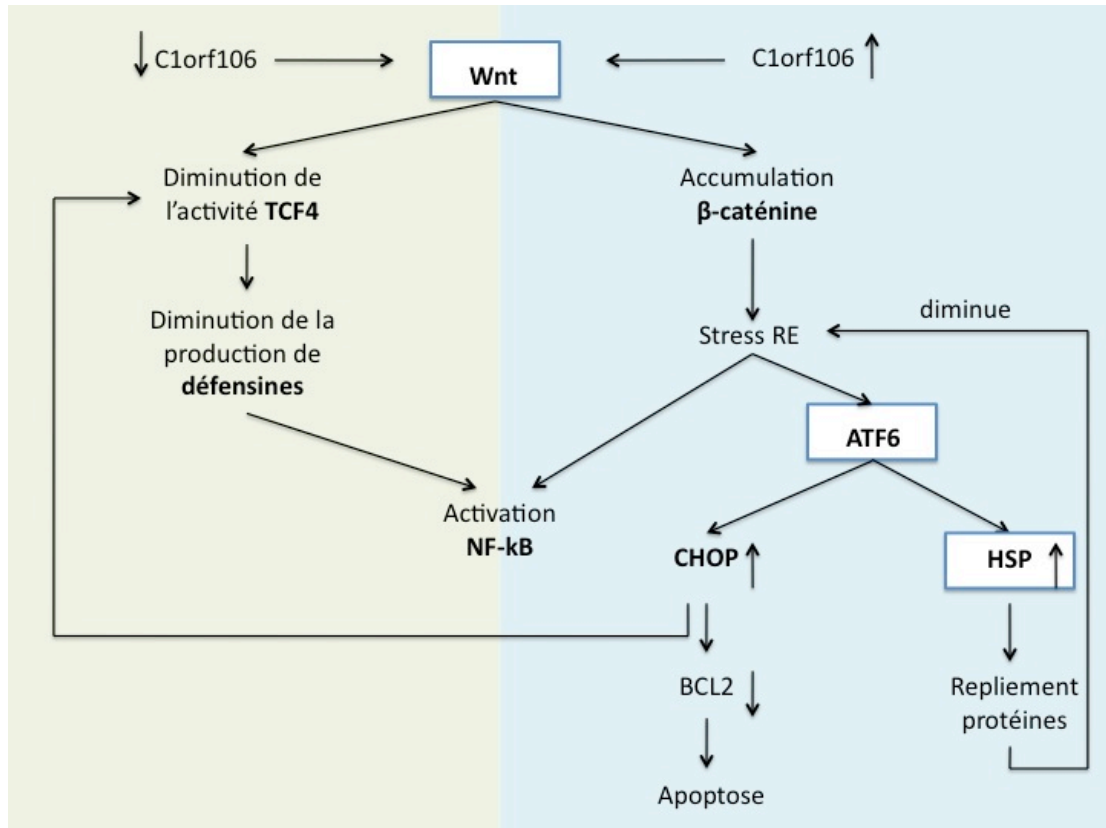


Figure 22 : Modèle d'action suggéré de C1orf106 sur les voies Wnt, stress RE, apoptose et NF-κB.

Un déséquilibre des niveaux cellulaires de C1orf106 peut affecter la voie WNT et apporter une soit une diminution de l'activité de TCF4, soit un stress RE. Un dérèglement de ces voies est déjà connu dans la susceptibilité aux MII.

statistiquement (Figure 12). Il sera aussi intéressant de faire des immunofluorescences de Wnt et *C1orf106* sur les biopsies intestinales de patients et de contrôle sains. Nous pourrions ainsi comparer la localisation de *C1orf106* ou la colocalisation avec Wnt dans le tissu intestinal selon la présence ou non de la pathologie. Dans un deuxième temps, il sera intéressant d'étudier les modèles murins *knock-out* *C1orf106* lorsqu'ils seront disponibles. À l'heure actuelle, le *International Knockout Mice Consortium* travaille à mettre au point une telle souris [280]. Ces souris nous permettront d'étudier et de confirmer les différentes voies biologiques identifiées par nos résultats, entre autre le stress RE et Wnt, et ce dans un modèle biologique complexe pour déterminer l'effet sur la susceptibilité aux MII.

Récemment, un variant rare non synonyme du gène *C1orf106* a été identifié et associé aux MII par notre groupe et des collaborateurs [270]. Il serait intéressant de comparer la fonction de *C1orf106* de façon dépendante du variant Y333F déjà connu comme étant associé à la susceptibilité aux MII [270]. Ce variant pourrait avoir un effet sur les voies biologiques identifiées dans nos résultats.

En conclusion, la région 1q32 contient 2 gènes candidats intéressants à poursuivre l'étude dans le contexte des MII : *C1orf106* et *KIF21B* qui sont des gènes candidats prometteurs puisqu'ils interviennent dans des voies biologiques connues des maladies inflammatoire de l'intestin. Toutefois, avec l'information disponible actuellement par nos résultats et la littérature, *C1orf106* semble être le gène causal dans la région 1q32 (voir le résumé au Tableau V). Déjà connu pour être associé à un risque aux MII, l'effet du variant Y333F sur la fonction de la protéine reste toutefois

à être déterminé afin d'avoir une meilleure compréhension du rôle de C1orf106 dans les MII.

Bibliographie

1. Wheater, P.R., *Wheater's Functional Histology. A Text and colour Atlas* 2000: DeBoeck Université.
2. Guyton, A.C., *Textbook of Medical Physiology*. Eleventh Edition ed 2006.
3. Date, Y., et al., *Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans*. *Endocrinology*, 2000. **141**(11): p. 4255-61.
4. Cummings, D.E., et al., *A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans*. *Diabetes*, 2001. **50**(8): p. 1714-9.
5. Nagaya, N., et al., *Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001. **280**(5): p. R1483-7.
6. Volante, M., et al., *Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. **87**(3): p. 1300-8.
7. Gutniak, M., et al., *Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7-36)amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus*. *N Engl J Med*, 1992. **326**(20): p. 1316-22.
8. Farilla, L., et al., *Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets*. *Endocrinology*, 2003. **144**(12): p. 5149-58.
9. Dupre, J., et al., *Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1973. **37**(5): p. 826-8.
10. Ghatei, M.A., et al., *Molecular forms of human enteroglucagon in tissue and plasma: plasma responses to nutrient stimuli in health and in disorders of the upper gastrointestinal tract*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983. **57**(3): p. 488-95.
11. Dakin, C.L., et al., *Peripheral oxyntomodulin reduces food intake and body weight gain in rats*. *Endocrinology*, 2004. **145**(6): p. 2687-95.
12. Batterham, R.L. and S.R. Bloom, *The gut hormone peptide YY regulates appetite*. *Ann N Y Acad Sci*, 2003. **994**: p. 162-8.

13. Furness, J.B., *The enteric nervous system: normal functions and enteric neuropathies*. Neurogastroenterol Motil, 2008. **20 Suppl 1**: p. 32-8.
14. Wood, J.D., *Integrative functions of the enteric nervous system*. 4th Edition ed. Vol. 1. 2006.
15. Dunlop, S.P., D. Jenkins, and R.C. Spiller, *Distinctive clinical, psychological, and histological features of postinfective irritable bowel syndrome*. Am J Gastroenterol, 2003. **98**(7): p. 1578-83.
16. Beyak, M.J. and S. Vanner, *Inflammation-induced hyperexcitability of nociceptive gastrointestinal DRG neurones: the role of voltage-gated ion channels*. Neurogastroenterol Motil, 2005. **17**(2): p. 175-186.
17. Geboes, K. and S. Collins, *Structural abnormalities of the nervous system in Crohn's disease and ulcerative colitis*. Neurogastroenterol Motil, 1998. **10**(3): p. 189-202.
18. Backhed, F., et al., *Host-bacterial mutualism in the human intestine*. Science, 2005. **307**(5717): p. 1915-20.
19. Penders, J., et al., *Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy*. Pediatrics, 2006. **118**(2): p. 511-21.
20. Dominguez-Bello, M.G., et al., *Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing*. Gastroenterology, 2011. **140**(6): p. 1713-9.
21. Xu, J. and J.I. Gordon, *Honor thy symbionts*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(18): p. 10452-9.
22. Hooper, L.V. and J.I. Gordon, *Commensal host-bacterial relationships in the gut*. Science, 2001. **292**(5519): p. 1115-8.
23. Sartor, R.B., *Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis*. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2006. **3**(7): p. 390-407.
24. Harper, P.H., et al., *Role of the faecal stream in the maintenance of Crohn's colitis*. Gut, 1985. **26**(3): p. 279-84.

25. Bar, F., et al., *Cell-free supernatants of Escherichia coli Nissle 1917 modulate human colonic motility: evidence from an in vitro organ bath study*. Neurogastroenterol Motil, 2009. **21**(5): p. 559-66, e16-7.
26. Tazoe, H., et al., *Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions*. J Physiol Pharmacol, 2008. **59 Suppl 2**: p. 251-62.
27. Bueno, L., *Protease activated receptor 2: a new target for IBS treatment*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2008. **12 Suppl 1**: p. 95-102.
28. Bharucha, A.E., *Lower gastrointestinal functions*. Neurogastroenterol Motil, 2008. **20 Suppl 1**: p. 103-13.
29. Sanders, K.M., S.D. Koh, and S.M. Ward, *Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract*. Annu Rev Physiol, 2006. **68**: p. 307-43.
30. Goldsby, R.A., *Immunologie*. Dunod ed2003.
31. Jang, M.H., et al., *Intestinal villous M cells: an antigen entry site in the mucosal epithelium*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(16): p. 6110-5.
32. Kolls, J.K., P.B. McCray, Jr., and Y.R. Chan, *Cytokine-mediated regulation of antimicrobial proteins*. Nat Rev Immunol, 2008. **8**(11): p. 829-35.
33. Johansson, M.E., et al., *The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(39): p. 15064-9.
34. Lai, Y. and R.L. Gallo, *AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense*. Trends Immunol, 2009. **30**(3): p. 131-41.
35. Potten, C.S., C. Booth, and D. Hargreaves, *The small intestine as a model for evaluating adult tissue stem cell drug targets*. Cell Prolif, 2003. **36**(3): p. 115-29.
36. Wright, N.A., *Epithelial stem cell repertoire in the gut: clues to the origin of cell lineages, proliferative units and cancer*. Int J Exp Pathol, 2000. **81**(2): p. 117-43.
37. Abdul Khalek, F.J., G.I. Gallicano, and L. Mishra, *Colon cancer stem cells*. Gastrointest Cancer Res, 2010(Suppl 1): p. S16-23.

38. Ilyas, M., *Wnt signalling and the mechanistic basis of tumour development*. J Pathol, 2005. **205**(2): p. 130-44.
39. Budarf, M.L., et al., *GWA studies: rewriting the story of IBD*. Trends Genet, 2009. **25**(3): p. 137-46.
40. Wehkamp, J., M. Schmid, and E.F. Stange, *Defensins and other antimicrobial peptides in inflammatory bowel disease*. Curr Opin Gastroenterol, 2007. **23**(4): p. 370-8.
41. Whitman, W.B., D.C. Coleman, and W.J. Wiebe, *Prokaryotes: the unseen majority*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(12): p. 6578-83.
42. Hooper, L.V. and A.J. Macpherson, *Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota*. Nat Rev Immunol, 2010. **10**(3): p. 159-69.
43. Heazlewood, C.K., et al., *Aberrant mucin assembly in mice causes endoplasmic reticulum stress and spontaneous inflammation resembling ulcerative colitis*. PLoS Med, 2008. **5**(3): p. e54.
44. Seksik, P., [*Gut microbiota and IBD*]. Gastroenterol Clin Biol, 2010. **34** **Suppl 1**: p. S44-51.
45. Marteau, P., *Bacterial flora in inflammatory bowel disease*. Dig Dis, 2009. **27** **Suppl 1**: p. 99-103.
46. Rescigno, M., et al., *Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria*. Nat Immunol, 2001. **2**(4): p. 361-7.
47. Furuse, M., et al., *Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions*. J Cell Biol, 1993. **123**(6 Pt 2): p. 1777-88.
48. Tsukita, S., M. Furuse, and M. Itoh, *Multifunctional strands in tight junctions*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2001. **2**(4): p. 285-93.
49. Ando-Akatsuka, Y., et al., *Interspecies diversity of the occludin sequence: cDNA cloning of human, mouse, dog, and rat-kangaroo homologues*. J Cell Biol, 1996. **133**(1): p. 43-7.
50. Saitou, M., et al., *Mammalian occludin in epithelial cells: its expression and subcellular distribution*. Eur J Cell Biol, 1997. **73**(3): p. 222-31.

51. Van Itallie, C.M. and J.M. Anderson, *Claudins and epithelial paracellular transport*. *Annu Rev Physiol*, 2006. **68**: p. 403-29.
52. Amasheh, S., et al., *Tight junction proteins as channel formers and barrier builders*. *Ann N Y Acad Sci*, 2009. **1165**: p. 211-9.
53. Amasheh, S., et al., *Contribution of claudin-5 to barrier properties in tight junctions of epithelial cells*. *Cell Tissue Res*, 2005. **321**(1): p. 89-96.
54. Furuse, M., et al., *Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice*. *J Cell Biol*, 2002. **156**(6): p. 1099-111.
55. Milatz, S., et al., *Claudin-3 acts as a sealing component of the tight junction for ions of either charge and uncharged solutes*. *Biochim Biophys Acta*, 2010. **1798**(11): p. 2048-57.
56. Van Itallie, C., C. Rahner, and J.M. Anderson, *Regulated expression of claudin-4 decreases paracellular conductance through a selective decrease in sodium permeability*. *J Clin Invest*, 2001. **107**(10): p. 1319-27.
57. Amasheh, S., et al., *Claudin-2 expression induces cation-selective channels in tight junctions of epithelial cells*. *J Cell Sci*, 2002. **115**(Pt 24): p. 4969-76.
58. Gunzel, D., et al., *Claudin-10 exists in six alternatively spliced isoforms that exhibit distinct localization and function*. *J Cell Sci*, 2009. **122**(Pt 10): p. 1507-17.
59. Tamura, A., et al., *Loss of claudin-15, but not claudin-2, causes Na⁺ deficiency and glucose malabsorption in mouse small intestine*. *Gastroenterology*, 2011. **140**(3): p. 913-23.
60. Vetrano, S., et al., *Unique role of junctional adhesion molecule-a in maintaining mucosal homeostasis in inflammatory bowel disease*. *Gastroenterology*, 2008. **135**(1): p. 173-84.
61. Heller, F., et al., *Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution*. *Gastroenterology*, 2005. **129**(2): p. 550-64.

62. Zeissig, S., et al., *Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease*. Gut, 2007. **56**(1): p. 61-72.
63. Barrett, J.C., et al., *Genome-wide association study of ulcerative colitis identifies three new susceptibility loci, including the HNF4A region*. Nat Genet, 2009. **41**(12): p. 1330-4.
64. Wapenaar, M.C., et al., *Associations with tight junction genes PARD3 and MAGI2 in Dutch patients point to a common barrier defect for coeliac disease and ulcerative colitis*. Gut, 2008. **57**(4): p. 463-7.
65. Darsigny, M., et al., *Loss of hepatocyte-nuclear-factor-4alpha affects colonic ion transport and causes chronic inflammation resembling inflammatory bowel disease in mice*. PLoS One, 2009. **4**(10): p. e7609.
66. Karam, S.M., *Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut*. Front Biosci, 1999. **4**: p. D286-98.
67. Hollingsworth, M.A. and B.J. Swanson, *Mucins in cancer: protection and control of the cell surface*. Nat Rev Cancer, 2004. **4**(1): p. 45-60.
68. Andrianifahanana, M., N. Moniaux, and S.K. Batra, *Regulation of mucin expression: mechanistic aspects and implications for cancer and inflammatory diseases*. Biochim Biophys Acta, 2006. **1765**(2): p. 189-222.
69. Davis, C.W. and B.F. Dickey, *Regulated airway goblet cell mucin secretion*. Annu Rev Physiol, 2008. **70**: p. 487-512.
70. McGuckin, M.A., et al., *Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases*. Inflamm Bowel Dis, 2009. **15**(1): p. 100-13.
71. Sheng, Y.H., et al., *Mucins in inflammatory bowel diseases and colorectal cancer*. J Gastroenterol Hepatol, 2012. **27**(1): p. 28-38.
72. Franke, A., et al., *Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci*. Nat Genet, 2010. **42**(12): p. 1118-25.
73. Moehle, C., et al., *Aberrant intestinal expression and allelic variants of mucin genes associated with inflammatory bowel disease*. J Mol Med (Berl), 2006. **84**(12): p. 1055-66.

74. Kyo, K., et al., *Associations of distinct variants of the intestinal mucin gene MUC3A with ulcerative colitis and Crohn's disease*. J Hum Genet, 2001. **46**(1): p. 5-20.
75. Lievin-Le Moal, V. and A.L. Servin, *The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiota*. Clin Microbiol Rev, 2006. **19**(2): p. 315-37.
76. Salzman, N.H., et al., *Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology*. Nat Immunol, 2010. **11**(1): p. 76-83.
77. Shi, J., *Defensins and Paneth cells in inflammatory bowel disease*. Inflamm Bowel Dis, 2007. **13**(10): p. 1284-92.
78. Fellermann, K., et al., *A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number predisposes to Crohn disease of the colon*. Am J Hum Genet, 2006. **79**(3): p. 439-48.
79. Lee, J., et al., *Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells*. Nat Cell Biol, 2006. **8**(12): p. 1327-36.
80. Goldsby, R.A., *Immunology*. 4th Edition ed2000.
81. Sansonetti, P.J., *War and peace at mucosal surfaces*. Nat Rev Immunol, 2004. **4**(12): p. 953-64.
82. Wang, Y., et al., *Lymphotoxin beta receptor signaling in intestinal epithelial cells orchestrates innate immune responses against mucosal bacterial infection*. Immunity, 2010. **32**(3): p. 403-13.
83. Borregaard, N., *Neutrophils, from marrow to microbes*. Immunity, 2010. **33**(5): p. 657-70.
84. Nathan, C., *Points of control in inflammation*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 846-52.
85. Chadwick, V.S., et al., *Production of peptides inducing chemotaxis and lysosomal enzyme release in human neutrophils by intestinal bacteria in vitro and in vivo*. Scand J Gastroenterol, 1988. **23**(1): p. 121-8.

86. Arques, J.L., et al., *Salmonella induces flagellin- and MyD88-dependent migration of bacteria-capturing dendritic cells into the gut lumen.* Gastroenterology, 2009. **137**(2): p. 579-87, 587 e1-2.
87. Didierlaurent, A., et al., *How the gut senses its content.* Cell Microbiol, 2002. **4**(2): p. 61-72.
88. Goodman, T. and L. Lefrancois, *Expression of the gamma-delta T-cell receptor on intestinal CD8+ intraepithelial lymphocytes.* Nature, 1988. **333**(6176): p. 855-8.
89. Kunisawa, J., I. Takahashi, and H. Kiyono, *Intraepithelial lymphocytes: their shared and divergent immunological behaviors in the small and large intestine.* Immunol Rev, 2007. **215**: p. 136-53.
90. Roberts, S.J., et al., *T-cell alpha beta + and gamma delta + deficient mice display abnormal but distinct phenotypes toward a natural, widespread infection of the intestinal epithelium.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(21): p. 11774-9.
91. Komano, H., et al., *Homeostatic regulation of intestinal epithelia by intraepithelial gamma delta T cells.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(13): p. 6147-51.
92. Ismail, A.S., C.L. Behrendt, and L.V. Hooper, *Reciprocal interactions between commensal bacteria and gamma delta intraepithelial lymphocytes during mucosal injury.* J Immunol, 2009. **182**(5): p. 3047-54.
93. Marischen, L., et al., *Human gammadelta T cells produce the protease inhibitor and antimicrobial peptide elafin.* Scand J Immunol, 2009. **70**(6): p. 547-52.
94. Blumberg, R.S., *Inflammatory Bowel Disease, In Harrison's Principles of Internal Medicine.* 17 ed2008.
95. Loftus, E.V., Jr., et al., *Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota, 1940-1993: incidence, prevalence, and survival.* Gastroenterology, 1998. **114**(6): p. 1161-8.

