

SUPPLEMENTARY TABLES

Table 1. List of mutations previously identified in SUN5 implicated in Acephalic Spermatozoa syndrome.

Gene Name	Chromosome Position	Coding Sequence Variant	Protein Variant	Cohort Description	Mutated Subjects	Reference
SUN5	20:3157158-31592240	c.824C>T	p.Thr275Met		1	
		c.851C>G	p.Ser284*		1	
		c.340G>A	p.Gly114Arg		1	
		c.1066C>T/ c.485T>A	p.Arg356Cys and p.Met162Lys		1	
		c.381delA/ c.824C>T	p.Val128Serfs* 7 and p.Thr275Met	17 unrelated men	1	(Zhu et al., 2016)
		c.381delA/ c.781G>A	p.Val128Serfs* 7 and p.Val261Met		1	
		c.216G>A/ c.1043A>T	p.Trp72* and p.Asn348Ile		1	
		c.425+1G>A/c.1043 A>T	p.Asn348Ile		1	
		GRCh38 - chr20:32995761_32 990672delinsTGGT	p.Leu143Serfs* 30	3 related men	3	(Elkhatib et al., 2017)
		c.829C>T	p.Gln277*		1	
		c.1067G>A	p.Arg356His	3 unrelated men	1	(Fang et al., 2018)
		c.211+1_211+ dupGT	p.Ser71Cysfs11 *		1	
		c.381delA	p.Val128Serfs* 7	15 unrelated men	5	(Sha et al., 2018a)
		c.781G>A/ c.1043A>T	p.Val261Met and p.Asn348Ile	3 unrelated men	1	(Shang et al., 2018)

c.425+1G>A/c.475C>T	p.Arg159*		1	
c.772C>T	p.Arg258Cys	11 unrelated men	1	(Liu et al., 2020)

Table S2. Sequences of primers used and expected product sizes

Primer sequences used for Sanger sequencing verification of *SUN5* mutations and respective melting temperatures (T_m) and product sizes.

Primer Name	Primer Sequence (5'-3')	T _m (°C)	Product Size (bp)
SUN5_ Ex3-Forward	GTCCGCAACAATGACCAAGC	60	406
SUN5_ Ex3-Reverse	AAGAGGGATGACTGGGTGGA	60	

Table S3. Sperm-FISH analysis.

Data were recorded from 24866 sperm cells from fertile controls (*n* = 5) and 6355 from *SUN5* mutated subjects affected by ASS.

	Chrom.	CTRL 1	CTRL 2	CTRL 3	CTRL 4	CTRL 5	SUN5 P0166	SUN5 P0386	SUN5 PS1	Mean CTRL ± SD	Mean SUN5 ± SD	<i>p</i> -Value
% Haploid Sperm	21,X	48,7 7	49,80	49,26	49,07	50,12	48,57	51,46	48,38	49,41±0,55	49,47±1,73	0,95
	21,Y	50,2 7	49,42	49,69	50,00	49,01	50,30	47,56	50,46	49,68±0,49	49,44±1,63	0,82
% Disomic Sperm	21,XY	0,46	0,42	0,59	0,60	0,69	0,69	0,67	0,63	0,55±0,11	0,66±0,03	0,08
	21,XX	0,08	0,06	0,08	0,10	0,02	0,10	0,00	0,10	0,07±0,03	0,07±0,06	0,09
	21,YY	0,12	0,08	0,10	0,10	0,02	0,10	0,04	0,10	0,08±0,04	0,08±0,03	0,86
	21,21,X	0,04	0,06	0,04	0,04	0,02	0,05	0,04	0,05	0,04±0,01	0,05±0,00	0,33
	21,21,Y	0,08	0,06	0,06	0,04	0,04	0,05	0,09	0,05	0,06±0,02	0,06±0,02	0,72
% Diploid Sperm	21,21,XY	0,06	0,04	0,08	0,00	0,06	0,10	0,09	0,14	0,05±0,