96. Trallori, G., et al., *A population-based study of inflammatory bowel disease in Florence over 15 years (1978-92)*. Scand J Gastroenterol, 1996. **31**(9): p. 892-9.
97. Langholz, E., et al., *Changes in extent of ulcerative colitis: a study on the course and prognostic factors*. Scand J Gastroenterol, 1996. **31**(3): p. 260-6.
98. Thomas, G.A., et al., *Incidence of Crohn's disease in Cardiff over 60 years: 1986-1990 an update*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 1995. **7**(5): p. 401-5.
99. Bernstein, C.N., et al., *Epidemiology of Crohn's disease and ulcerative colitis in a central Canadian province: a population-based study*. Am J Epidemiol, 1999. **149**(10): p. 916-24.
100. Yang, H., et al., *Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews*. Gut, 1993. **34**(4): p. 517-24.
101. Loftus, E.V., Jr., *Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences*. Gastroenterology, 2004. **126**(6): p. 1504-17.
102. Rook, G.A. and L.R. Brunet, *Microbes, immunoregulation, and the gut*. Gut, 2005. **54**(3): p. 317-20.
103. Calkins, B.M., *A meta-analysis of the role of smoking in inflammatory bowel disease*. Dig Dis Sci, 1989. **34**(12): p. 1841-54.
104. Koutroubakis, I.E., I.G. Vlachonikolis, and E.A. Kouroumalis, *Role of appendicitis and appendectomy in the pathogenesis of ulcerative colitis: a critical review*. Inflamm Bowel Dis, 2002. **8**(4): p. 277-86.
105. Farmer, R.G., W.M. Michener, and E.A. Mortimer, *Studies of family history among patients with inflammatory bowel disease*. Clin Gastroenterol, 1980. **9**(2): p. 271-7.
106. Mosen, U., et al., *Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with Crohn's disease*. Scand J Gastroenterol, 1991. **26**(3): p. 302-6.
107. Russel, M.G., et al., *Familial aggregation of inflammatory bowel disease: a population-based study in South Limburg, The Netherlands. The South Limburg IBD Study Group*. Scand J Gastroenterol Suppl, 1997. **223**: p. 88-91.

108. Binder, V., *Genetic epidemiology in inflammatory bowel disease*. Dig Dis, 1998. **16**(6): p. 351-5.
109. Bouskra, D., et al., *Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis*. Nature, 2008. **456**(7221): p. 507-10.
110. Vijay-Kumar, M., et al., *Deletion of TLR5 results in spontaneous colitis in mice*. J Clin Invest, 2007. **117**(12): p. 3909-21.
111. Elewaut, D., et al., *NF-kappa B is a central regulator of the intestinal epithelial cell innate immune response induced by infection with enteroinvasive bacteria*. J Immunol, 1999. **163**(3): p. 1457-66.
112. Hayden, M.S. and S. Ghosh, *Shared principles in NF-kappaB signaling*. Cell, 2008. **132**(3): p. 344-62.
113. Wolters, *Immunology*.
114. Ghosh, S. and M. Karin, *Missing pieces in the NF-kappaB puzzle*. Cell, 2002. **109 Suppl**: p. S81-96.
115. Thome, M., et al., *Antigen receptor signaling to NF-kappaB via CARMA1, BCL10, and MALTI*. Cold Spring Harb Perspect Biol. **2**(9): p. a003004.
116. Ghosh, S., M.J. May, and E.B. Kopp, *NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses*. Annu Rev Immunol, 1998. **16**: p. 225-60.
117. Liu, Z.G., et al., *Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF-kappaB activation prevents cell death*. Cell, 1996. **87**(3): p. 565-76.
118. Van Antwerp, D.J., et al., *Suppression of TNF-alpha-induced apoptosis by NF-kappaB*. Science, 1996. **274**(5288): p. 787-9.
119. Rawlings, D.J., K. Sommer, and M.E. Moreno-Garcia, *The CARMA1 signalosome links the signalling machinery of adaptive and innate immunity in lymphocytes*. Nat Rev Immunol, 2006. **6**(11): p. 799-812.
120. Sun, L., et al., *The TRAF6 ubiquitin ligase and TAK1 kinase mediate IKK activation by BCL10 and MALTI in T lymphocytes*. Mol Cell, 2004. **14**(3): p. 289-301.

121. Zhou, H., et al., *Bcl10 activates the NF-kappaB pathway through ubiquitination of NEMO*. Nature, 2004. **427**(6970): p. 167-71.
122. Sato, S., et al., *Essential function for the kinase TAK1 in innate and adaptive immune responses*. Nat Immunol, 2005. **6**(11): p. 1087-95.
123. Strober, W., I. Fuss, and P. Mannon, *The fundamental basis of inflammatory bowel disease*. J Clin Invest, 2007. **117**(3): p. 514-21.
124. Nenci, A., et al., *Epithelial NEMO links innate immunity to chronic intestinal inflammation*. Nature, 2007. **446**(7135): p. 557-61.
125. Tanaka, M., et al., *Embryonic lethality, liver degeneration, and impaired NF-kappa B activation in IKK-beta-deficient mice*. Immunity, 1999. **10**(4): p. 421-9.
126. Beg, A.A., et al., *Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B*. Nature, 1995. **376**(6536): p. 167-70.
127. Beg, A.A., et al., *Constitutive NF-kappa B activation, enhanced granulopoiesis, and neonatal lethality in I kappa B alpha-deficient mice*. Genes Dev, 1995. **9**(22): p. 2736-46.
128. Lee, E.G., et al., *Failure to regulate TNF-induced NF-kappaB and cell death responses in A20-deficient mice*. Science, 2000. **289**(5488): p. 2350-4.
129. Rosetto, M., et al., *Signals from the IL-1 receptor homolog, Toll, can activate an immune response in a Drosophila hemocyte cell line*. Biochem Biophys Res Commun, 1995. **209**(1): p. 111-6.
130. Rock, F.L., et al., *A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(2): p. 588-93.
131. Muzio, M., et al., *Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells*. J Immunol, 2000. **164**(11): p. 5998-6004.
132. Hornung, V., et al., *Quantitative expression of toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides*. J Immunol, 2002. **168**(9): p. 4531-7.
133. Zarembek, K.A. and P.J. Godowski, *Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in*

- leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines.* J Immunol, 2002. **168**(2): p. 554-61.
134. Cario, E., G. Gerken, and D.K. Podolsky, *Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function.* Gastroenterology, 2007. **132**(4): p. 1359-74.
135. Cario, E. and D.K. Podolsky, *Intestinal epithelial TOLLerance versus inTOLLerance of commensals.* Mol Immunol, 2005. **42**(8): p. 887-93.
136. O'Neill, L.A., F.J. Sheedy, and C.E. McCoy, *MicroRNAs: the fine-tuners of Toll-like receptor signalling.* Nat Rev Immunol, 2011. **11**(3): p. 163-75.
137. Cook, D.N., D.S. Pisetsky, and D.A. Schwartz, *Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease.* Nat Immunol, 2004. **5**(10): p. 975-9.
138. Abreu, M.T., *Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function.* Nat Rev Immunol, 2010. **10**(2): p. 131-44.
139. Manavalan, B., S. Basith, and S. Choi, *Similar Structures but Different Roles - An Updated Perspective on TLR Structures.* Front Physiol, 2011. **2**: p. 41.
140. Takeuchi, O., et al., *Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components.* Immunity, 1999. **11**(4): p. 443-51.
141. Aliprantis, A.O., et al., *Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2.* Science, 1999. **285**(5428): p. 736-9.
142. Lemaitre, B., et al., *The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults.* Cell, 1996. **86**(6): p. 973-83.
143. Hayashi, F., et al., *The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5.* Nature, 2001. **410**(6832): p. 1099-103.
144. Alexopoulou, L., et al., *Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3.* Nature, 2001. **413**(6857): p. 732-8.
145. Hemmi, H., et al., *A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA.* Nature, 2000. **408**(6813): p. 740-5.

146. Tracey, L., et al., *Transcriptional response of T cells to IFN-alpha: changes induced in IFN-alpha-sensitive and resistant cutaneous T cell lymphoma*. J Interferon Cytokine Res, 2004. **24**(3): p. 185-95.
147. Chen, G. and D.V. Goeddel, *TNF-R1 signaling: a beautiful pathway*. Science, 2002. **296**(5573): p. 1634-5.
148. Sandborn, W.J. and S.B. Hanauer, *Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results, and safety*. Inflamm Bowel Dis, 1999. **5**(2): p. 119-33.
149. Atreya, R. and M.F. Neurath, *New therapeutic strategies for treatment of inflammatory bowel disease*. Mucosal Immunol, 2008. **1**(3): p. 175-82.
150. Hsu, H., et al., *TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways*. Cell, 1996. **84**(2): p. 299-308.
151. Kelliher, M.A., et al., *The death domain kinase RIP mediates the TNF-induced NF-kappaB signal*. Immunity, 1998. **8**(3): p. 297-303.
152. Ea, C.K., et al., *Activation of IKK by TNFalpha requires site-specific ubiquitination of RIP1 and polyubiquitin binding by NEMO*. Mol Cell, 2006. **22**(2): p. 245-57.
153. Chen, Y., et al., *Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis*. Science, 1994. **265**(5176): p. 1237-40.
154. Miller, A., et al., *Suppressor T cells generated by oral tolerization to myelin basic protein suppress both in vitro and in vivo immune responses by the release of transforming growth factor beta after antigen-specific triggering*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(1): p. 421-5.
155. Li, M.O., et al., *Transforming growth factor-beta regulation of immune responses*. Annu Rev Immunol, 2006. **24**: p. 99-146.
156. Kuhn, R., et al., *Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis*. Cell, 1993. **75**(2): p. 263-74.
157. Cebra, J.J., *Influences of microbiota on intestinal immune system development*. Am J Clin Nutr, 1999. **69**(5): p. 1046S-1051S.

158. Sudo, N., et al., *The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction*. J Immunol, 1997. **159**(4): p. 1739-45.
159. Lanning, D., et al., *Intestinal microflora and diversification of the rabbit antibody repertoire*. J Immunol, 2000. **165**(4): p. 2012-9.
160. Rhee, K.J., et al., *Positive selection of the peripheral B cell repertoire in gut-associated lymphoid tissues*. J Exp Med, 2005. **201**(1): p. 55-62.
161. Fagarasan, S., et al., *Critical roles of activation-induced cytidine deaminase in the homeostasis of gut flora*. Science, 2002. **298**(5597): p. 1424-7.
162. Bouma, G. and W. Strober, *The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease*. Nat Rev Immunol, 2003. **3**(7): p. 521-33.
163. Agrawal, A., Q.M. Eastman, and D.G. Schatz, *Transposition mediated by RAG1 and RAG2 and its implications for the evolution of the immune system*. Nature, 1998. **394**(6695): p. 744-51.
164. Mowat, A.M., *Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens*. Nat Rev Immunol, 2003. **3**(4): p. 331-41.
165. Bockman, D.E. and M.D. Cooper, *Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix, and Peyer's patches. An electron microscopic study*. Am J Anat, 1973. **136**(4): p. 455-77.
166. Pabst, O. and G. Bernhardt, *The puzzle of intestinal lamina propria dendritic cells and macrophages*. Eur J Immunol, 2010. **40**(8): p. 2107-11.
167. Voedisch, S., et al., *Mesenteric lymph nodes confine dendritic cell-mediated dissemination of Salmonella enterica serovar Typhimurium and limit systemic disease in mice*. Infect Immun, 2009. **77**(8): p. 3170-80.
168. Macpherson, A.J. and T. Uhr, *Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria*. Science, 2004. **303**(5664): p. 1662-5.
169. Worbs, T., et al., *Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells*. J Exp Med, 2006. **203**(3): p. 519-27.

170. Coudronniere, N., et al., *NF-kappa B activation induced by T cell receptor/CD28 costimulation is mediated by protein kinase C-theta*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(7): p. 3394-9.
171. Lin, X., et al., *Protein kinase C-theta participates in NF-kappaB activation induced by CD3-CD28 costimulation through selective activation of IkappaB kinase beta*. Mol Cell Biol, 2000. **20**(8): p. 2933-40.
172. Sommer, K., et al., *Phosphorylation of the CARMA1 linker controls NF-kappaB activation*. Immunity, 2005. **23**(6): p. 561-74.
173. Matsumoto, R., et al., *Phosphorylation of CARMA1 plays a critical role in T Cell receptor-mediated NF-kappaB activation*. Immunity, 2005. **23**(6): p. 575-85.
174. Shinohara, H., et al., *IkappaB kinase beta-induced phosphorylation of CARMA1 contributes to CARMA1 Bcl10 MALT1 complex formation in B cells*. J Exp Med, 2007. **204**(13): p. 3285-93.
175. Sun, Z., et al., *PKC-theta is required for TCR-induced NF-kappaB activation in mature but not immature T lymphocytes*. Nature, 2000. **404**(6776): p. 402-7.
176. Su, T.T., et al., *PKC-beta controls I kappa B kinase lipid raft recruitment and activation in response to BCR signaling*. Nat Immunol, 2002. **3**(8): p. 780-6.
177. Friedman, S., *Harrison's Principles of Internal Medicine* 2008.
178. Stein, R.B. and G.R. Lichtenstein, *Medical therapy for Crohn's disease: the state of the art*. Surg Clin North Am, 2001. **81**(1): p. 71-101, viii.
179. Grisham, M.B. and A.M. Miles, *Effects of aminosalicylates and immunosuppressive agents on nitric oxide-dependent N-nitrosation reactions*. Biochem Pharmacol, 1994. **47**(10): p. 1897-902.
180. Hanauer, S.B. and F. Baert, *Medical therapy of inflammatory bowel disease*. Med Clin North Am, 1994. **78**(6): p. 1413-26.
181. Barnes, P.J. and M. Karin, *Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases*. N Engl J Med, 1997. **336**(15): p. 1066-71.

182. Prantera, C., et al., *Mesalamine in the treatment of mild to moderate active Crohn's ileitis: results of a randomized, multicenter trial*. Gastroenterology, 1999. **116**(3): p. 521-6.
183. Camma, C., et al., *Mesalamine in the maintenance treatment of Crohn's disease: a meta-analysis adjusted for confounding variables*. Gastroenterology, 1997. **113**(5): p. 1465-73.
184. Aberra, F.N., et al., *Corticosteroids and immunomodulators: postoperative infectious complication risk in inflammatory bowel disease patients*. Gastroenterology, 2003. **125**(2): p. 320-7.
185. Kersnar, J.B., *Inflammatory Bowel Disease*. 4th Edition ed1995.
186. Cheadle, A., et al., *A community-based approach to preventing alcohol use among adolescents on an American Indian reservation*. Public Health Rep, 1995. **110**(4): p. 439-47.
187. Feagan, B.G., et al., *A critical pathway for treatment of community-acquired pneumonia*. JAMA, 2000. **283**(20): p. 2654-5.
188. Sandborn, W.J., et al., *Fecal bile acids, short-chain fatty acids, and bacteria after ileal pouch-anal anastomosis do not differ in patients with pouchitis*. Dig Dis Sci, 1995. **40**(7): p. 1474-83.
189. Arnold, G.L., et al., *Preliminary study of ciprofloxacin in active Crohn's disease*. Inflamm Bowel Dis, 2002. **8**(1): p. 10-5.
190. Sutherland, L., et al., *Double blind, placebo controlled trial of metronidazole in Crohn's disease*. Gut, 1991. **32**(9): p. 1071-5.
191. Braegger, C.P., et al., *Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation*. Lancet, 1992. **339**(8785): p. 89-91.
192. MacDonald, T.T., et al., *Tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma production measured at the single cell level in normal and inflamed human intestine*. Clin Exp Immunol, 1990. **81**(2): p. 301-5.
193. Breese, E.J., et al., *Tumor necrosis factor alpha-producing cells in the intestinal mucosa of children with inflammatory bowel disease*. Gastroenterology, 1994. **106**(6): p. 1455-66.

194. Murch, S.H., et al., *Serum concentrations of tumour necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease*. *Gut*, 1991. **32**(8): p. 913-7.
195. Watkins, P.E., et al., *Treatment of ulcerative colitis in the cottontop tamarin using antibody to tumour necrosis factor alpha*. *Gut*, 1997. **40**(5): p. 628-33.
196. Hesterberg, P.E., et al., *Rapid resolution of chronic colitis in the cotton-top tamarin with an antibody to a gut-homing integrin alpha 4 beta 7*. *Gastroenterology*, 1996. **111**(5): p. 1373-80.
197. Feldmann, M., *Development of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis*. *Nat Rev Immunol*, 2002. **2**(5): p. 364-71.
198. Targan, S.R., et al., *A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group*. *N Engl J Med*, 1997. **337**(15): p. 1029-35.
199. Aggarwal, B.B., *Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword*. *Nat Rev Immunol*, 2003. **3**(9): p. 745-56.
200. Present, D.H., et al., *Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease*. *N Engl J Med*, 1999. **340**(18): p. 1398-405.
201. Panaccione, R., et al., *Adalimumab sustains clinical remission and overall clinical benefit after 2 years of therapy for Crohn's disease*. *Aliment Pharmacol Ther*, 2010. **31**(12): p. 1296-309.
202. Sandborn, W.J., et al., *Certolizumab pegol for the treatment of Crohn's disease*. *N Engl J Med*, 2007. **357**(3): p. 228-38.
203. Binion, D.G., et al., *Enhanced leukocyte binding by intestinal microvascular endothelial cells in inflammatory bowel disease*. *Gastroenterology*, 1997. **112**(6): p. 1895-907.
204. Farstad, I.N., et al., *Topographic distribution of homing receptors on B and T cells in human gut-associated lymphoid tissue: relation of L-selectin and integrin alpha 4 beta 7 to naive and memory phenotypes*. *Am J Pathol*, 1997. **150**(1): p. 187-99.
205. Panaccione, R., J.G. Ferraz, and P. Beck, *Advances in medical therapy of inflammatory bowel disease*. *Curr Opin Pharmacol*, 2005. **5**(6): p. 566-72.

206. Ford, A.C., et al., *Efficacy of biological therapies in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis*. Am J Gastroenterol, 2011. **106**(4): p. 644-59, quiz 660.
207. Lander, E.S., et al., *Initial sequencing and analysis of the human genome*. Nature, 2001. **409**(6822): p. 860-921.
208. Burton, P.R., M.D. Tobin, and J.L. Hopper, *Key concepts in genetic epidemiology*. Lancet, 2005. **366**(9489): p. 941-51.
209. Cordell, H.J. and D.G. Clayton, *Genetic association studies*. Lancet, 2005. **366**(9491): p. 1121-31.
210. *A haplotype map of the human genome*. Nature, 2005. **437**(7063): p. 1299-320.
211. Frazer, K.A., et al., *A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs*. Nature, 2007. **449**(7164): p. 851-61.
212. *A map of human genome variation from population-scale sequencing*. Nature, 2010. **467**(7319): p. 1061-73.
213. Cavalli-Sforza, L.L., *The Genetics of Human Populations* 1999: Dover Publications.
214. Fu, J., E.A. Festen, and C. Wijmenga, *Multi-ethnic studies in complex traits*. Hum Mol Genet, 2011. **20**(R2): p. R206-13.
215. Glazier, A.M., J.H. Nadeau, and T.J. Aitman, *Finding genes that underlie complex traits*. Science, 2002. **298**(5602): p. 2345-9.
216. Altshuler, D., M.J. Daly, and E.S. Lander, *Genetic mapping in human disease*. Science, 2008. **322**(5903): p. 881-8.
217. Kaprio, J., et al., *Concordance for type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland*. Diabetologia, 1992. **35**(11): p. 1060-7.
218. Zdravkovic, S., et al., *Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20 966 Swedish twins*. J Intern Med, 2002. **252**(3): p. 247-54.
219. Risch, N. and K. Merikangas, *The future of genetic studies of complex human diseases*. Science, 1996. **273**(5281): p. 1516-7.

220. Collins, F.S., M.S. Guyer, and A. Charkravarti, *Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation*. Science, 1997. **278**(5343): p. 1580-1.
221. Lander, E.S., *The new genomics: global views of biology*. Science, 1996. **274**(5287): p. 536-9.
222. Van Limbergen, J., D.C. Wilson, and J. Satsangi, *The genetics of Crohn's disease*. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2009. **10**: p. 89-116.
223. McCarthy, M.I., et al., *Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges*. Nat Rev Genet, 2008. **9**(5): p. 356-69.
224. Chanock, S.J., et al., *Replicating genotype-phenotype associations*. Nature, 2007. **447**(7145): p. 655-60.
225. Gabriel, S.B., et al., *The structure of haplotype blocks in the human genome*. Science, 2002. **296**(5576): p. 2225-9.
226. Ragoussis, J., *Genotyping technologies for genetic research*. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2009. **10**: p. 117-33.
227. *Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls*. Nature, 2007. **447**(7145): p. 661-78.
228. Duerr, R.H., et al., *A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene*. Science, 2006. **314**(5804): p. 1461-3.
229. Rioux, J.D., et al., *Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis*. Nat Genet, 2007. **39**(5): p. 596-604.
230. Parkes, M., et al., *Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility*. Nat Genet, 2007. **39**(7): p. 830-2.
231. Hindorff, L.A., et al., *Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(23): p. 9362-7.
232. Lyssenko, V., et al., *Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion*. Nat Genet, 2009. **41**(1): p. 82-8.

233. Hugot, J.P., et al., *Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease*. Nature, 2001. **411**(6837): p. 599-603.
234. Rioux, J.D., et al., *Genetic variation in the 5q31 cytokine gene cluster confers susceptibility to Crohn disease*. Nat Genet, 2001. **29**(2): p. 223-8.
235. Yamazaki, K., et al., *Single nucleotide polymorphisms in TNFSF15 confer susceptibility to Crohn's disease*. Hum Mol Genet, 2005. **14**(22): p. 3499-506.
236. Hampe, J., et al., *A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1*. Nat Genet, 2007. **39**(2): p. 207-11.
237. Goyette, P., et al., *Gene-centric association mapping of chromosome 3p implicates MST1 in IBD pathogenesis*. Mucosal Immunol, 2008. **1**(2): p. 131-8.
238. Libioulle, C., et al., *Novel Crohn disease locus identified by genome-wide association maps to a gene desert on 5p13.1 and modulates expression of PTGER4*. PLoS Genet, 2007. **3**(4): p. e58.
239. Franke, A., et al., *Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility*. Nat Genet, 2008. **40**(11): p. 1319-23.
240. Fisher, S.A., et al., *Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease*. Nat Genet, 2008. **40**(6): p. 710-2.
241. Silverberg, M.S., et al., *Ulcerative colitis-risk loci on chromosomes 1p36 and 12q15 found by genome-wide association study*. Nat Genet, 2009. **41**(2): p. 216-20.
242. Kugathasan, S., et al., *Loci on 20q13 and 21q22 are associated with pediatric-onset inflammatory bowel disease*. Nat Genet, 2008. **40**(10): p. 1211-5.
243. Barrett, J.C., et al., *Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease*. Nat Genet, 2008. **40**(8): p. 955-62.
244. McGovern, D.P., et al., *Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci*. Nat Genet, 2010. **42**(4): p. 332-7.

245. *Comprehensive follow-up of the first genome-wide association study of multiple sclerosis identifies KIF21B and TMEM39A as susceptibility loci.* Hum Mol Genet, 2010. **19**(5): p. 953-62.
246. Johnson, A.D., et al., *SNAP: a web-based tool for identification and annotation of proxy SNPs using HapMap.* Bioinformatics, 2008. **24**(24): p. 2938-9.
247. Zhang, Z.D., et al., *Identification and analysis of unitary pseudogenes: historic and contemporary gene losses in humans and other primates.* Genome Biol, 2010. **11**(3): p. R26.
248. Ruud, P., O. Fodstad, and E. Hovig, *Identification of a novel cytokeratin 19 pseudogene that may interfere with reverse transcriptase-polymerase chain reaction assays used to detect micrometastatic tumor cells.* Int J Cancer, 1999. **80**(1): p. 119-25.
249. Harper, L.V., A.C. Hilton, and A.F. Jones, *RT-PCR for the pseudogene-free amplification of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene (gapd).* Mol Cell Probes, 2003. **17**(5): p. 261-5.
250. Pink, R.C., et al., *Pseudogenes: pseudo-functional or key regulators in health and disease?* RNA, 2011. **17**(5): p. 792-8.
251. Toulza, E., et al., *Large-scale identification of human genes implicated in epidermal barrier function.* Genome Biol, 2007. **8**(6): p. R107.
252. Ke, T., et al., *Novel CACNA1S mutation causes autosomal dominant hypokalemic periodic paralysis in a South American family.* J Hum Genet, 2009. **54**(11): p. 660-4.
253. Pirone, A., et al., *Identification and functional characterization of malignant hyperthermia mutation T1354S in the outer pore of the Cavalpha1S-subunit.* Am J Physiol Cell Physiol, 2010. **299**(6): p. C1345-54.
254. Hirano, M., et al., *A novel mutation in the calcium channel gene in a family with hypokalemic periodic paralysis.* J Neurol Sci, 2011. **309**(1-2): p. 9-11.
255. Winczewska-Wiktor, A., et al., *Myopathy as the first symptom of hypokalemic periodic paralysis--case report of a girl from a Polish family with CACNA1S (R1239G) mutation.* Adv Med Sci, 2007. **52 Suppl 1**: p. 155-7.

256. Li, F.F., et al., *A novel mutation in CACNA1S gene associated with hypokalemic periodic paralysis which has a gender difference in the penetrance*. J Mol Neurosci, 2012. **46**(2): p. 378-83.
257. Wang, Q., et al., *Novel CACNA1S mutation causes autosomal dominant hypokalemic periodic paralysis in a Chinese family*. J Mol Med (Berl), 2005. **83**(3): p. 203-8.
258. Marszalek, J.R., et al., *Novel dendritic kinesin sorting identified by different process targeting of two related kinesins: KIF21A and KIF21B*. J Cell Biol, 1999. **145**(3): p. 469-79.
259. Hirokawa, N. and R. Takemura, *Molecular motors and mechanisms of directional transport in neurons*. Nat Rev Neurosci, 2005. **6**(3): p. 201-14.
260. Hirokawa, N. and Y. Noda, *Intracellular transport and kinesin superfamily proteins, KIFs: structure, function, and dynamics*. Physiol Rev, 2008. **88**(3): p. 1089-118.
261. Hirokawa, N., et al., *Kinesin superfamily motor proteins and intracellular transport*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009. **10**(10): p. 682-96.
262. Zhou, R., et al., *KIF26A is an unconventional kinesin and regulates GDNF-Ret signaling in enteric neuronal development*. Cell, 2009. **139**(4): p. 802-13.
263. Hirokawa, N., *Kinesin and dynein superfamily proteins and the mechanism of organelle transport*. Science, 1998. **279**(5350): p. 519-26.
264. Dagenbach, E.M. and S.A. Endow, *A new kinesin tree*. J Cell Sci, 2004. **117**(Pt 1): p. 3-7.
265. Zhao, C., et al., *Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1Bbeta*. Cell, 2001. **105**(5): p. 587-97.
266. Okada, Y., et al., *The neuron-specific kinesin superfamily protein KIF1A is a unique monomeric motor for anterograde axonal transport of synaptic vesicle precursors*. Cell, 1995. **81**(5): p. 769-80.
267. Nangaku, M., et al., *KIF1B, a novel microtubule plus end-directed monomeric motor protein for transport of mitochondria*. Cell, 1994. **79**(7): p. 1209-20.

268. Lamason, R.L., A. Kupfer, and J.L. Pomerantz, *The dynamic distribution of CARD11 at the immunological synapse is regulated by the inhibitory kinesin GAKIN*. Mol Cell. **40**(5): p. 798-809.
269. Wu, C., et al., *BioGPS: an extensible and customizable portal for querying and organizing gene annotation resources*. Genome Biol, 2009. **10**(11): p. R130.
270. Rivas, M.A., et al., *Deep resequencing of GWAS loci identifies independent rare variants associated with inflammatory bowel disease*. Nat Genet, 2011. **43**(11): p. 1066-73.
271. Zuo, S., et al., *14-3-3 epsilon dynamically interacts with key components of mitogen-activated protein kinase signal module for selective modulation of the TNF-alpha-induced time course-dependent NF-kappaB activity*. J Proteome Res, 2010. **9**(7): p. 3465-78.
272. Tzivion, G., et al., *14-3-3 proteins as potential oncogenes*. Semin Cancer Biol, 2006. **16**(3): p. 203-13.
273. Winter, S., et al., *14-3-3 proteins recognize a histone code at histone H3 and are required for transcriptional activation*. EMBO J, 2008. **27**(1): p. 88-99.
274. Zannis-Hadjopoulos, M., W. Yahyaoui, and M. Callejo, *14-3-3 cruciform-binding proteins as regulators of eukaryotic DNA replication*. Trends Biochem Sci, 2008. **33**(1): p. 44-50.
275. Choi, E.Y., et al., *Regulation of LFA-1-dependent inflammatory cell recruitment by Cbl-b and 14-3-3 proteins*. Blood, 2008. **111**(7): p. 3607-14.
276. Gao, D., et al., *WDR34 is a novel TAK1-associated suppressor of the IL-1R/TLR3/TLR4-induced NF-kappaB activation pathway*. Cell Mol Life Sci, 2009. **66**(15): p. 2573-84.
277. Bielig, H., et al., *A function for AAMP in Nod2-mediated NF-kappaB activation*. Mol Immunol, 2009. **46**(13): p. 2647-54.
278. Liang, S., et al., *Analysis of the protein complex associated with 14-3-3 epsilon by a deuterated-leucine labeling quantitative proteomics strategy*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009. **877**(7): p. 627-34.

279. Dorner, C., et al., *The kinesin-like motor protein KIF1C occurs in intact cells as a dimer and associates with proteins of the 14-3-3 family*. J Biol Chem, 1999. **274**(47): p. 33654-60.
280. *International Knockout Mice Consortium*.
281. Kesimer, M., et al., *Unpacking a gel-forming mucin: a view of MUC5B organization after granular release*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010. **298**(1): p. L15-22.
282. Kozutsumi, Y., et al., *The presence of malformed proteins in the endoplasmic reticulum signals the induction of glucose-regulated proteins*. Nature, 1988. **332**(6163): p. 462-4.
283. Ron, D. and P. Walter, *Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007. **8**(7): p. 519-29.
284. Haze, K., et al., *Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress*. Mol Biol Cell, 1999. **10**(11): p. 3787-99.
285. Zhang, K. and R.J. Kaufman, *From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response*. Nature, 2008. **454**(7203): p. 455-62.
286. Nakanishi, K., T. Sudo, and N. Morishima, *Endoplasmic reticulum stress signaling transmitted by ATF6 mediates apoptosis during muscle development*. J Cell Biol, 2005. **169**(4): p. 555-60.
287. Aberle, H., et al., *beta-catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway*. EMBO J, 1997. **16**(13): p. 3797-804.
288. Kim, I., W. Xu, and J.C. Reed, *Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities*. Nat Rev Drug Discov, 2008. **7**(12): p. 1013-30.
289. Rutkowski, D.T. and R.J. Kaufman, *That which does not kill me makes me stronger: adapting to chronic ER stress*. Trends Biochem Sci, 2007. **32**(10): p. 469-76.
290. Ramji, D.P. and P. Foka, *CCAAT/enhancer-binding proteins: structure, function and regulation*. Biochem J, 2002. **365**(Pt 3): p. 561-75.

291. Darlington, G.J., S.E. Ross, and O.A. MacDougald, *The role of C/EBP genes in adipocyte differentiation*. J Biol Chem, 1998. **273**(46): p. 30057-60.
292. Yamanaka, R., et al., *CCAAT/enhancer binding protein epsilon is preferentially up-regulated during granulocytic differentiation and its functional versatility is determined by alternative use of promoters and differential splicing*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(12): p. 6462-7.
293. Scott, L.M., et al., *A novel temporal expression pattern of three C/EBP family members in differentiating myelomonocytic cells*. Blood, 1992. **80**(7): p. 1725-35.
294. Puthalakath, H., et al., *ER stress triggers apoptosis by activating BH3-only protein Bim*. Cell, 2007. **129**(7): p. 1337-49.
295. McCullough, K.D., et al., *Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state*. Mol Cell Biol, 2001. **21**(4): p. 1249-59.
296. Wang, X., *The expanding role of mitochondria in apoptosis*. Genes Dev, 2001. **15**(22): p. 2922-33.
297. Salzman, N.H., et al., *Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin*. Nature, 2003. **422**(6931): p. 522-6.
298. Van der Sluis, M., et al., *Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection*. Gastroenterology, 2006. **131**(1): p. 117-29.
299. Wehkamp, J., et al., *The Paneth cell alpha-defensin deficiency of ileal Crohn's disease is linked to Wnt/Tcf-4*. J Immunol, 2007. **179**(5): p. 3109-18.
300. Park, S.W., et al., *The protein disulfide isomerase AGR2 is essential for production of intestinal mucus*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(17): p. 6950-5.
301. Zhao, F., et al., *Disruption of Paneth and goblet cell homeostasis and increased endoplasmic reticulum stress in Agr2^{-/-} mice*. Dev Biol, 2010. **338**(2): p. 270-9.

302. Koslowski, M.J., et al., *Genetic variants of Wnt transcription factor TCF-4 (TCF7L2) putative promoter region are associated with small intestinal Crohn's disease*. PLoS One, 2009. **4**(2): p. e4496.
303. Gregorieff, A. and H. Clevers, *Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer*. Genes Dev, 2005. **19**(8): p. 877-90.
304. Amit, S., et al., *Axin-mediated CKI phosphorylation of beta-catenin at Ser 45: a molecular switch for the Wnt pathway*. Genes Dev, 2002. **16**(9): p. 1066-76.
305. Dixelius, J., et al., *Endostatin regulates endothelial cell adhesion and cytoskeletal organization*. Cancer Res, 2002. **62**(7): p. 1944-7.
306. Yanagawa, S., et al., *Casein kinase I phosphorylates the Armadillo protein and induces its degradation in Drosophila*. EMBO J, 2002. **21**(7): p. 1733-42.
307. Clevers, H., *Wnt/beta-catenin signaling in development and disease*. Cell, 2006. **127**(3): p. 469-80.
308. Grigoryan, T., et al., *Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss- and gain-of-function mutations of beta-catenin in mice*. Genes Dev, 2008. **22**(17): p. 2308-41.
309. Pinto, D. and H. Clevers, *Wnt, stem cells and cancer in the intestine*. Biol Cell, 2005. **97**(3): p. 185-96.
310. van Es, J.H., et al., *Wnt signalling induces maturation of Paneth cells in intestinal crypts*. Nat Cell Biol, 2005. **7**(4): p. 381-6.
311. Korinek, V., et al., *Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4*. Nat Genet, 1998. **19**(4): p. 379-83.
312. Pinto, D., et al., *Canonical Wnt signals are essential for homeostasis of the intestinal epithelium*. Genes Dev, 2003. **17**(14): p. 1709-13.
313. Okamura, M., et al., *COUP-TFII acts downstream of Wnt/beta-catenin signal to silence PPARgamma gene expression and repress adipogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(14): p. 5819-24.
314. Ross, S.E., et al., *Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling*. Science, 2000. **289**(5481): p. 950-3.

315. Berg, T., L. Didon, and M. Nord, *Ectopic expression of C/EBPalpha in the lung epithelium disrupts late lung development*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006. **291**(4): p. L683-93.
316. Horndasch, M., et al., *The C/EBP homologous protein CHOP (GADD153) is an inhibitor of Wnt/TCF signals*. Oncogene, 2006. **25**(24): p. 3397-407.
317. Koslowski, M.J., et al., *Association of a Functional Variant in the Wnt Co-Receptor LRP6 with Early Onset Ileal Crohn's Disease*. PLoS Genet, 2012. **8**(2): p. e1002523.
318. Gasteigner, E., *Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server*. Humana Press ed. The Proteomics Protocols Handbook2005.

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B

| Identification UniProt | Protéines | Nombre de peptide | Abondance du peptide dans l'échantillon | |
|---------------------------|---|-------------------------|---|--------|
| | | | Contrôle négatif | KIF21B |
| IPI:IP100872997 | KIF21B Isoform 1 of Kinesin-like protein KIF21B | 77 | 0,01 | 0,67 |
| IPI:IP100397809 | KIF21B Kinesin-like protein KIF21B variant | 71 | 0,01 | 0,68 |
| IPI:IP100418471 | VIM Vimentin | 64 | 0,14 | 0,17 |
| IPI:IP100220327 | KRT1 Keratin type II cytoskeletal 1 | 43 | 0,50 | 0,10 |
| IPI:IP100782992 | SRRM2 Isoform 1 of Serine/arginine repetitive matrix protein 2 | 42 | 0,01 | 0,21 |
| IPI:IP100853115 | - NEFM protein | 39 | 0,15 | 0,13 |
| IPI:IP100171903 | HNRNPM Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M | 38 | 0,07 | 0,22 |
| IPI:IP100304925 | HSPA1A;HSPA1B Heat shock 70 kDa protein 1 | 37 | 0,15 | 0,16 |
| IPI:IP100019359 | KRT9 Keratin type I cytoskeletal 9 | 33 | 0,42 | 0,07 |
| IPI:IP100021304 | KRT2 Keratin type II cytoskeletal 2 epidermal | 31 | 0,68 | 0,06 |
| IPI:IP100009865 | KRT10 Keratin type I cytoskeletal 10 | 30 | 0,65 | 0,09 |
| IPI:IP100299145 | KRT6C Keratin type II cytoskeletal 6C | 26 | 0,67 | 0,02 |
| IPI:IP100300725 | KRT6A Keratin type II cytoskeletal 6A | 26 | 0,67 | 0,02 |
| IPI:IP100003865 | HSPA8 Isoform 1 of Heat shock cognate 71 kDa protein | 26 | 0,18 | 0,14 |
| IPI:IP100217975 | LMNB1 Lamin-B1 ACIN1 Isoform 1 of Apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus | 26 | 0,10 | 0,31 |
| IPI:IP100007334 | ACIN1 Isoform 1 of Apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus | 26 | 0,02 | 0,14 |
| IPI:IP100385042 | GTPBP4 Nucleolar GTP-binding protein 1 SNRNP200 Isoform 1 of U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase | 26 | 0,18 | 0,16 |
| IPI:IP100420014 | SNRNP200 Isoform 1 of U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase | 26 | 0,13 | 0,24 |
| IPI:IP100007928 | PRPF8 Pre-mRNA-processing-splicing factor 8 | 26 | 0,08 | 0,36 |
| IPI:IP100414676 | HSP90AB1 Heat shock protein HSP 90-beta | 25 | 0,01 | 0,24 |
| IPI:IP100028955 | BOP1 Ribosome biogenesis protein BOP1 | 25 | 0,21 | 0,09 |
| IPI:IP100413671 | BCLAF1 Isoform 2 of Bcl-2-associated transcription factor 1 | 24 | 0,01 | 0,07 |
| IPI:IP100009867 | KRT5 Keratin type II cytoskeletal 5 | 22 | 0,63 | 0,02 |
| IPI:IP100329389 | RPL6 60S ribosomal protein L6 | 22 | 0,15 | 0,25 |
| IPI:IP100021439 | ACTB Actin cytoplasmic 1 | 22 | 0,02 | 0,20 |
| IPI:IP100031812 | YBX1 Nuclease-sensitive element-binding protein 1 | 22 | 0,28 | 0,18 |
| IPI:IP100449049 | PARP1 Poly [ADP-ribose] polymerase 1 | 22 | 0,07 | 0,21 |
| IPI:IP100104050 | THRAP3 Thyroid hormone receptor-associated protein 3 | 22 | 0,02 | 0,07 |
| IPI:IP100604620 | NCL Nucleolin | 21 | 0,08 | 0,20 |
| IPI:IP100011654 | TUBB Tubulin beta chain | 20 | 0,03 | 0,34 |
| IPI:IP100219757 | GSTP1 Glutathione S-transferase P | 20 | 0,14 | 0,18 |
| IPI:IP100217963 | KRT16 Keratin type I cytoskeletal 16 | 20 | 0,78 | 0,02 |
| IPI:IP100217686 | FTSJ3 Putative rRNA methyltransferase 3 | 20 | 0,23 | 0,08 |
| IPI:IP100550021 | RPL3 60S ribosomal protein L3 | 19 | 0,20 | 0,21 |
| IPI:IP100382470 | HSP90AA1 heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic) class A member 1 isoform 1 | 19 | 0,01 | 0,23 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|----|------|------|
| IPI:IPI00017297 | MATR3 Matrin-3 | 19 | 0,03 | 0,19 |
| IPI:IPI00740142 | LOC652147 hypothetical protein partial | 19 | 0,11 | 0,22 |
| IPI:IPI00237671 | NEFL Neurofilament light polypeptide | 18 | 0,14 | 0,13 |
| IPI:IPI00001453 | INA Alpha-internexin | 18 | 0,11 | 0,08 |
| IPI:IPI00554648 | KRT8 Keratin type II cytoskeletal 8 | 18 | 0,26 | 0,13 |
| IPI:IPI00910738 | - cDNA FLJ60647 highly similar to Keratin type II cytoskeletal 6B HNRNPA2B1 Isoform B1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins | 18 | 0,65 | 0,02 |
| IPI:IPI00396378 | A2/B1 | 18 | 0,10 | 0,22 |
| IPI:IPI00874030 | HNRNPA2B1 43 kDa protein | 18 | 0,07 | 0,25 |
| IPI:IPI00329665 | HIST2H2BF;HIST2H2BA Histone H2B type 2-F | 17 | 0,16 | 0,22 |
| IPI:IPI00515061 | HIST1H2BJ Histone H2B type 1-J | 17 | 0,10 | 0,24 |
| IPI:IPI00220403 | HIST1H2BB Histone H2B type 1-B | 17 | 0,10 | 0,24 |
| IPI:IPI00003918 | RPL4 60S ribosomal protein L4 | 17 | 0,13 | 0,29 |
| IPI:IPI00643152 | - cDNA FLJ56386 highly similar to Heat shock 70 kDa protein 1L | 17 | 0,14 | 0,16 |
| IPI:IPI00301277 | HSPA1L Heat shock 70 kDa protein 1L | 17 | 0,14 | 0,16 |
| IPI:IPI00644079 | HNRNPU heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U isoform a | 17 | 0,09 | 0,18 |
| IPI:IPI00784154 | HSPD1 60 kDa heat shock protein mitochondrial | 17 | 0,01 | 0,10 |
| IPI:IPI00384444 | KRT14 Keratin type I cytoskeletal 14 | 16 | 0,70 | 0,04 |
| IPI:IPI00021428 | ACTA1 Actin alpha skeletal muscle | 16 | 0,03 | 0,13 |
| IPI:IPI00013881 | HNRNPH1 Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H | 16 | 0,10 | 0,21 |
| IPI:IPI00479509 | - RcNSEP1 (Fragment) | 16 | 0,33 | 0,15 |
| IPI:IPI00186290 | EEF2 Elongation factor 2 | 16 | 0,02 | 0,29 |
| IPI:IPI00003768 | PES1 Isoform 1 of Pescadillo homolog 1 | 16 | 0,17 | 0,11 |
| IPI:IPI00003519 | EFTUD2 116 kDa U5 small nuclear ribonucleoprotein component | 16 | 0,14 | 0,14 |
| IPI:IPI00008708 | RSL1D1 Ribosomal L1 domain-containing protein 1 | 16 | 0,47 | 0,09 |
| IPI:IPI00844578 | DHX9 ATP-dependent RNA helicase A | 16 | 0,12 | 0,28 |
| IPI:IPI00477495 | H2BFS Histone H2B type F-S | 15 | 0,15 | 0,23 |
| IPI:IPI00453473 | Histone H4 HNRNPC Isoform C2 of Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins | 15 | 0,05 | 0,43 |
| IPI:IPI00477313 | C1/C2 HNRNPC Isoform C1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins | 15 | 0,41 | 0,14 |
| IPI:IPI00216592 | C1/C2 | 15 | 0,39 | 0,15 |
| IPI:IPI00735235 | LOC641814 similar to Ribosomal protein L6 isoform 7 | 15 | 0,13 | 0,26 |
| IPI:IPI00304612 | RPL13A 60S ribosomal protein L13a | 15 | 0,38 | 0,13 |
| IPI:IPI00465248 | ENO1 Isoform alpha-enolase of Alpha-enolase | 15 | 0,01 | 0,12 |
| IPI:IPI00909378 | - cDNA FLJ59219 highly similar to Poly(A)-binding protein 1 | 15 | 0,40 | 0,11 |
| IPI:IPI00410017 | PABPC1 Isoform 2 of Polyadenylate-binding protein 1 | 15 | 0,40 | 0,11 |
| IPI:IPI00013475 | TUBB2A Tubulin beta-2A chain | 14 | 0,04 | 0,35 |
| IPI:IPI00396485 | EEF1A1 Elongation factor 1-alpha 1 | 14 | 0,01 | 0,26 |
| IPI:IPI00007752 | TUBB2C Tubulin beta-2C chain | 14 | 0,02 | 0,34 |
| IPI:IPI00472171 | RPL7 30 kDa protein | 14 | 0,26 | 0,23 |
| IPI:IPI00215884 | SFRS1 Isoform ASF-1 of Splicing factor arginine/serine-rich 1 | 14 | 0,15 | 0,13 |
| IPI:IPI00292387 | NOLC1 Isoform Alpha of Nucleolar phosphoprotein p130 | 14 | 0,02 | 0,25 |
| IPI:IPI00014533 | UBTF Isoform UBF1 of Nucleolar transcription factor 1 | 14 | 0,02 | 0,30 |
| IPI:IPI00796945 | PABPC1 cDNA FLJ37875 fis clone BRSSN2018771 highly similar to Poly(A)-binding protein 1 | 14 | 0,40 | 0,13 |
| IPI:IPI00005859 | KRT75 cDNA FLJ60809 highly similar to Homo sapiens cytokeratin type II (K6HF) mRNA | 13 | 0,61 | 0,03 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|--|----|------|------|
| IPI:IP100000816 | YWHAE 14-3-3 protein epsilon | 13 | 0,01 | 0,41 |
| IPI:IP100007702 | HSPA2 Heat shock-related 70 kDa protein 2 | 13 | 0,16 | 0,14 |
| IPI:IP100549248 | NPM1 Isoform 1 of Nucleophosmin | 13 | 0,11 | 0,22 |
| IPI:IP100908873 | NOLC1 Isoform 3 of Nucleolar phosphoprotein p130 | 13 | 0,02 | 0,21 |
| IPI:IP100304692 | RBMX Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G | 13 | 0,31 | 0,17 |
| IPI:IP100816796 | RBMX cDNA FLJ38696 fis clone KIDNE2001931 highly similar to HETEROGENEOUS NUCLEAR RIBONUCLEOPROTEIN G | 13 | 0,31 | 0,17 |
| IPI:IP100239815 | CIRH1A Isoform 1 of Cirhin | 13 | 0,13 | 0,15 |
| IPI:IP100217465 | HIST1H1C Histone H1.2 | 12 | 0,17 | 0,24 |
| IPI:IP100299573 | RPL7A 60S ribosomal protein L7a | 12 | 0,34 | 0,19 |
| IPI:IP100218343 | TUBA1C Tubulin alpha-1C chain | 12 | 0,01 | 0,41 |
| IPI:IP100908662 | - cDNA FLJ50994 moderately similar to 60S ribosomal protein L4 | 12 | 0,11 | 0,36 |
| IPI:IP100917126 | ACTA2 ACTA2 protein (Fragment) | 12 | 0,03 | 0,13 |
| IPI:IP100465361 | RPL13 60S ribosomal protein L13 | 12 | 0,16 | 0,20 |
| IPI:IP100003362 | HSPA5 HSPA5 protein | 12 | 0,10 | 0,15 |
| IPI:IP100911016 | - cDNA FLJ11352 fis clone HEMBA1000020 highly similar to Tubulin beta-2C chain | 12 | 0,02 | 0,35 |
| IPI:IP100026230 | HNRNPH2 Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2 | 12 | 0,08 | 0,21 |
| IPI:IP100216318 | YWHAB Isoform Long of 14-3-3 protein beta/alpha RP11-365K22.1 Novel protein similar to ribosomal protein L13a | 12 | 0,02 | 0,25 |
| IPI:IP100398983 | RPL13A | 12 | 0,35 | 0,18 |
| IPI:IP100218592 | SFRS1 Isoform ASF-3 of Splicing factor arginine/serine-rich 1 | 12 | 0,15 | 0,12 |
| IPI:IP100003881 | HNRNPF Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F | 12 | 0,11 | 0,11 |
| IPI:IP100011268 | RALY RNA binding protein autoantigenic (HnRNP-associated with lethal yellow homolog (Mouse)) isoform CRA_a (Fragment) | 12 | 0,36 | 0,18 |
| IPI:IP100012340 | SFRS9 Splicing factor arginine/serine-rich 9 | 12 | 0,24 | 0,04 |
| IPI:IP100009771 | LMNB2 Lamin-B2 | 12 | 0,06 | 0,30 |
| IPI:IP100008557 | IGF2BP1 Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1 | 12 | 0,05 | 0,14 |
| IPI:IP100217240 | WDR75 WD repeat-containing protein 75 | 12 | 0,20 | 0,14 |
| IPI:IP100217467 | HIST1H1E Histone H1.4 | 11 | 0,18 | 0,23 |
| IPI:IP100397676 | LOC388474 similar to ribosomal protein L7a | 11 | 0,34 | 0,18 |
| IPI:IP100180675 | TUBA1A Tubulin alpha-1A chain | 11 | 0,01 | 0,42 |
| IPI:IP100026202 | RPL18A 60S ribosomal protein L18a | 11 | 0,14 | 0,33 |
| IPI:IP100221088 | RPS9 40S ribosomal protein S9 | 11 | 0,22 | 0,33 |
| IPI:IP100025329 | RPL19 60S ribosomal protein L19 | 11 | 0,25 | 0,17 |
| IPI:IP100144171 | hCG_2015956 hypothetical protein LOC648000 | 11 | 0,27 | 0,23 |
| IPI:IP100789041 | PNN Isoform 1 of Pinin | 11 | 0,01 | 0,30 |
| IPI:IP100216049 | HNRNPK Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K | 11 | 0,08 | 0,22 |
| IPI:IP100514561 | HNRNPK Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K HNRNPA1 Isoform A1-A of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 | 11 | 0,08 | 0,22 |
| IPI:IP100465365 | A1 | 11 | 0,04 | 0,43 |
| IPI:IP100910979 | - cDNA FLJ54554 highly similar to Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | 11 | 0,01 | 0,14 |
| IPI:IP100220644 | PKM2 Isoform M1 of Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | 11 | 0,01 | 0,19 |
| IPI:IP100055954 | WDR43 WD repeat-containing protein 43 PKM2 cDNA FLJ53368 highly similar to Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | 11 | 0,39 | 0,05 |
| IPI:IP100847989 | M1/M2 | 11 | 0,01 | 0,17 |
| IPI:IP100009328 | EIF4A3 Eukaryotic initiation factor 4A-III | 11 | 0,04 | 0,04 |
| IPI:IP100645078 | UBA1 Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1 | 11 | 0,03 | 0,18 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|----|------|------|
| IPI:IPI00478896 | RPL7A Ribosomal protein L7a | 10 | 0,33 | 0,20 |
| IPI:IPI00339269 | HSPA6 Heat shock 70 kDa protein 6 | 10 | 0,17 | 0,13 |
| IPI:IPI00000015 | SFRS4 Splicing factor arginine/serine-rich 4 | 10 | 0,02 | 0,12 |
| IPI:IPI00012345 | SFRS6 Isoform SRP55-1 of Splicing factor arginine/serine-rich 6 | 10 | 0,02 | 0,13 |
| IPI:IPI00556297 | SFRS6 Arginine/serine-rich splicing factor 6 variant (Fragment) | 10 | 0,02 | 0,13 |
| IPI:IPI00023598 | TUBB4 Tubulin beta-4 chain | 10 | 0,03 | 0,28 |
| IPI:IPI00021263 | YWHAZ 14-3-3 protein zeta/delta | 10 | 0,01 | 0,30 |
| IPI:IPI00059366 | H2AFY H2A histone family member Y isoform 2 | 10 | 0,08 | 0,32 |
| IPI:IPI00031801 | CSDA Isoform 1 of DNA-binding protein A | 10 | 0,21 | 0,21 |
| IPI:IPI00885081 | HDGF2 Isoform 2 of Hepatoma-derived growth factor-related protein 2 | 10 | 0,01 | 0,13 |
| IPI:IPI00450768 | KRT17 Keratin type I cytoskeletal 17 | 10 | 0,72 | 0,04 |
| IPI:IPI00025491 | EIF4A1 Eukaryotic initiation factor 4A-I HNRNPA1 Isoform A1-B of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein | 10 | 0,01 | 0,29 |
| IPI:IPI00215965 | A1 | 10 | 0,04 | 0,43 |
| IPI:IPI00215780 | RPS19 40S ribosomal protein S19 | 10 | 0,21 | 0,02 |
| IPI:IPI00005154 | SSRP1 FACT complex subunit SSRP1 | 10 | 0,10 | 0,45 |
| IPI:IPI00026970 | SUPT16H FACT complex subunit SPT16 | 10 | 0,25 | 0,34 |
| IPI:IPI00216457 | HIST2H2AA4;HIST2H2AA3 Histone H2A type 2-A | 9 | 0,31 | 0,04 |
| IPI:IPI00171611 | HIST2H3A;HIST2H3D;HIST2H3C Histone H3.2 | 9 | 0,04 | 0,59 |
| IPI:IPI00152453 | TUBB3 HCG2042771 | 9 | 0,05 | 0,34 |
| IPI:IPI00003377 | SFRS7 Isoform 1 of Splicing factor arginine/serine-rich 7 | 9 | 0,09 | 0,20 |
| IPI:IPI00290857 | KRT3 Keratin type II cytoskeletal 3 | 9 | 0,59 | 0,03 |
| IPI:IPI00397611 | LOC388344 similar to RPL13 protein | 9 | 0,15 | 0,19 |
| IPI:IPI00247583 | RPL21;LOC729402 60S ribosomal protein L21 | 9 | 0,14 | 0,27 |
| IPI:IPI00012772 | RPL8 60S ribosomal protein L8 | 9 | 0,26 | 0,26 |
| IPI:IPI00796861 | LOC100130892 WUGSC:H_RG054D04.1 protein | 9 | 0,28 | 0,20 |
| IPI:IPI00021266 | RPL23A;hCG_16001 60S ribosomal protein L23a | 9 | 0,28 | 0,17 |
| IPI:IPI00879359 | - 28 kDa protein | 9 | 0,02 | 0,31 |
| IPI:IPI00398949 | - 17 kDa protein | 9 | 0,28 | 0,19 |
| IPI:IPI00180730 | - Similar to Elongation factor 1-alpha 1 | 9 | 0,01 | 0,26 |
| IPI:IPI00555744 | RPL14 Ribosomal protein L14 variant | 9 | 0,24 | 0,27 |
| IPI:IPI00013891 | TRA2A Isoform Long of Transformer-2 protein homolog | 9 | 0,14 | 0,14 |
| IPI:IPI00386854 | HNRNPA2B1 28 kDa protein | 9 | 0,01 | 0,36 |
| IPI:IPI00027270 | RPL26 60S ribosomal protein L26 | 9 | 0,54 | 0,21 |
| IPI:IPI00747707 | KRT17 Radiated keratinocyte mRNA 266 | 9 | 0,72 | 0,04 |
| IPI:IPI00478539 | LOC645691 similar to heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 | 9 | 0,04 | 0,46 |
| IPI:IPI00215637 | DDX3X ATP-dependent RNA helicase DDX3X | 9 | 0,05 | 0,28 |
| IPI:IPI00152708 | UTP15 U3 small nucleolar RNA-associated protein 15 homolog | 9 | 0,26 | 0,20 |
| IPI:IPI00304596 | NONO Non-POU domain-containing octamer-binding protein | 9 | 0,02 | 0,32 |
| IPI:IPI00027834 | HNRNPL Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L | 9 | 0,18 | 0,32 |
| IPI:IPI00302925 | CCT8 59 kDa protein | 9 | 0,01 | 0,24 |
| IPI:IPI00641112 | CIRH1A 67 kDa protein | 9 | 0,14 | 0,19 |
| IPI:IPI00554788 | KRT18 Keratin type I cytoskeletal 18 | 9 | 0,13 | 0,07 |
| IPI:IPI00339274 | HIST2H2AC Histone H2A type 2-C | 8 | 0,32 | 0,04 |
| IPI:IPI00026272 | HIST1H2AB;HIST1H2AE Histone H2A type 1-B/E | 8 | 0,16 | 0,18 |
| IPI:IPI00219038 | H3F3B;LOC440926;H3F3A Histone H3.3 | 8 | 0,04 | 0,60 |
| IPI:IPI00217466 | HIST1H1D Histone H1.3 | 8 | 0,18 | 0,23 |
| IPI:IPI00008359 | KRT76 Keratin type II cytoskeletal 2 oral | 8 | 0,59 | 0,03 |
| IPI:IPI00645201 | RPS8 Ribosomal protein S8 | 8 | 0,33 | 0,22 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IP100877999 | RPL3 35 kDa protein | 8 | 0,21 | 0,24 |
| IPI:IP100470528 | RPL15 60S ribosomal protein L15 | 8 | 0,23 | 0,27 |
| IPI:IP100182533 | RPL28 60S ribosomal protein L28 | 8 | 0,06 | 0,27 |
| IPI:IP100021840 | RPS6 40S ribosomal protein S6 | 8 | 0,53 | 0,16 |
| IPI:IP100008530 | RPLP0 60S acidic ribosomal protein P0 | 8 | 0,28 | 0,19 |
| IPI:IP100014230 | C1QBP Complement component 1 Q subcomponent-binding protein mitochondrial | 8 | 0,05 | 0,28 |
| IPI:IP100007144 | RPL26L1 60S ribosomal protein L26-like 1 | 8 | 0,55 | 0,23 |
| IPI:IP100013830 | SNW1 SNW domain-containing protein 1 | 8 | 0,13 | 0,12 |
| IPI:IP100419880 | RPS3A 40S ribosomal protein S3a | 8 | 0,11 | 0,22 |
| IPI:IP100644968 | HNRPA1L3 Putative heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like protein 3 | 8 | 0,03 | 0,46 |
| IPI:IP100000494 | RPL5 60S ribosomal protein L5 | 8 | 0,19 | 0,13 |
| IPI:IP100168235 | SNRNP200 Isoform 2 of U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase | 8 | 0,19 | 0,21 |
| IPI:IP100465225 | HNRNPL heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L isoform b | 8 | 0,18 | 0,32 |
| IPI:IP100014253 | RRS1 Ribosome biogenesis regulatory protein homolog | 8 | 0,83 | 0,05 |
| IPI:IP100007765 | HSPA9 Stress-70 protein mitochondrial | 8 | 0,01 | 0,16 |
| IPI:IP100013174 | RBM14;RBM4 Isoform 1 of RNA-binding protein 14 | 8 | 0,02 | 0,16 |
| IPI:IP100745955 | EBNA1BP2 EBNA1 binding protein 2 | 8 | 0,72 | 0,03 |
| IPI:IP100293078 | DDX27 Probable ATP-dependent RNA helicase DDX27 | 8 | 0,51 | 0,23 |
| IPI:IP100398625 | HRNR Hornerin | 8 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100216402 | HIST3H3 Histone H3.1t | 7 | 0,04 | 0,64 |
| IPI:IP100465070 | Histone H3.1 | 7 | 0,04 | 0,64 |
| IPI:IP100016610 | PCBP1 Poly(rC)-binding protein 1 | 7 | 0,01 | 0,25 |
| IPI:IP100787441 | - 7 kDa protein | 7 | 0,62 | 0,06 |
| IPI:IP100241841 | KRT79 Keratin type II cytoskeletal 79 | 7 | 0,61 | 0,03 |
| IPI:IP100306959 | KRT7 Keratin type II cytoskeletal 7 | 7 | 0,59 | 0,04 |
| IPI:IP100425404 | KIF21A Isoform 1 of Kinesin-like protein KIF21A | 7 | 0,01 | 0,88 |
| IPI:IP100003269 | ACTBL2 Beta-actin-like protein 2 | 7 | 0,06 | 0,23 |
| IPI:IP100735540 | LOC440563 LOC440563 protein | 7 | 0,37 | 0,18 |
| IPI:IP100166768 | TUBA1C TUBA1C protein | 7 | 0,02 | 0,47 |
| IPI:IP100878524 | RPL3 Protein | 7 | 0,22 | 0,23 |
| IPI:IP100739539 | POTEF ANKRD26-like family C member 1B | 7 | 0,01 | 0,20 |
| IPI:IP100479743 | POTEE Isoform 1 of ANKRD26-like family C member 1A | 7 | 0,01 | 0,20 |
| IPI:IP100012341 | SFRS5 Isoform SRP40-1 of Splicing factor arginine/serine-rich 5 | 7 | 0,02 | 0,21 |
| IPI:IP100029731 | RPL35A 60S ribosomal protein L35a | 7 | 0,16 | 0,38 |
| IPI:IP100069693 | - Putative uncharacterized protein RPL14L | 7 | 0,26 | 0,28 |
| IPI:IP100554723 | RPL10 60S ribosomal protein L10 | 7 | 0,05 | 0,46 |
| IPI:IP100395998 | RPL32 60S ribosomal protein L32 | 7 | 0,12 | 0,40 |
| IPI:IP100478327 | - Similar to 40S ribosomal protein S9 | 7 | 0,18 | 0,36 |
| IPI:IP100221089 | RPS13 40S ribosomal protein S13 | 7 | 0,41 | 0,04 |
| IPI:IP100301503 | SFRS10 Isoform 1 of Splicing factor arginine/serine-rich 10 | 7 | 0,14 | 0,15 |
| IPI:IP100903046 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000384045 (Fragment) | 7 | 0,23 | 0,23 |
| IPI:IP100886776 | LOC653665 similar to mCG4465 | 7 | 0,18 | 0,22 |
| IPI:IP100798387 | - 48 kDa protein | 7 | 0,72 | 0,04 |
| IPI:IP100023283 | TTN Isoform 2 of Titin | 7 | 0,07 | 0,09 |
| IPI:IP100759754 | TTN Isoform 1 of Titin | 7 | 0,07 | 0,09 |
| IPI:IP100375499 | TTN titin isoform novex-2 | 7 | 0,07 | 0,09 |
| IPI:IP100217030 | RPS4X 40S ribosomal protein S4 X isoform | 7 | 0,16 | 0,32 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|--|---|------|------|
| IPI:IPI00555614 | HSP90AB3P Putative heat shock protein HSP 90-beta-3 | 7 | 0,01 | 0,24 |
| IPI:IPI00413324 | RPL17;LOC100133931 60S ribosomal protein L17 | 7 | 0,12 | 0,22 |
| IPI:IPI00011253 | RPS3 40S ribosomal protein S3 | 7 | 0,06 | 0,39 |
| IPI:IPI00414603 | LOC402057 similar to 40S ribosomal protein S17 | 7 | 0,04 | 0,18 |
| IPI:IPI00456940 | RPL7L1 60S ribosomal protein L7-like 1 | 7 | 0,14 | 0,20 |
| IPI:IPI00219018 | GAPDH Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | 7 | 0,01 | 0,11 |
| IPI:IPI00027230 | HSP90B1 Endoplasmic | 7 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00009032 | SSB Lupus La protein | 7 | 0,11 | 0,30 |
| IPI:IPI00007729 | NOL7 Isoform 1 of Nucleolar protein 7 | 7 | 0,25 | 0,08 |
| IPI:IPI00029628 | RCN2 Reticulocalbin-2 SERBP1 Isoform 1 of Plasminogen activator inhibitor 1 RNA-binding protein | 7 | 0,01 | 0,05 |
| IPI:IPI00410693 | DSP Isoform DPI of Desmoplakin | 7 | 0,21 | 0,21 |
| IPI:IPI00013933 | - Histone H3 | 6 | 0,03 | 0,69 |
| IPI:IPI00455457 | DES Desmin | 6 | 0,09 | 0,41 |
| IPI:IPI00917346 | SFRS7 cDNA FLJ60677 highly similar to Splicing factor arginine/serine-rich 7 | 6 | 0,09 | 0,12 |
| IPI:IPI00013164 | PRPH Isoform 1 of Peripherin | 6 | 0,07 | 0,50 |
| IPI:IPI00465363 | HIST1H2BA Histone H2B type 1-A | 6 | 0,47 | 0,06 |
| IPI:IPI00376379 | KRT77 keratin 77 | 6 | 0,50 | 0,10 |
| IPI:IPI00787323 | hCG_1988300 Similar to Keratin type II cytoskeletal 8 | 6 | 0,28 | 0,15 |
| IPI:IPI00418663 | KRT28 Keratin 25D | 6 | 0,78 | 0,02 |
| IPI:IPI00646909 | TUBA8 Tubulin alpha-8 chain | 6 | 0,01 | 0,40 |
| IPI:IPI00787053 | LOC440587 hypothetical protein | 6 | 0,19 | 0,21 |
| IPI:IPI00219155 | RPL27 60S ribosomal protein L27 - cDNA FLJ50118 highly similar to Splicing factor arginine/serine-rich 4 | 6 | 0,15 | 0,40 |
| IPI:IPI00908618 | TUBB6 TUBB6 protein | 6 | 0,03 | 0,17 |
| IPI:IPI00646779 | RP11-631M21.2 Tubulin beta-8 chain | 6 | 0,02 | 0,31 |
| IPI:IPI00017870 | - Keratin-8-like protein 1 | 6 | 0,44 | 0,03 |
| IPI:IPI00041625 | LOC130773 similar to ribosomal protein L23a | 6 | 0,32 | 0,12 |
| IPI:IPI00018146 | YWHAQ 14-3-3 protein theta | 6 | 0,01 | 0,30 |
| IPI:IPI00478469 | LOC644511 similar to 23 kD highly basic protein isoform 1 ZRANB2 Isoform 2 of Zinc finger Ran-binding domain-containing protein 2 | 6 | 0,40 | 0,17 |
| IPI:IPI00219866 | LOC284393 similar to QM protein isoform 1 | 6 | 0,00 | 0,13 |
| IPI:IPI00374260 | RPL24 60S ribosomal protein L24 | 6 | 0,05 | 0,48 |
| IPI:IPI00306332 | RPL24 19 kDa protein | 6 | 0,12 | 0,21 |
| IPI:IPI00793696 | RPL10A 60S ribosomal protein L10a | 6 | 0,12 | 0,21 |
| IPI:IPI00412579 | RALY RNA binding protein autoantigenic | 6 | 0,40 | 0,09 |
| IPI:IPI00640938 | RPL27A 60S ribosomal protein L27a | 6 | 0,17 | 0,00 |
| IPI:IPI00456758 | EIF4A2 Isoform 1 of Eukaryotic initiation factor 4A-II | 6 | 0,07 | 0,27 |
| IPI:IPI00328328 | RPS11 40S ribosomal protein S11 | 6 | 0,01 | 0,25 |
| IPI:IPI00025091 | KRT13 31 kDa protein | 6 | 0,02 | 0,43 |
| IPI:IPI00791156 | HNRNPD Isoform 3 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0 | 6 | 0,75 | 0,01 |
| IPI:IPI00220684 | PCBP2 Poly(rC)-binding protein 2 | 6 | 0,24 | 0,21 |
| IPI:IPI00216689 | hCG_22804 hypothetical protein LOC645441 | 6 | 0,04 | 0,24 |
| IPI:IPI00514874 | - 32 kDa protein | 6 | 0,12 | 0,22 |
| IPI:IPI00176692 | RPL17;LOC100132742 Putative uncharacterized protein RPL17 | 6 | 0,03 | 0,48 |
| IPI:IPI00644171 | DDX17 DEAD box polypeptide 17 isoform 1 | 6 | 0,11 | 0,19 |
| IPI:IPI00023785 | DDX17 Isoform 3 of Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17 | 6 | 0,04 | 0,33 |
| IPI:IPI00651653 | | 6 | 0,04 | 0,33 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IP100651677 | DDX17 Isoform 2 of Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17 | 6 | 0,04 | 0,33 |
| IPI:IP100013296 | RPS18;LOC100130553 40S ribosomal protein S18 | 6 | 0,12 | 0,32 |
| IPI:IP100024933 | RPL12 Isoform 1 of 60S ribosomal protein L12 | 6 | 0,72 | 0,03 |
| IPI:IP100219217 | LDHB L-lactate dehydrogenase B chain | 6 | 0,01 | 0,11 |
| IPI:IP100301154 | PABPC3 Polyadenylate-binding protein 3 | 6 | 0,44 | 0,06 |
| IPI:IP100479058 | RPS15 40S ribosomal protein S15 | 6 | 0,11 | 0,30 |
| IPI:IP100784560 | SRRM2 Isoform 3 of Serine/arginine repetitive matrix protein 2 | 6 | 0,01 | 0,15 |
| IPI:IP100013415 | RPS7 40S ribosomal protein S7 | 6 | 0,05 | 0,25 |
| IPI:IP100411704 | EIF5A Isoform 1 of Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 | 6 | 0,02 | 0,03 |
| IPI:IP100022977 | CKB Creatine kinase B-type | 6 | 0,03 | 0,21 |
| IPI:IP100910241 | - cDNA FLJ56081 highly similar to Lamin-A/C | 6 | 0,20 | 0,11 |
| IPI:IP100216953 | LMNA Isoform ADelta10 of Lamin-A/C | 6 | 0,20 | 0,11 |
| IPI:IP100010740 | SFPQ Isoform Long of Splicing factor proline- and glutamine-rich | 6 | 0,09 | 0,16 |
| IPI:IP100181728 | BXDC2 Brix domain-containing protein 2 | 6 | 0,45 | 0,12 |
| IPI:IP100179964 | PTBP1 Isoform 1 of Polypyrimidine tract-binding protein 1 | 6 | 0,03 | 0,32 |
| IPI:IP100010720 | CCT5 T-complex protein 1 subunit epsilon | 6 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IP100006197 | NVL Isoform 1 of Nuclear valosin-containing protein-like | 6 | 0,06 | 0,06 |
| IPI:IP100291916 | PHIP PH-interacting protein | 6 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100477080 | - cDNA FLJ57905 moderately similar to Histone H3.3 | 5 | 0,05 | 0,61 |
| IPI:IP100219037 | H2AFX Histone H2A.x | 5 | 0,31 | 0,02 |
| IPI:IP100216730 | HIST2H2AB Histone H2A type 2-B | 5 | 0,07 | 0,40 |
| IPI:IP100300052 | KRT84 Keratin type II cuticular Hb4 | 5 | 0,58 | 0,02 |
| IPI:IP100022434 | ALB Putative uncharacterized protein ALB LOC652665 similar to heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C-like | 5 | 0,26 | 0,00 |
| IPI:IP100887544 | 1 partial | 5 | 0,06 | 0,46 |
| IPI:IP100027569 | HNRNPCL1 Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C-like 1 | 5 | 0,06 | 0,46 |
| IPI:IP100215719 | RPL18 60S ribosomal protein L18 | 5 | 0,28 | 0,26 |
| IPI:IP100455599 | HSP90AB2P Similar to Heat shock protein HSP 90-beta | 5 | 0,00 | 0,31 |
| IPI:IP100219160 | RPL34 60S ribosomal protein L34 | 5 | 0,21 | 0,22 |
| IPI:IP100643158 | TUBB6 43 kDa protein | 5 | 0,02 | 0,29 |
| IPI:IP100398915 | LOC387753 similar to ribosomal protein L21 isoform 1 | 5 | 0,09 | 0,33 |
| IPI:IP100789282 | RPL6 8 kDa protein | 5 | 0,17 | 0,22 |
| IPI:IP100175212 | LOC653314 similar to ribosomal protein L19 | 5 | 0,26 | 0,20 |
| IPI:IP100784202 | YBX1P2 Similar to YB-1 protein | 5 | 0,19 | 0,20 |
| IPI:IP100845348 | ZRANB2 Putative uncharacterized protein DKFZp686N09117 | 5 | 0,00 | 0,13 |
| IPI:IP100008529 | RPLP2 60S acidic ribosomal protein P2 | 5 | 0,15 | 0,15 |
| IPI:IP100221354 | FUS Isoform Short of RNA-binding protein FUS | 5 | 0,07 | 0,25 |
| IPI:IP100848328 | - Similar to Delta(3 5)-Delta(2 4)-dienoyl-CoA isomerase mitochondrial precursor | 5 | 0,16 | 0,30 |
| IPI:IP100647337 | RPL24 60S ribosomal protein (Fragment) | 5 | 0,10 | 0,25 |
| IPI:IP100216237 | RPL36 60S ribosomal protein L36 | 5 | 0,28 | 0,22 |
| IPI:IP100887664 | LOC440575 hypothetical LOC440575 | 5 | 0,11 | 0,56 |
| IPI:IP100011698 | SAP18 Sin3A-associated protein 18kDa | 5 | 0,02 | 0,11 |
| IPI:IP100398135 | hCG_21078 hypothetical protein LOC389435 | 5 | 0,07 | 0,27 |
| IPI:IP100877807 | - 21 kDa protein | 5 | 0,17 | 0,14 |
| IPI:IP100742926 | HNRNPAB Putative uncharacterized protein HNRNPAB | 5 | 0,12 | 0,17 |
| IPI:IP100010204 | SFRS3 Splicing factor arginine/serine-rich 3 | 5 | 0,22 | 0,05 |
| IPI:IP100412307 | TTN Putative uncharacterized protein TTN | 5 | 0,09 | 0,23 |
| IPI:IP100013485 | RPS2 40S ribosomal protein S2 | 5 | 0,01 | 0,01 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|--|---|------|------|
| IPI:IPI00555747 | PABPC4 Isoform 2 of Polyadenylate-binding protein 4 | 5 | 0,09 | 0,39 |
| IPI:IPI00419373 | HNRNPA3 Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 | 5 | 0,06 | 0,12 |
| IPI:IPI00017617 | DDX5 Probable ATP-dependent RNA helicase DDX5 | 5 | 0,07 | 0,40 |
| IPI:IPI00293616 | DDX3Y;LOC100130220 ATP-dependent RNA helicase DDX3Y | 5 | 0,05 | 0,38 |
| IPI:IPI00740474 | LOC642451 similar to ribosomal protein L7-like 1 | 5 | 0,17 | 0,18 |
| IPI:IPI00216691 | PFN1 Profilin-1 | 5 | 0,01 | 0,30 |
| IPI:IPI00010105 | EIF6 Eukaryotic translation initiation factor 6 | 5 | 0,28 | 0,18 |
| IPI:IPI00792352 | RAN 26 kDa protein | 5 | 0,01 | 0,12 |
| IPI:IPI00154590 | MKI67IP MKI67 FHA domain-interacting nucleolar phosphoprotein | 5 | 0,03 | 0,22 |
| IPI:IPI00072377 | SET Isoform 1 of Protein SET | 5 | 0,01 | 0,13 |
| IPI:IPI00741405 | LOC391282 similar to ribosomal protein L23a | 5 | 0,11 | 0,44 |
| IPI:IPI00794731 | KRT13 15 kDa protein | 5 | 0,95 | 0,01 |
| IPI:IPI00303813 | NOL11 Nucleolar protein 11 | 5 | 0,22 | 0,10 |
| IPI:IPI00013877 | HNRNPH3 Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H3 | 5 | 0,04 | 0,13 |
| IPI:IPI00879274 | PES1 Protein | 5 | 0,12 | 0,05 |
| IPI:IPI00645010 | NONO 30 kDa protein | 5 | 0,02 | 0,43 |
| IPI:IPI00014266 | BRD3 Isoform 1 of Bromodomain-containing protein 3 | 5 | 0,02 | 0,07 |
| IPI:IPI00641829 | BAT1 Isoform 2 of Spliceosome RNA helicase BAT1 | 5 | 0,02 | 0,18 |
| IPI:IPI00880053 | - 49 kDa protein | 5 | 0,01 | 0,15 |
| IPI:IPI00009071 | FUSIP1;LOC642558 Isoform 3 of FUS-interacting serine-arginine-rich protein 1 | 5 | 0,22 | 0,19 |
| IPI:IPI00004968 | PRPF19 Pre-mRNA-processing factor 19 | 5 | 0,07 | 0,35 |
| IPI:IPI00216613 | SFPQ Isoform Short of Splicing factor proline- and glutamine-rich | 5 | 0,09 | 0,16 |
| IPI:IPI00440493 | ATP5A1 ATP synthase subunit alpha mitochondrial | 5 | 0,03 | 0,13 |
| IPI:IPI00303476 | ATP5B ATP synthase subunit beta mitochondrial | 5 | 0,04 | 0,20 |
| IPI:IPI00177381 | CWC22 Nucleopholin homolog | 5 | 0,06 | 0,06 |
| IPI:IPI00441344 | GLB1 Isoform 1 of Beta-galactosidase | 5 | 0,07 | 0,05 |
| IPI:IPI00005198 | ILF2 Interleukin enhancer-binding factor 2 | 5 | 0,03 | 0,11 |
| IPI:IPI00297779 | CCT2 T-complex protein 1 subunit beta | 5 | 0,04 | 0,11 |
| IPI:IPI00011913 | HNRNPA0 Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A0 | 5 | 0,04 | 0,10 |
| IPI:IPI00291006 | MDH2 Malate dehydrogenase mitochondrial | 5 | 0,03 | 0,05 |
| IPI:IPI00006379 | NOP5/NOP58 Nucleolar protein 5 | 5 | 0,06 | 0,14 |
| IPI:IPI00916818 | - cDNA FLJ53125 highly similar to Phosphoglycerate kinase 1 | 5 | 0,06 | 0,13 |
| IPI:IPI00644848 | NONO Protein | 5 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00015953 | DDX21 Isoform 1 of Nucleolar RNA helicase 2 | 5 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00025753 | DSG1 Desmoglein-1 | 5 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00373877 | ZNF326 Isoform 1 of Zinc finger protein 326 | 5 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00396329 | BXDC1 Brix domain-containing protein 1 | 5 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00454695 | HIST2H2BC Putative histone H2B type 2-C | 4 | 0,08 | 0,15 |
| IPI:IPI00868816 | LOC645688 Pseudogene candidate | 4 | 0,18 | 0,43 |
| IPI:IPI00217469 | HIST1H1A Histone H1.1 | 4 | 0,21 | 0,21 |
| IPI:IPI00879936 | - 29 kDa protein | 4 | 0,45 | 0,03 |
| IPI:IPI00166205 | KRT78 Isoform 2 of Keratin type II cytoskeletal 78 | 4 | 0,51 | 0,00 |
| IPI:IPI00328103 | KRT27 Keratin type I cytoskeletal 27 | 4 | 0,84 | 0,01 |
| IPI:IPI00294749 | KIF27 Isoform 1 of Kinesin-like protein KIF27 | 4 | 0,00 | 0,93 |
| IPI:IPI00014424 | EEF1A2 Elongation factor 1-alpha 2 | 4 | 0,01 | 0,32 |
| IPI:IPI00006510 | TUBB1 Tubulin beta-1 chain | 4 | 0,01 | 0,34 |
| IPI:IPI00879165 | - Protein | 4 | 0,09 | 0,32 |
| IPI:IPI00398982 | LOC647000 similar to tubulin beta 5 | 4 | 0,01 | 0,40 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI00329306 | KRT74 Keratin type II cytoskeletal 74 | 4 | 0,64 | 0,04 |
| IPI:IPI00174775 | KRT73 Isoform 1 of Keratin type II cytoskeletal 73 | 4 | 0,64 | 0,04 |
| IPI:IPI00103481 | KRT72 Isoform 1 of Keratin type II cytoskeletal 72 | 4 | 0,64 | 0,04 |
| IPI:IPI00216319 | YWHAH 14-3-3 protein eta | 4 | 0,00 | 0,34 |
| IPI:IPI00220642 | YWHAG 14-3-3 protein gamma | 4 | 0,00 | 0,30 |
| IPI:IPI00250153 | YBX2 Y-box-binding protein 2 | 4 | 0,17 | 0,24 |
| IPI:IPI00477842 | SFRS2B Isoform 1 of Splicing factor arginine/serine-rich 2B | 4 | 0,01 | 0,17 |
| IPI:IPI00005978 | SFRS2 Splicing factor arginine/serine-rich 2 | 4 | 0,00 | 0,20 |
| IPI:IPI00020194 | TAF15 Isoform Short of TATA-binding protein-associated factor 2N | 4 | 0,03 | 0,40 |
| IPI:IPI00412607 | RPL35 60S ribosomal protein L35 | 4 | 0,22 | 0,29 |
| IPI:IPI00027547 | DCD Dermcidin | 4 | 0,46 | 0,15 |
| IPI:IPI00221091 | RPS15A 40S ribosomal protein S15a | 4 | 0,34 | 0,25 |
| IPI:IPI00477279 | LOC646875 similar to ribosomal protein L12 | 4 | 0,45 | 0,24 |
| IPI:IPI00029631 | ERH Enhancer of rudimentary homolog | 4 | 0,01 | 0,12 |
| IPI:IPI00748962 | LOC727826 hypothetical protein | 4 | 0,26 | 0,02 |
| IPI:IPI00045914 | SPEN Msx2-interacting protein | 4 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00915340 | HNRNPD 31 kDa protein | 4 | 0,24 | 0,21 |
| IPI:IPI00645947 | RTTN Isoform 1 of Rotatin | 4 | 0,36 | 0,25 |
| IPI:IPI00025087 | TP53 Isoform 1 of Cellular tumor antigen p53 | 4 | 0,05 | 0,24 |
| IPI:IPI00221092 | RPS16 40S ribosomal protein S16 | 4 | 0,11 | 0,31 |
| IPI:IPI00219153 | RPL22 60S ribosomal protein L22 | 4 | 0,05 | 0,09 |
| IPI:IPI00219156 | RPL30 60S ribosomal protein L30 | 4 | 0,32 | 0,23 |
| IPI:IPI00297579 | CBX3;LOC653972 Chromobox protein homolog 3 | 4 | 0,24 | 0,21 |
| IPI:IPI00010320 | CBX1 Chromobox protein homolog 1 | 4 | 0,06 | 0,03 |
| IPI:IPI00655650 | RPS26;LOC728937 40S ribosomal protein S26 | 4 | 0,25 | 0,21 |
| IPI:IPI00026271 | RPS14 40S ribosomal protein S14 | 4 | 0,10 | 0,22 |
| IPI:IPI00218606 | RPS23 40S ribosomal protein S23 | 4 | 0,21 | 0,20 |
| IPI:IPI00220624 | AKAP9 A-kinase anchor protein 9 | 4 | 0,06 | 0,85 |
| IPI:IPI00440502 | BRD2 Isoform 2 of Bromodomain-containing protein 2 | 4 | 0,01 | 0,28 |
| IPI:IPI00797929 | BRD2 Bromodomain containing 2 | 4 | 0,01 | 0,28 |
| IPI:IPI00787625 | LOC389101 similar to ribosomal protein L23a | 4 | 0,11 | 0,44 |
| IPI:IPI00902909 | - Nucleosome assembly protein 1-like 1 isoform CRA_c | 4 | 0,10 | 0,21 |
| IPI:IPI00023860 | NAP1L1 Nucleosome assembly protein 1-like 1 | 4 | 0,10 | 0,21 |
| IPI:IPI00029750 | RPS24 Isoform 1 of 40S ribosomal protein S24 | 4 | 0,22 | 0,25 |
| IPI:IPI00007188 | SLC25A5 ADP/ATP translocase 2 | 4 | 0,01 | 0,42 |
| IPI:IPI00644431 | DDX39 cDNA FLJ55484 highly similar to ATP-dependent RNA helicase DDX39 | 4 | 0,02 | 0,18 |
| IPI:IPI00304232 | WDR12 WD repeat-containing protein 12 | 4 | 0,08 | 0,11 |
| IPI:IPI00012074 | HNRNPR Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R | 4 | 0,08 | 0,26 |
| IPI:IPI00888294 | LOC100130562 hypothetical protein isoform 2 | 4 | 0,10 | 0,40 |
| IPI:IPI00556514 | RBM14 RNA binding motif protein 14 variant (Fragment) | 4 | 0,02 | 0,22 |
| IPI:IPI00328929 | ZC3H18 Isoform 1 of Zinc finger CCCH domain-containing protein 18 - cDNA FLJ60526 highly similar to Probable rRNA-processing protein | 4 | 0,02 | 0,16 |
| IPI:IPI00910851 | EBP2 | 4 | 0,73 | 0,03 |
| IPI:IPI00419585 | PPIA Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A | 4 | 0,02 | 0,08 |
| IPI:IPI00219330 | ILF3 Isoform 5 of Interleukin enhancer-binding factor 3 | 4 | 0,02 | 0,36 |
| IPI:IPI00297851 | CHD1 chromodomain helicase DNA binding protein 1 | 4 | 0,05 | 0,05 |
| IPI:IPI00013107 | SFRS16 splicing factor arginine/serine-rich 16 | 4 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00789155 | CALU Calumenin isoform CRA_c | 4 | 0,07 | 0,07 |
| IPI:IPI00909158 | - cDNA FLJ53770 highly similar to Phosphoglycerate kinase 1 | 4 | 0,00 | 0,00 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI00797206 | CCT8 Protein | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00021924 | H1FX Histone H1x | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00465294 | CDC5L Cell division cycle 5-like protein | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00018465 | CCT7 T-complex protein 1 subunit eta | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00296337 | PRKDC Isoform 1 of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00478298 | BXDC1 Brix domain containing 1 | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00411690 | LARP1 Isoform 3 of La-related protein 1 | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00021187 | RUVBL1 Isoform 1 of RuvB-like 1 | 4 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00018278 | H2AFV Histone H2A.V | 3 | 0,32 | 0,01 |
| IPI:IPI00419983 | HIST1H1T Histone H1t | 3 | 0,23 | 0,20 |
| IPI:IPI00887509 | LOC100134794 similar to keratin 8 | 3 | 0,52 | 0,02 |
| IPI:IPI00300053 | KRT82 Keratin type II cuticular Hb2 | 3 | 0,52 | 0,02 |
| IPI:IPI00182655 | KRT86 Keratin type II cuticular Hb6 | 3 | 0,51 | 0,00 |
| IPI:IPI00375911 | KRT25 Keratin type I cytoskeletal 25 | 3 | 0,87 | 0,01 |
| IPI:IPI00604504 | - Putative uncharacterized protein | 3 | 0,08 | 0,20 |
| IPI:IPI00397713 | LOC388532 hypothetical protein | 3 | 0,09 | 0,62 |
| IPI:IPI00061200 | KRT71 Keratin type II cytoskeletal 71 | 3 | 0,62 | 0,04 |
| IPI:IPI00290078 | KRT4 keratin 4 | 3 | 0,59 | 0,02 |
| IPI:IPI00807522 | FSD1L ACTB protein (Fragment) LOC100130211 similar to translation elongation factor 1 alpha 1-like | 3 | 0,00 | 0,25 |
| IPI:IPI00872032 | 14 | 3 | 0,00 | 0,28 |
| IPI:IPI00740516 | LOC644937 similar to ribosomal protein L10 | 3 | 0,11 | 0,25 |
| IPI:IPI00011694 | PRSS1 Trypsin-1 | 3 | 0,27 | 0,00 |
| IPI:IPI00888774 | LOC100129243 similar to hCG1994130 | 3 | 0,33 | 0,23 |
| IPI:IPI00009866 | KRT13 Isoform 1 of Keratin type I cytoskeletal 13 | 3 | 0,71 | 0,10 |
| IPI:IPI00872901 | - 18 kDa protein | 3 | 0,04 | 0,26 |
| IPI:IPI00844513 | - Similar to Chain Heat-Shock Cognate 70kd Protein EIF4A2 cDNA FLJ58834 highly similar to Eukaryotic initiation factor | 3 | 0,17 | 0,21 |
| IPI:IPI00794607 | 4A-II | 3 | 0,01 | 0,30 |
| IPI:IPI00026087 | BANF1 Barrier-to-autointegration factor | 3 | 0,48 | 0,16 |
| IPI:IPI00789324 | JUP cDNA FLJ60424 highly similar to Junction plakoglobin | 3 | 0,72 | 0,00 |
| IPI:IPI00026302 | RPL31 60S ribosomal protein L31 | 3 | 0,26 | 0,21 |
| IPI:IPI00011274 | HNRPDL Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like | 3 | 0,17 | 0,11 |
| IPI:IPI00794659 | RPS20 cDNA FLJ58953 highly similar to 40S ribosomal protein S20 | 3 | 0,05 | 0,16 |
| IPI:IPI00376798 | RPL11 Isoform 1 of 60S ribosomal protein L11 | 3 | 0,16 | 0,23 |
| IPI:IPI00886844 | LOC389342 similar to QM protein isoform 2 | 3 | 0,51 | 0,01 |
| IPI:IPI00479366 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000351543 (Fragment) | 3 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00738640 | LOC439992 similar to v-fos transformation effector protein isoform 2 | 3 | 0,05 | 0,27 |
| IPI:IPI00470658 | HNRNPA3P1 FBRNP | 3 | 0,04 | 0,15 |
| IPI:IPI00874214 | - 11 kDa protein | 3 | 0,12 | 0,15 |
| IPI:IPI00790711 | LOC388339 17 kDa protein | 3 | 0,01 | 0,44 |
| IPI:IPI00869068 | LOC440396 Similar to Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 | 3 | 0,03 | 0,52 |
| IPI:IPI00187140 | RPS26L1 Putative 40S ribosomal protein S26-like 1 | 3 | 0,19 | 0,20 |
| IPI:IPI00012011 | CFL1 Cofilin-1 | 3 | 0,01 | 0,07 |
| IPI:IPI00216494 | HNRNPH3 Isoform 4 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H3 | 3 | 0,04 | 0,16 |
| IPI:IPI00886833 | LOC100129958 similar to hCG1643231 | 3 | 0,28 | 0,04 |
| IPI:IPI00455479 | LOC440733 similar to insulinoma protein | 3 | 0,06 | 0,32 |
| IPI:IPI00006935 | EIF5A2 Eukaryotic translation initiation factor 5A-2 | 3 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00022891 | SLC25A4 ADP/ATP translocase 1 | 3 | 0,01 | 0,42 |
| IPI:IPI00217966 | LDHA Isoform 1 of L-lactate dehydrogenase A chain | 3 | 0,01 | 0,21 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IP100036267 | hCG_1641703 Putative uncharacterized protein ENSP00000383883 | 3 | 0,93 | 0,02 |
| IPI:IP100478002 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000353405 | 3 | 0,10 | 0,40 |
| IPI:IP100658000 | IGF2BP3 Isoform 1 of Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3 | 3 | 0,07 | 0,06 |
| IPI:IP100413108 | RPSA 33 kDa protein | 3 | 0,01 | 0,17 |
| IPI:IP100434968 | SUMO4 Small ubiquitin-related modifier 4 | 3 | 0,63 | 0,01 |
| IPI:IP100794807 | KRT18 15 kDa protein | 3 | 0,15 | 0,12 |
| IPI:IP100008437 | C15orf15 Probable ribosome biogenesis protein RLP24 | 3 | 0,26 | 0,13 |
| IPI:IP100479694 | hCG_2033311 hypothetical protein LOC644928 - cDNA FLJ53060 moderately similar to Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A | 3 | 0,10 | 0,20 |
| IPI:IP100910407 | isomerase A | 3 | 0,02 | 0,16 |
| IPI:IP100414127 | RANBP1 Ran-specific GTPase-activating protein | 3 | 0,01 | 0,14 |
| IPI:IP100295022 | NKTR NK-tumor recognition protein | 3 | 0,88 | 0,03 |
| IPI:IP100022774 | VCP Transitional endoplasmic reticulum ATPase | 3 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IP100302927 | CCT4 T-complex protein 1 subunit delta | 3 | 0,02 | 0,36 |
| IPI:IP100179330 | UBB;RPS27A;UBC ubiquitin and ribosomal protein S27a precursor | 3 | 0,03 | 0,21 |
| IPI:IP100299000 | PA2G4 Proliferation-associated protein 2G4 | 3 | 0,04 | 0,04 |
| IPI:IP100303832 | RTF1 Paf1/RNA polymerase II complex component | 3 | 0,03 | 0,17 |
| IPI:IP100879277 | TRRAP Putative uncharacterized protein TRRAP | 3 | 0,03 | 0,37 |
| IPI:IP100069084 | TRRAP Isoform 1 of Transformation/transcription domain-associated protein | 3 | 0,03 | 0,37 |
| IPI:IP100402182 | SYNCRIP Isoform 2 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q | 3 | 0,04 | 0,15 |
| IPI:IP100796038 | ARL6IP4;OGFOD2 SRp25 nuclear protein isoform 1 | 3 | 0,08 | 0,08 |
| IPI:IP100297211 | SMARCA5 SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A member 5 | 3 | 0,06 | 0,31 |
| IPI:IP100418169 | ANXA2 annexin A2 isoform 1 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100440727 | BRD4 Isoform 1 of Bromodomain-containing protein 4 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100163085 | AMOT Isoform 1 of Angiomotin | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100178667 | TOP2A DNA topoisomerase 2 (Fragment) | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100218753 | TOP2A Isoform 3 of DNA topoisomerase 2-alpha | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100019038 | LYZ Lysozyme C | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100909949 | - cDNA FLJ53926 highly similar to Beta-enolase | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100000875 | EEF1G cDNA FLJ56389 highly similar to Elongation factor 1-gamma | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100791920 | RPL23 13 kDa protein | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100010153 | RPL23 60S ribosomal protein L23 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100398673 | LOC388885 similar to ribosomal protein S10 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100008438 | RPS10 40S ribosomal protein S10 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100550239 | H1F0 Histone H1.0 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100106491 | MRTO4 mRNA turnover protein 4 homolog | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100020487 | LACRT Extracellular glycoprotein lacritin | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100011200 | PHGDH D-3-phosphoglycerate dehydrogenase | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100784758 | LOC100126583 Putative uncharacterized protein DKFZp686M08189 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100423460 | IGHA1;IGHV3OR16-13 Putative uncharacterized protein DKFZp686G21220 (Fragment) | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100383164 | IGHA1;IGHV3OR16-13 SNC66 protein | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100784830 | LOC100126583 cDNA FLJ41981 fis clone SMINT2011888 highly similar to Protein Tro alpha 1 H myeloma | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100426060 | IGHA1;IGHV3OR16-13 Putative uncharacterized protein DKFZp686J11235 (Fragment) | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IP100025849 | ANP32A Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member A | 3 | 0,00 | 0,00 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI00917228 | PTMA Protein | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00412977 | - Prothymosin alpha | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00384653 | - Prothymosin a14 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00302592 | FLNA Isoform 2 of Filamin-A | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00024662 | CBX5 Chromobox protein homolog 5 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00552072 | CCT7 chaperonin containing TCP1 subunit 7 isoform b | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00086909 | LOC440917 Similar to 14-3-3 protein epsilon | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00788942 | RUVBL1 Isoform 2 of RuvB-like 1 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00025815 | TARDBP TDP43 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00219420 | SMC3 Structural maintenance of chromosomes protein 3 | 3 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00168822 | PR47 Platelet receptor for type III collagen (Fragment) | 2 | 0,03 | 0,57 |
| IPI:IPI00910934 | - cDNA FLJ57390 | 2 | 0,04 | 0,67 |
| IPI:IPI00235724 | LOC340096 similar to hCG1642908 | 2 | 0,04 | 0,60 |
| IPI:IPI00249267 | - 13 kDa protein | 2 | 0,25 | 0,08 |
| IPI:IPI00873694 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000383857 (Fragment) | 2 | 0,36 | 0,30 |
| IPI:IPI00643950 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000356180 | 2 | 0,03 | 0,01 |
| IPI:IPI00021751 | NEFH Neurofilament heavy polypeptide | 2 | 0,09 | 0,37 |
| IPI:IPI00032541 | KRT85 Keratin type II cuticular Hb5 | 2 | 0,51 | 0,00 |
| IPI:IPI00443478 | GFAP Isoform 3 of Glial fibrillary acidic protein | 2 | 0,46 | 0,16 |
| IPI:IPI00217437 | TTBK2 Tau-tubulin kinase | 2 | 0,28 | 0,12 |
| IPI:IPI00375910 | KRT26 Keratin type I cytoskeletal 26 | 2 | 0,74 | 0,04 |
| IPI:IPI00394856 | KIF7 Kinesin-like protein KIF7 | 2 | 0,01 | 0,64 |
| IPI:IPI00646377 | EIF4G3 Isoform 1 of Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 3 | 2 | 0,24 | 0,55 |
| IPI:IPI00376039 | LOC388076 Putative uncharacterized protein ENSP00000385291 | 2 | 0,38 | 0,14 |
| IPI:IPI00418774 | CCDC73 Isoform 1 of Coiled-coil domain-containing protein 73 | 2 | 0,00 | 0,48 |
| IPI:IPI00514587 | SARS Seryl-tRNA synthetase | 2 | 0,41 | 0,00 |
| IPI:IPI00173589 | LOC284064 similar to ribosomal protein L29 | 2 | 0,41 | 0,16 |
| IPI:IPI00796934 | RPL29;RPL29P4 cDNA FLJ78093 highly similar to Homo sapiens ribosomal protein L29 (RPL29) mRNA | 2 | 0,41 | 0,16 |
| IPI:IPI00878506 | - 14 kDa protein | 2 | 0,11 | 0,27 |
| IPI:IPI00159652 | FRYL Isoform 2 of Protein furry homolog-like | 2 | 0,10 | 0,29 |
| IPI:IPI00030275 | TRAP1 Heat shock protein 75 kDa mitochondrial | 2 | 0,04 | 0,12 |
| IPI:IPI00399121 | LOC389765 similar to KIF27C | 2 | 0,00 | 0,94 |
| IPI:IPI00446017 | LOC649946 LOC649946 protein | 2 | 0,26 | 0,18 |
| IPI:IPI00431441 | EEF1A1 EEF1A1 protein | 2 | 0,00 | 0,21 |
| IPI:IPI00878895 | - 16 kDa protein | 2 | 0,08 | 0,34 |
| IPI:IPI00741711 | LOC645422 similar to ribosomal protein L10 | 2 | 0,04 | 0,18 |
| IPI:IPI00794205 | - 26 kDa protein | 2 | 0,06 | 0,42 |
| IPI:IPI00793330 | UBB;RPS27A;UBC 12 kDa protein | 2 | 0,06 | 0,42 |
| IPI:IPI00418813 | - Similar to Ribosomal protein S27a | 2 | 0,06 | 0,42 |
| IPI:IPI00796392 | RASAL1 cDNA FLJ61229 highly similar to RasGAP-activating-like protein 1 | 2 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00479871 | RNPS1 Isoform 2 of RNA-binding protein with serine-rich domain 1 | 2 | 0,01 | 0,28 |
| IPI:IPI00550363 | TAGLN2 Transgelin-2 | 2 | 0,17 | 0,02 |
| IPI:IPI00305152 | SEC31A Isoform 3 of Protein transport protein Sec31A | 2 | 0,10 | 0,27 |
| IPI:IPI00853290 | SEC31A Isoform 5 of Protein transport protein Sec31A | 2 | 0,10 | 0,27 |
| IPI:IPI00017454 | TUBA4B Putative tubulin-like protein alpha-4B | 2 | 0,00 | 0,40 |
| IPI:IPI00555915 | HSP90AB6P Heat shock protein 90Bf | 2 | 0,00 | 0,23 |
| IPI:IPI00008527 | RPLP1 60S acidic ribosomal protein P1 | 2 | 0,18 | 0,16 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|--|---|------|------|
| IPI:IPI00397098 | FAU 40S ribosomal protein S30 | 2 | 0,20 | 0,20 |
| IPI:IPI00555957 | HSP90AA4P Putative heat shock protein HSP 90-alpha A4 | 2 | 0,00 | 0,17 |
| IPI:IPI00410714 | HBA1;HBA2 Hemoglobin subunit alpha | 2 | 0,00 | 0,19 |
| IPI:IPI00023162 | GNE Bifunctional UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase | 2 | 0,01 | 0,48 |
| IPI:IPI00168678 | DUSP18 Dual specificity protein phosphatase 18 | 2 | 0,00 | 0,55 |
| IPI:IPI00867553 | CCDC40 Isoform 2 of Coiled-coil domain-containing protein 40 | 2 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IPI00288939 | CCDC40 Isoform 3 of Coiled-coil domain-containing protein 40 | 2 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IPI00152380 | MYO15A Myosin-XV | 2 | 0,34 | 0,11 |
| IPI:IPI00186338 | LOC645870 similar to barrier-to-autointegration factor | 2 | 0,48 | 0,16 |
| IPI:IPI00290077 | KRT15 Keratin type I cytoskeletal 15 | 2 | 0,72 | 0,00 |
| IPI:IPI00479145 | KRT19 Keratin type I cytoskeletal 19 | 2 | 0,72 | 0,00 |
| IPI:IPI00793922 | GAPDH 9 kDa protein | 2 | 0,03 | 0,09 |
| IPI:IPI00916572 | RPL31 Protein - cDNA FLJ57766 moderately similar to Eukaryotic initiation factor | 2 | 0,19 | 0,26 |
| IPI:IPI00910691 | 4A-I | 2 | 0,00 | 0,24 |
| IPI:IPI00017963 | SNRPD2 Small nuclear ribonucleoprotein Sm D2 | 2 | 0,17 | 0,14 |
| IPI:IPI00430808 | IGKC Immunoglobulin light chain (Fragment) | 2 | 0,13 | 0,49 |
| IPI:IPI00478600 | IGKV1-5 IGKV1-5 protein | 2 | 0,13 | 0,49 |
| IPI:IPI00784985 | IGK@ IGK@ protein | 2 | 0,13 | 0,49 |
| IPI:IPI00889156 | IGKV3-20 IGK@ protein | 2 | 0,13 | 0,49 |
| IPI:IPI00555565 | HSP90AB4P Putative heat shock protein HSP 90-beta 4 | 2 | 0,02 | 0,30 |
| IPI:IPI00793322 | DUT 24 kDa protein | 2 | 0,01 | 0,97 |
| IPI:IPI00181352 | DNM2 dynamin 2 isoform 4 | 2 | 0,23 | 0,28 |
| IPI:IPI00641436 | DNM3 Isoform 3 of Dynamin-3 | 2 | 0,23 | 0,28 |
| IPI:IPI00902894 | TP53 Cellular tumor antigen p53 (Fragment) | 2 | 0,01 | 0,38 |
| IPI:IPI00874178 | - Ribosomal protein L15 | 2 | 0,29 | 0,14 |
| IPI:IPI00888172 | LOC391825 similar to hCG1643032 | 2 | 0,32 | 0,13 |
| IPI:IPI00457291 | LOC441876 similar to Rps16 protein | 2 | 0,11 | 0,32 |
| IPI:IPI00291930 | CLINT1 Isoform 1 of Clathrin interactor 1 | 2 | 0,77 | 0,01 |
| IPI:IPI00397519 | CLINT1 Isoform 2 of Clathrin interactor 1 | 2 | 0,77 | 0,01 |
| IPI:IPI00293746 | C1orf35 Isoform 1 of Multiple myeloma tumor-associated protein 2 | 2 | 0,01 | 0,53 |
| IPI:IPI00917509 | CBX3 12 kDa protein | 2 | 0,26 | 0,23 |
| IPI:IPI00242656 | ILDR1 Isoform 2 of Immunoglobulin-like domain-containing receptor 1 | 2 | 0,76 | 0,01 |
| IPI:IPI00903243 | LOC284100 cDNA FLJ37577 fis clone BRCOC2003513 moderately similar to 14-3-3 protein epsilon | 2 | 0,01 | 0,25 |
| IPI:IPI00012750 | RPS25 40S ribosomal protein S25 | 2 | 0,01 | 0,31 |
| IPI:IPI00794978 | MRPL47 Isoform 2 of 39S ribosomal protein L47 mitochondrial | 2 | 0,17 | 0,04 |
| IPI:IPI00328306 | ZC3H11A Zinc finger CCCH domain-containing protein 11A | 2 | 0,96 | 0,01 |
| IPI:IPI00220994 | H2AFY2 Core histone macro-H2A.2 | 2 | 0,02 | 0,37 |
| IPI:IPI00787097 | LOC730070 similar to hCG1985370 | 2 | 0,58 | 0,25 |
| IPI:IPI00888355 | LOC389217 similar to template acyivating factor-I alpha | 2 | 0,01 | 0,12 |
| IPI:IPI00869048 | RTTN Isoform 4 of Rotatin | 2 | 0,35 | 0,39 |
| IPI:IPI00888874 | LOC643308 similar to hCG1810802 NAP1L4 cDNA FLJ59403 highly similar to Nucleosome assembly | 2 | 0,63 | 0,20 |
| IPI:IPI00017763 | protein 1-like 4 | 2 | 0,00 | 0,35 |
| IPI:IPI00887826 | LOC100130005 similar to small ubiquitin-related modifier 2 LOC728825 SMT3 suppressor of mif two 3 homolog 2 isoform b | 2 | 0,01 | 0,18 |
| IPI:IPI00140827 | precursor | 2 | 0,01 | 0,18 |
| IPI:IPI00455757 | LOC390876 Similar to 60S ribosomal protein L35 | 2 | 0,16 | 0,39 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI00455482 | LOC440737 similar to ribosomal protein L35 | 2 | 0,57 | 0,10 |
| IPI:IPI00216171 | ENO2 Gamma-enolase | 2 | 0,00 | 0,15 |
| IPI:IPI00445559 | - cDNA FLJ43790 fis clone TESTI2053399 moderately similar to Homo sapiens pescadillo 1 containing BRCT domain | 2 | 0,02 | 0,11 |
| IPI:IPI00031691 | RPL9 60S ribosomal protein L9 | 2 | 0,05 | 0,41 |
| IPI:IPI00010420 | SLC25A31 ADP/ATP translocase 4 | 2 | 0,01 | 0,41 |
| IPI:IPI00013452 | EPRS Bifunctional aminoacyl-tRNA synthetase | 2 | 0,12 | 0,11 |
| IPI:IPI00783872 | CAPRIN1 Isoform 1 of Caprin-1 | 2 | 0,01 | 0,26 |
| IPI:IPI00787105 | LOC728953 similar to S19 ribosomal protein | 2 | 0,22 | 0,05 |
| IPI:IPI00790636 | BAT1 HLA-B associated transcript 1 | 2 | 0,01 | 0,14 |
| IPI:IPI00413344 | CFL2 Cofilin-2 | 2 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00024320 | RBM3 Putative RNA-binding protein 3 IGF2BP2 insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2 isoform | 2 | 0,17 | 0,11 |
| IPI:IPI00179713 | a LOC387867 similar to 40S ribosomal protein SA (p40) (34/67 kDa laminin receptor) (Colon carcinoma laminin-binding protein) (NEM/1CHD4) (Multidrug resistance-associated protein MGr1-Ag) isoform 1 | 2 | 0,10 | 0,07 |
| IPI:IPI00398958 | PRDX2 Peroxiredoxin-2 | 2 | 0,01 | 0,16 |
| IPI:IPI00027350 | PRDX2 Peroxiredoxin-2 | 2 | 0,01 | 0,15 |
| IPI:IPI00719360 | DHRS4 Isoform 5 of Dehydrogenase/reductase SDR family member 4 | 2 | 0,19 | 0,09 |
| IPI:IPI00477047 | LOC644934 similar to ribosomal protein S26 | 2 | 0,14 | 0,21 |
| IPI:IPI00013070 | HNRNPUL1 Isoform 1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 1 | 2 | 0,03 | 0,23 |
| IPI:IPI00644712 | XRCC6 ATP-dependent DNA helicase 2 subunit 1 | 2 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00888013 | LOC389901 hypothetical LOC389901 | 2 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00178440 | EEF1B2 Elongation factor 1-beta - Similar to Ubiquinol-cytochrome C reductase iron-sulfur subunit mitochondrial | 2 | 0,01 | 0,26 |
| IPI:IPI00455067 | EEF1B2 Elongation factor 1-beta - Similar to Ubiquinol-cytochrome C reductase iron-sulfur subunit mitochondrial | 2 | 0,01 | 0,36 |
| IPI:IPI00397701 | - cDNA FLJ56786 moderately similar to 40S ribosomal protein S16 | 2 | 0,07 | 0,17 |
| IPI:IPI00153005 | HVCN1 Isoform 1 of Voltage-gated hydrogen channel 1 | 2 | 0,23 | 0,16 |
| IPI:IPI00215914 | ARF1 ADP-ribosylation factor 1 | 2 | 0,02 | 0,40 |
| IPI:IPI00027019 | PRH1;PRH2;PRR4 Proline-rich protein 4 | 2 | 0,42 | 0,10 |
| IPI:IPI00002214 | KPNA2;LOC728860 Importin subunit alpha-2 | 2 | 0,02 | 0,30 |
| IPI:IPI00413922 | MYL6B 11 kDa protein | 2 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00878440 | RANBP1 19 kDa protein | 2 | 0,01 | 0,19 |
| IPI:IPI00788210 | LOC728590 similar to rCG23287 | 2 | 0,48 | 0,11 |
| IPI:IPI00290770 | CCT3 chaperonin containing TCP1 subunit 3 isoform b | 2 | 0,01 | 0,28 |
| IPI:IPI00514908 | KPRP Keratinocyte proline-rich protein | 2 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00879666 | RANBP1 cDNA FLJ40340 fis clone TESTI2032681 moderately similar to RAN-SPECIFIC GTPASE-ACTIVATING PROTEIN | 2 | 0,01 | 0,08 |
| IPI:IPI00007423 | ANP32B Isoform 1 of Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B | 2 | 0,01 | 0,33 |
| IPI:IPI00022790 | MFAP1 Microfibrillar-associated protein 1 | 2 | 0,10 | 0,03 |
| IPI:IPI00438229 | TRIM28 Isoform 1 of Transcription intermediary factor 1-beta | 2 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00472316 | DMD dystrophin Dp427p1 isoform - cDNA FLJ59103 highly similar to T-complex protein 1 subunit epsilon | 2 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00909956 | DMD dystrophin Dp427p1 isoform - cDNA FLJ59103 highly similar to T-complex protein 1 subunit epsilon | 2 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00001639 | KPNB1 Importin subunit beta-1 | 2 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00075248 | CALM1;CALM3;CALM2 Calmodulin | 2 | 0,03 | 0,18 |
| IPI:IPI00029822 | SMARCA4 SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin a4 isoform D | 2 | 0,02 | 0,23 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|------------------|--|---|------|------|
| IPI: IPI00386718 | SMARCA2 Isoform Short of Probable global transcription activator SNF2L2 | 2 | 0,02 | 0,23 |
| IPI: IPI00024067 | CLTC Isoform 1 of Clathrin heavy chain 1 | 2 | 0,04 | 0,13 |
| IPI: IPI00027970 | PCBP3 poly(rC) binding protein 3 isoform 1 | 2 | 0,02 | 0,38 |
| IPI: IPI00220834 | XRCC5 ATP-dependent DNA helicase 2 subunit 2 | 2 | 0,04 | 0,04 |
| IPI: IPI00006723 | SNRNP40 cDNA FLJ56825 highly similar to WD repeat protein 57 | 2 | 0,09 | 0,37 |
| IPI: IPI00290566 | TCP1 T-complex protein 1 subunit alpha | 2 | 0,04 | 0,27 |
| IPI: IPI00219485 | SNRNP70 Isoform 4 of U1 small nuclear ribonucleoprotein 70 kDa | 2 | 0,03 | 0,03 |
| IPI: IPI00640525 | CTSA cathepsin A isoform a precursor | 2 | 0,02 | 0,02 |
| IPI: IPI00216099 | DSC1 Isoform 1A of Desmocollin-1 | 2 | 0,81 | 0,05 |
| IPI: IPI00007425 | DSC1 desmocollin 1 isoform Dsc1b preproprotein | 2 | 0,81 | 0,05 |
| IPI: IPI00797126 | NACA nascent polypeptide-associated complex alpha subunit isoform a | 2 | 0,02 | 0,02 |
| IPI: IPI00020021 | DEK Protein DEK | 2 | 0,17 | 0,22 |
| IPI: IPI00027626 | CCT6A T-complex protein 1 subunit zeta | 2 | 0,61 | 0,04 |
| IPI: IPI00220301 | PRDX6 Peroxiredoxin-6 | 2 | 0,03 | 0,21 |
| IPI: IPI00020984 | CANX cDNA FLJ55574 highly similar to Calnexin | 2 | 0,03 | 0,03 |
| IPI: IPI00012535 | DNAJA1 DnaJ homolog subfamily A member 1 | 2 | 0,02 | 0,38 |
| IPI: IPI00009104 | RUVBL2 RuvB-like 2 | 2 | 0,04 | 0,18 |
| IPI: IPI00641299 | PABPC4 Poly(A) binding protein cytoplasmic 4 | 2 | 0,04 | 0,04 |
| IPI: IPI00328840 | THOC4 THO complex subunit 4 | 2 | 0,04 | 0,04 |
| IPI: IPI00027280 | TOP2B Isoform Beta-2 of DNA topoisomerase 2-beta | 2 | 0,04 | 0,50 |
| IPI: IPI00411937 | NOP56 Nucleolar protein 5A | 2 | 0,03 | 0,28 |
| IPI: IPI00908463 | - cDNA FLJ54451 highly similar to Stress-induced-phosphoprotein 1 PCMT1 Isoform 1 of Protein-L-isoaspartate(D-aspartate) O- | 2 | 0,07 | 0,07 |
| IPI: IPI00411680 | methyltransferase | 2 | 0,07 | 0,07 |
| IPI: IPI00000733 | UTP18 U3 small nucleolar RNA-associated protein 18 homolog | 2 | 0,05 | 0,05 |
| IPI: IPI00384456 | MSH6 Isoform GTBP-N of DNA mismatch repair protein Msh6 | 2 | 0,08 | 0,08 |
| IPI: IPI00550766 | RRP1 Ribosomal RNA processing protein 1 homolog A | 2 | 0,04 | 0,04 |
| IPI: IPI00910355 | - cDNA FLJ58188 highly similar to TAR DNA-binding protein 43 | 2 | 0,05 | 0,05 |
| IPI: IPI00815713 | TCOF1 Isoform 4 of Treacle protein GANAB cDNA FLJ61290 highly similar to Neutral alpha-glucosidase | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00383581 | AB | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00328293 | SRRM1 Serine/arginine repetitive matrix 1 | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00002624 | PLRG1 Isoform 1 of Pleiotropic regulator 1 | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00299254 | EIF5B Eukaryotic translation initiation factor 5B | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00554711 | JUP Junction plakoglobin | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00829711 | IGHA2 Putative uncharacterized protein IGH A2 (Fragment) | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00423461 | IGHA2 Putative uncharacterized protein DKFZp686C02220 (Fragment) | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00012079 | EIF4B cDNA FLJ54492 highly similar to Eukaryotic translation initiation factor 4B | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00877709 | - 9 kDa protein | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00025039 | FBL rRNA 2--O-methyltransferase fibrillar | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00026126 | SCGB2A1 Mammaglobin-B | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00303292 | KPNA1 Importin subunit alpha-1 | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00061116 | MUCL1 Mucin-like protein 1 | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00879655 | PTMAP4 Prothymosin alpha | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00737372 | LOC643287 similar to prothymosin alpha | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00385149 | PTMA Putative uncharacterized protein | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00166866 | IGHA1;IGHV3OR16-13 IGH A1 protein | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI: IPI00290652 | RSF1 remodeling and spacing factor 1 | 2 | 0,00 | 0,00 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI00019046 | RBM22 Pre-mRNA-splicing factor RBM22 | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00009009 | CWC15 Protein CWC15 homolog | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00154975 | DNAJC9 DnaJ homolog subfamily C member 9 | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00641181 | MARCKSL1 MARCKS-related protein | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00304664 | KIAA1704 39 kDa protein | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00642971 | EEF1D eukaryotic translation elongation factor 1 delta isoform 1 | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00642549 | RAD23B cDNA FLJ56531 highly similar to UV excision repair protein RAD23 homolog B | 2 | 0,00 | 0,00 |
| IPI:IPI00798360 | CIP29 18 kDa protein | 1 | 0,07 | 0,55 |
| IPI:IPI00455852 | ARHGEF15 Rho guanine nucleotide exchange factor 15 | 1 | 0,02 | 0,61 |
| IPI:IPI00329164 | DALRD3 Isoform 4 of DALR anticodon-binding domain-containing protein 3 | 1 | 0,00 | 0,61 |
| IPI:IPI00784002 | SACS Isoform 2 of Sacsin | 1 | 0,03 | 0,71 |
| IPI:IPI00913961 | H2AFV Histone H2A (Fragment) | 1 | 0,36 | 0,00 |
| IPI:IPI00787623 | LOC388177 similar to Histone H2AV | 1 | 0,36 | 0,00 |
| IPI:IPI00383161 | - 88 kDa protein | 1 | 0,15 | 0,30 |
| IPI:IPI00887164 | LOC646057 similar to hCG2003024 | 1 | 0,00 | 0,66 |
| IPI:IPI00878218 | ATP5O Mitochondrial ATP synthase O subunit variant (Fragment) | 1 | 0,01 | 0,66 |
| IPI:IPI00853134 | ATP5O Protein | 1 | 0,01 | 0,66 |
| IPI:IPI00879386 | KIAA0748 Isoform 1 of Uncharacterized protein KIAA0748 | 1 | 0,03 | 0,58 |
| IPI:IPI00794736 | RPL4 12 kDa protein | 1 | 0,03 | 0,23 |
| IPI:IPI00845359 | CCDC73 Isoform 2 of Coiled-coil domain-containing protein 73 | 1 | 0,00 | 0,66 |
| IPI:IPI00168797 | SDR9C7 Orphan short-chain dehydrogenase/reductase ATP8A2 ATPase aminophospholipid transporter-like Class I type 8A member 2 | 1 | 0,00 | 0,66 |
| IPI:IPI00465166 | LOC729611 27 kDa protein | 1 | 0,47 | 0,00 |
| IPI:IPI00792866 | LOC283412 similar to ribosomal protein L29 | 1 | 0,50 | 0,13 |
| IPI:IPI00888051 | LOC283412 similar to ribosomal protein L29 | 1 | 0,50 | 0,13 |
| IPI:IPI00454907 | LOC283412 hypothetical protein | 1 | 0,50 | 0,13 |
| IPI:IPI00888428 | LOC646446 similar to hCG2040301 | 1 | 0,06 | 0,45 |
| IPI:IPI00298258 | UNC13B Unc-13 homolog B | 1 | 0,00 | 0,37 |
| IPI:IPI00002580 | PIK3C2A Phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase C2 domain-containing alpha polypeptide | 1 | 0,00 | 0,35 |
| IPI:IPI00886929 | LOC100131813 similar to hCG2041218 | 1 | 0,11 | 0,24 |
| IPI:IPI00887002 | LOC100131133 similar to hCG2041308 | 1 | 0,11 | 0,24 |
| IPI:IPI00894133 | INS-IGF2;INS insulin- insulin-like growth factor 2 | 1 | 0,00 | 0,35 |
| IPI:IPI00298946 | DSCR3 Down syndrome critical region protein 3 | 1 | 0,00 | 0,40 |
| IPI:IPI00294787 | RAD54L2 Helicase ARIP4 | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00807358 | MGC16121 hypothetical protein LOC84848 | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00292950 | SERPIND1 Serpin peptidase inhibitor clade D (Heparin cofactor) member 1 | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00447707 | FLJ43315 Pseudogene candidate | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00217407 | UBR2 Isoform 4 of E3 ubiquitin-protein ligase UBR2 | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00027821 | CRISPLD2 Isoform 1 of Cysteine-rich secretory protein LCCL domain-containing 2 | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00018155 | - Putative uncharacterized protein FLJ11871 | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00909477 | - cDNA FLJ54108 highly similar to Homo sapiens smooth muscle cell associated protein-1 (SMAP-1) transcript variant 2 mRNA | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00888746 | MGC16121 similar to mCG9993 | 1 | 0,14 | 0,23 |
| IPI:IPI00023442 | SEC31B Isoform 1 of Protein transport protein Sec31B | 1 | 0,16 | 0,09 |
| IPI:IPI00328298 | SMC4 Isoform 2 of Structural maintenance of chromosomes protein 4 | 1 | 0,30 | 0,12 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IP100448938 | IGHG1 IGHG1 protein | 1 | 0,30 | 0,19 |
| IPI:IP100784810 | IGHV4-31 IGHV4-31 protein | 1 | 0,30 | 0,19 |
| IPI:IP100844239 | - Immunoglobulin G1 Fab heavy chain variable region (Fragment) | 1 | 0,30 | 0,19 |
| IPI:IP100423466 | IGHG1 Putative uncharacterized protein DKFZp686H20196 | 1 | 0,30 | 0,19 |
| IPI:IP100332919 | SYTL2 Isoform 3 of Synaptotagmin-like protein 2 | 1 | 0,29 | 0,21 |
| IPI:IP100784324 | SYTL2 synaptotagmin-like 2 isoform a | 1 | 0,29 | 0,21 |
| IPI:IP100152540 | CD109 Isoform 1 of CD109 antigen | 1 | 0,00 | 0,67 |
| IPI:IP100790685 | RALYL RALY RNA binding protein-like isoform 1 | 1 | 0,37 | 0,20 |
| IPI:IP100010742 | HOXA6 Homeobox protein Hox-A6 | 1 | 0,00 | 0,25 |
| IPI:IP100301689 | PPFIBP2 Liprin-beta-2 | 1 | 0,00 | 0,57 |
| IPI:IP100456958 | OVOS2 Ovostatin homolog 2 | 1 | 0,07 | 0,00 |
| IPI:IP100339214 | ADCY5 Adenylate cyclase type 5 | 1 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IP100024934 | MUT Methylmalonyl-CoA mutase mitochondrial | 1 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IP100184997 | DLGAP5 cDNA FLJ78771 highly similar to Homo sapiens discs large homolog 7 (Drosophila) mRNA | 1 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IP100011938 | ADCY6 Isoform 1 of Adenylate cyclase type 6 | 1 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IP100043201 | CENPJ Centromere protein J | 1 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IP100017358 | CCDC40 Isoform 4 of Coiled-coil domain-containing protein 40 | 1 | 0,89 | 0,01 |
| IPI:IP100217340 | WWC1 Isoform 1 of Protein WWC1 | 1 | 0,50 | 0,00 |
| IPI:IP100917141 | SLC39A10 5 kDa protein | 1 | 0,50 | 0,00 |
| IPI:IP100872953 | C20orf74 Putative uncharacterized protein C20orf74 | 1 | 0,51 | 0,21 |
| IPI:IP100874272 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000380873 (Fragment) | 1 | 0,00 | 0,18 |
| IPI:IP100902432 | - 43 kDa protein | 1 | 0,00 | 0,17 |
| IPI:IP100873994 | KRT15 Putative uncharacterized protein KRT15 (Fragment) | 1 | 0,72 | 0,00 |
| IPI:IP100794644 | KRT19 21 kDa protein | 1 | 0,72 | 0,00 |
| IPI:IP100792879 | RPL27 4 kDa protein | 1 | 0,24 | 0,44 |
| IPI:IP100916038 | TAX1BP1 94 kDa protein | 1 | 0,51 | 0,00 |
| IPI:IP100887042 | LOC642098 similar to mCG49764 | 1 | 0,19 | 0,26 |
| IPI:IP100783024 | - Myosin-reactive immunoglobulin heavy chain variable region (Fragment) | 1 | 0,18 | 0,33 |
| IPI:IP100783287 | - Immunoglobulin heavy chain variable region (Fragment) | 1 | 0,18 | 0,33 |
| IPI:IP100783271 | LRPPRC Leucine-rich PPR motif-containing protein mitochondrial | 1 | 0,01 | 0,84 |
| IPI:IP100917676 | LRPPRC 40 kDa protein | 1 | 0,01 | 0,84 |
| IPI:IP100746963 | IGKC IGKC protein | 1 | 0,01 | 0,71 |
| IPI:IP100004550 | KRT24 Keratin type I cytoskeletal 24 | 1 | 0,77 | 0,12 |
| IPI:IP100009143 | ADAMTS5 A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 | 1 | 0,01 | 0,97 |
| IPI:IP100018931 | VPS35 Vacuolar protein sorting-associated protein 35 | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IP100739666 | - Similar to Splicing factor arginine/serine-rich 46kD | 1 | 0,00 | 0,25 |
| IPI:IP100874104 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000381719 (Fragment) | 1 | 0,00 | 0,27 |
| IPI:IP100795719 | - cDNA FLJ53570 highly similar to Keratin type I cytoskeletal 16 | 1 | 0,69 | 0,01 |
| IPI:IP100087498 | ESCO2 N-acetyltransferase ESCO2 | 1 | 0,20 | 0,01 |
| IPI:IP100657775 | KIF21B Protein | 1 | 0,01 | 0,11 |
| IPI:IP100410480 | FLJ43860 hypothetical protein LOC389690 | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IP100828021 | HSPA4L cDNA FLJ55529 highly similar to Heat shock 70 kDa protein 4L | 1 | 0,32 | 0,16 |
| IPI:IP100888055 | LOC100128168 similar to 40S ribosomal protein S26 | 1 | 0,30 | 0,21 |
| IPI:IP100878862 | - 8 kDa protein | 1 | 0,76 | 0,01 |
| IPI:IP100740208 | RIMBP3 DKFZP434H0735 protein | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IP100022430 | GAPDHS Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase testis-specific | 1 | 0,00 | 0,11 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI00023260 | TFAP2C Transcription factor AP-2 gamma | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00787967 | - Putative uncharacterized protein ENSP00000346229 | 1 | 0,16 | 0,35 |
| IPI:IPI00789740 | GEMIN4 Gem (Nuclear organelle) associated protein 4 | 1 | 0,35 | 0,39 |
| IPI:IPI00792828 | GEMIN4 74 kDa protein | 1 | 0,35 | 0,39 |
| IPI:IPI00023571 | TAC1 Isoform Beta of Protachykinin-1 | 1 | 0,01 | 0,57 |
| IPI:IPI00555876 | HSP90AA5P Putative heat shock protein HSP 90-alpha A5 | 1 | 0,01 | 0,22 |
| IPI:IPI00798011 | SUMO2;SUMO3 Putative uncharacterized protein SUMO2 | 1 | 0,01 | 0,18 |
| IPI:IPI00556259 | PABPC1L Polyadenylate-binding protein 1-like | 1 | 0,39 | 0,27 |
| IPI:IPI00432527 | PABPCP2 Putative protein PABPC1-like | 1 | 0,31 | 0,15 |
| IPI:IPI00887580 | LOC645018 similar to hCG2016250 | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00001830 | CBX1 Heterochromatin-specific nonhistone protein (Fragment) | 1 | 0,33 | 0,01 |
| IPI:IPI00878105 | - 12 kDa protein | 1 | 0,09 | 0,35 |
| IPI:IPI00872722 | LOC645958 LOC645958 protein | 1 | 0,14 | 0,33 |
| IPI:IPI00888152 | GAPDHL6 similar to Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | 1 | 0,01 | 0,08 |
| IPI:IPI00016768 | LDHAL6B L-lactate dehydrogenase A-like 6B | 1 | 0,01 | 0,14 |
| IPI:IPI00414860 | RPL37A 60S ribosomal protein L37a | 1 | 0,01 | 0,43 |
| IPI:IPI00479281 | - 27 kDa protein | 1 | 0,10 | 0,40 |
| IPI:IPI00185159 | BAIAP2 Isoform 4 of Brain-specific angiogenesis inhibitor 1-associated protein 2 | 1 | 0,01 | 0,51 |
| IPI:IPI00479548 | BRDT Isoform 1 of Bromodomain testis-specific protein | 1 | 0,01 | 0,14 |
| IPI:IPI00908389 | - cDNA FLJ59991 highly similar to Elongation factor 1-gamma | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00514143 | TMEM141 Protein | 1 | 0,01 | 0,39 |
| IPI:IPI00375496 | JMJD6 Isoform 2 of Histone arginine demethylase JMJD6 | 1 | 0,01 | 0,31 |
| IPI:IPI00887446 | LOC389992 similar to hCG2040259 | 1 | 0,92 | 0,02 |
| IPI:IPI00410457 | FLJ45455 Isoform 1 of UPF0626 protein B | 1 | 0,01 | 0,66 |
| IPI:IPI00000874 | PRDX1 Peroxiredoxin-1 | 1 | 0,01 | 0,26 |
| IPI:IPI00790019 | PCBP2 20 kDa protein | 1 | 0,01 | 0,31 |
| IPI:IPI00021700 | PCNA Proliferating cell nuclear antigen | 1 | 0,01 | 0,48 |
| IPI:IPI00916115 | ANP32A 9 kDa protein | 1 | 0,01 | 0,15 |
| IPI:IPI00874044 | FAM184A Isoform 1 of Protein FAM184A | 1 | 0,23 | 0,12 |
| IPI:IPI00552442 | CENPP Centromere protein P | 1 | 0,21 | 0,01 |
| IPI:IPI00887360 | LOC100133938 similar to protein phosphatase 2 (formerly 2A) regulatory subunit B beta | 1 | 0,42 | 0,44 |
| IPI:IPI00328587 | - 42 kDa protein | 1 | 0,01 | 0,18 |
| IPI:IPI00739770 | C2orf77 hypothetical protein LOC129881 | 1 | 0,31 | 0,01 |
| IPI:IPI00902703 | DLL1 85 kDa protein | 1 | 0,27 | 0,01 |
| IPI:IPI00375630 | H2BFWT Histone H2B type W-T | 1 | 0,01 | 0,30 |
| IPI:IPI00442560 | C5orf44 CDNA FLJ26957 fis clone SLV00486 | 1 | 0,23 | 0,16 |
| IPI:IPI00025094 | MYH16 cDNA: FLJ22037 fis clone HEP08868 (Fragment) | 1 | 0,23 | 0,16 |
| IPI:IPI00848226 | GNB2L1 Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1 | 1 | 0,39 | 0,19 |
| IPI:IPI00479543 | LOC645979;LOC641768 similar to ribosomal protein S26 | 1 | 0,25 | 0,22 |
| IPI:IPI00847149 | - Similar to 40S ribosomal protein S26 | 1 | 0,25 | 0,22 |
| IPI:IPI00376121 | LOC100131971 similar to 40S ribosomal protein S26 | 1 | 0,25 | 0,22 |
| IPI:IPI00795944 | MYL6B 8 kDa protein | 1 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00796500 | MYL6B 10 kDa protein | 1 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00293857 | ARRB1 Isoform 1A of Beta-arrestin-1 | 1 | 0,02 | 0,45 |
| IPI:IPI00477295 | DHX30 DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 30 isoform 2 | 1 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00411733 | DHX30 Isoform 1 of Putative ATP-dependent RNA helicase DHX30 | 1 | 0,03 | 0,03 |

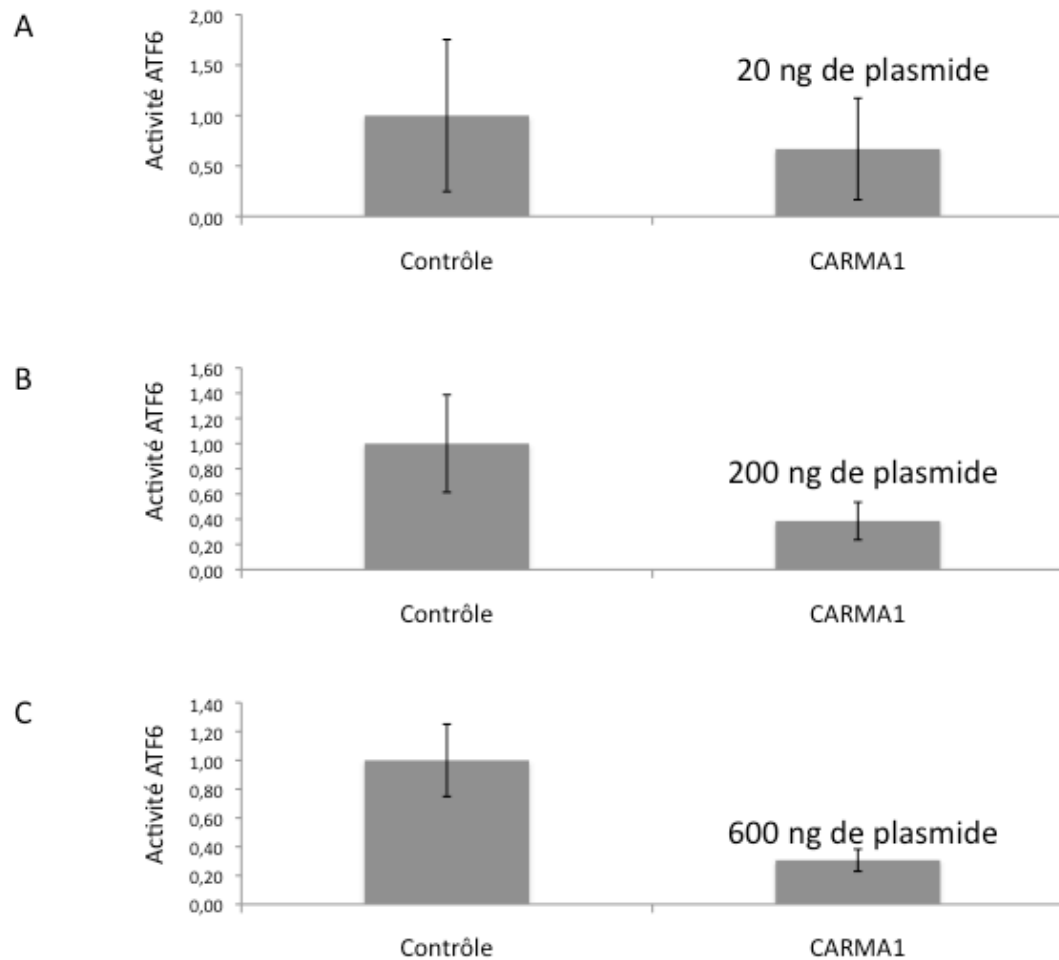
Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI00026843 | PIK3C2G Phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase C2 domain-containing gamma polypeptide | 1 | 0,02 | 0,46 |
| IPI:IPI00887237 | LOC100130070 similar to metallopanstimulin | 1 | 0,01 | 0,39 |
| IPI:IPI00888491 | LOC100131572 similar to hCG1783679 | 1 | 0,01 | 0,39 |
| IPI:IPI00879160 | RANBP1 14 kDa protein | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00009650 | LCN1 Lipocalin-1 | 1 | 0,48 | 0,02 |
| IPI:IPI00176710 | LCN1L1 Putative lipocalin 1-like protein 1 | 1 | 0,48 | 0,02 |
| IPI:IPI00008575 | KHDRBS1 Isoform 1 of KH domain-containing RNA-binding signal transduction-associated protein 1 | 1 | 0,01 | 0,16 |
| IPI:IPI00455146 | USP30 Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 30 | 1 | 0,86 | 0,03 |
| IPI:IPI00790307 | PA2G4 20 kDa protein | 1 | 0,01 | 0,32 |
| IPI:IPI00793211 | - 41 kDa protein | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00218038 | FAM10A4 Protein FAM10A4 | 1 | 0,01 | 0,01 |
| IPI:IPI00017373 | RPA3 Replication protein A 14 kDa subunit | 1 | 0,59 | 0,02 |
| IPI:IPI00646520 | NONO 15 kDa protein | 1 | 0,02 | 0,51 |
| IPI:IPI00165995 | SFRS18 Isoform 1 of Splicing factor arginine/serine-rich 18 | 1 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00293276 | MIF;LOC284889 Macrophage migration inhibitory factor | 1 | 0,01 | 0,20 |
| IPI:IPI00299571 | PDIA6 Isoform 2 of Protein disulfide-isomerase A6 | 1 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00789296 | SRP14 8 kDa protein | 1 | 0,02 | 0,13 |
| IPI:IPI00293434 | SRP14 Signal recognition particle 14 kDa protein | 1 | 0,02 | 0,13 |
| IPI:IPI00793498 | PA2G4P4 Pseudogene candidate | 1 | 0,04 | 0,04 |
| IPI:IPI00479514 | CACNA2D1 Voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-1 | 1 | 0,02 | 0,25 |
| IPI:IPI00027107 | TUFM Tu translation elongation factor mitochondrial precursor | 1 | 0,02 | 0,42 |
| IPI:IPI00032028 | - PRO2831 | 1 | 0,38 | 0,02 |
| IPI:IPI00013180 | BUD31 Protein BUD31 homolog | 1 | 0,04 | 0,04 |
| IPI:IPI00026167 | NHP2L1 NHP2-like protein 1 | 1 | 0,02 | 0,21 |
| IPI:IPI00910732 | - cDNA FLJ56053 highly similar to Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform | 1 | 0,02 | 0,26 |
| IPI:IPI00018192 | WDR74 Isoform 1 of WD repeat-containing protein 74 | 1 | 0,03 | 0,03 |
| IPI:IPI00743867 | - Similar to Pyruvate kinase M2 | 1 | 0,04 | 0,04 |
| IPI:IPI00015029 | PTGES3 Prostaglandin E synthase 3 | 1 | 0,03 | 0,27 |
| IPI:IPI00032003 | EMD Emerin | 1 | 0,05 | 0,05 |
| IPI:IPI00001757 | RBM8A Isoform 1 of RNA-binding protein 8A | 1 | 0,35 | 0,30 |
| IPI:IPI00220839 | PRSS3 Isoform B of Trypsin-3 | 1 | 0,05 | 0,05 |
| IPI:IPI00816063 | RPL12 Isoform 2 of 60S ribosomal protein L12 | 1 | 0,59 | 0,15 |
| IPI:IPI00007471 | NACA2 Nascent polypeptide-associated complex subunit alpha-2 | 1 | 0,02 | 0,02 |
| IPI:IPI00185998 | GLB1L Isoform 1 of Beta-galactosidase-1-like protein | 1 | 0,21 | 0,02 |
| IPI:IPI00291624 | SRrp35 35 kDa SR repressor protein | 1 | 0,18 | 0,29 |
| IPI:IPI00385555 | - Ig kappa chain V-I region BAN | 1 | 0,25 | 0,33 |
| IPI:IPI00302850 | SNRPD1 Small nuclear ribonucleoprotein Sm D1 | 1 | 0,03 | 0,32 |
| IPI:IPI00910754 | LDHA L-lactate dehydrogenase A isoform 2 | 1 | 0,02 | 0,28 |
| IPI:IPI00017726 | HSD17B10 Isoform 1 of 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2 | 1 | 0,04 | 0,30 |
| IPI:IPI00026781 | FASN Fatty acid synthase | 1 | 0,04 | 0,32 |
| IPI:IPI00853265 | KRT80 Isoform 1 of Keratin type II cytoskeletal 80 | 1 | 0,40 | 0,37 |
| IPI:IPI00291510 | IMPDH2 Inosine-5~-monophosphate dehydrogenase 2 | 1 | 0,06 | 0,06 |
| IPI:IPI00012442 | G3BP1 Ras GTPase-activating protein-binding protein 1 | 1 | 0,03 | 0,31 |
| IPI:IPI00394815 | RSBN1L round spermatid basic protein 1-like | 1 | 0,04 | 0,47 |

Annexe I : Tableau des données brutes de la spectrométrie de masse de KIF21B (suite)

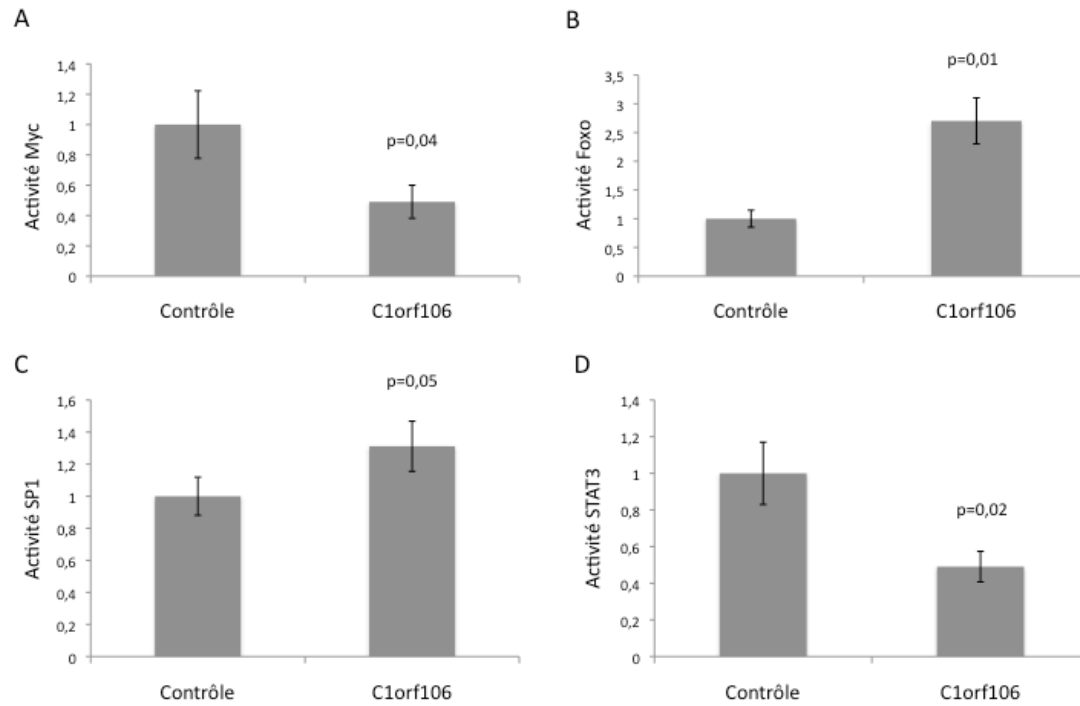
| | | | | |
|-----------------|---|---|------|------|
| IPI:IPI0009841 | EWSR1 Ewing sarcoma breakpoint region 1 isoform CRA_h | 1 | 0,06 | 0,06 |
| IPI:IPI00478231 | RHOA Transforming protein RhoA | 1 | 0,07 | 0,07 |
| IPI:IPI00216230 | TMPO Lamina-associated polypeptide 2 isoform alpha | 1 | 0,04 | 0,04 |
| IPI:IPI00178352 | FLNC Isoform 1 of Filamin-C | 1 | 0,05 | 0,05 |
| IPI:IPI00382698 | FLNB Isoform 4 of Filamin-B | 1 | 0,05 | 0,05 |
| IPI:IPI00465028 | TPI1 Isoform 1 of Triosephosphate isomerase | 1 | 0,06 | 0,28 |
| IPI:IPI00027831 | GRWD1 Glutamate-rich WD repeat-containing protein 1 | 1 | 0,05 | 0,45 |
| IPI:IPI00300446 | CLTCL1 Isoform 2 of Clathrin heavy chain 2 | 1 | 0,05 | 0,05 |
| IPI:IPI00017596 | MAPRE1 Microtubule-associated protein RP/EB family member 1 | 1 | 0,08 | 0,08 |
| IPI:IPI00217223 | PAICS Multifunctional protein ADE2 | 1 | 0,05 | 0,05 |
| IPI:IPI00185374 | PSMD12 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 12 | 1 | 0,06 | 0,06 |
| IPI:IPI00017448 | RPS21 40S ribosomal protein S21 | 1 | 0,09 | 0,09 |
| IPI:IPI00894160 | PPP1CB 7 kDa protein | 1 | 0,07 | 0,39 |
| IPI:IPI00872177 | PPP1CB 41 kDa protein | 1 | 0,07 | 0,39 |
| IPI:IPI00894274 | PPP1CB cDNA FLJ58972 highly similar to Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit | 1 | 0,07 | 0,39 |
| IPI:IPI00902512 | - cDNA FLJ45714 fis clone FEKID2002637 highly similar to Serine/threonine-protein phosphatase PP1-alpha catalytic subunit | 1 | 0,07 | 0,39 |
| IPI:IPI00005705 | PPP1CC Isoform Gamma-1 of Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit | 1 | 0,07 | 0,39 |
| IPI:IPI00298961 | XPO1 Exportin-1 | 1 | 0,12 | 0,12 |

Annexe II : Graphiques de l'activité ATF6 pour différentes doses de CARMA1



Surexpression de CARMA1 à des doses de 20 (A), 200 (B) ou 600 ng (C) par puit dans l'essai ATF6 rapporteur luciférase de la plaque Cignal™. L'activité ATF6 est sensiblement semblable aux différentes doses de CARMA1. Les données représentent la moyenne des triplicata et les barres d'erreur représentent l'écart-type.

Annexe III : Activité des voies de l'apoptose suite à la surexpression de C1orf106.



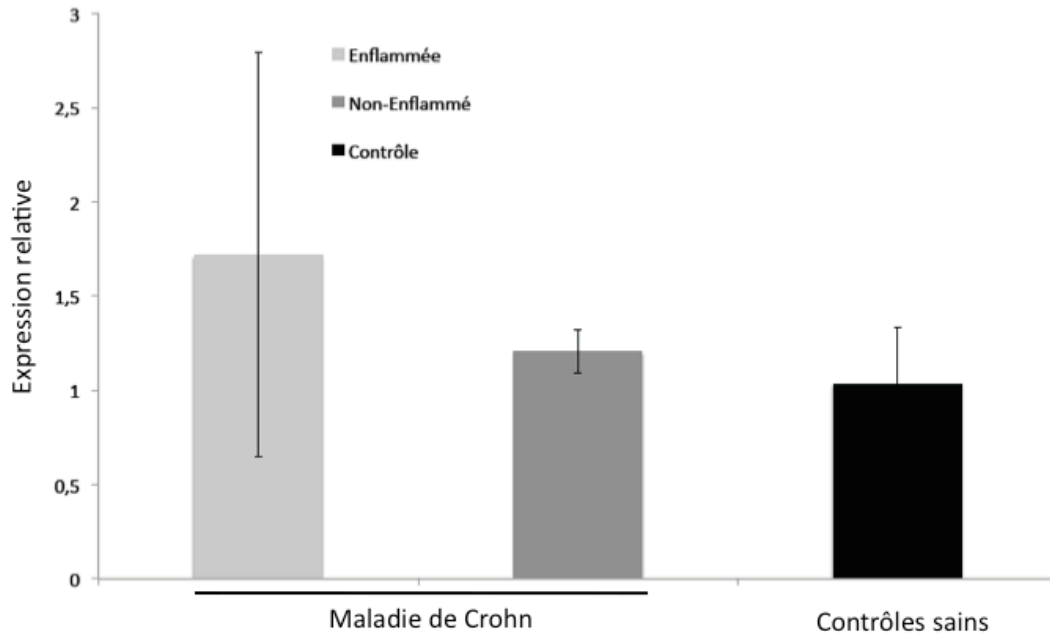
Essais gène rapporteur luciférase pour la surexpression de C1orf106 (20 ng/puit) dans les plaques Cignal™. Activité des voies de l'apoptose Myc (A), Foxo (B), SP1 (C) et STAT3 (D). Les voies n'ont pas été activées plus de quatre fois par rapport au niveau contrôle. Les données représentent la moyenne des triplicata et les barres d'erreur représentent l'écart-type. Les tests statistiques sont des tests de Student (*2-sided*).

Annexe IV : Tableau des sites potentiels de clivage de KIF21B

| Nom de l'enzyme | Nombre de sites | Position de l'acide aminé |
|-----------------|-----------------|---------------------------|
| Caspase 1 | 2 | 636 et 940 |
| Facteur Xa | 1 | 1062 |
| Thrombine | 2 | 115 et 1208 |

L'analyse des sites potentiels de clivage de KIF21B a été faite en utilisant le programme *Expasy peptide cutter tool* tel que mentionné dans Gasteiger E *et al.* [318].

Annexe V: Figure des données d'expression de KIF21B dans les biopsies intestinales.



Les biopsies enflammées et non-enflammées proviennent des mêmes patients MC à qui deux biopsies (une enflammée et une non-enflammée) ont été prélevées. Les contrôles sains sont des individus sans diagnostic de MII. Les données représentent la moyenne des valeurs pour 4 échantillons. Les données sont normalisées avec le gène GAPDH. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre les 4 données.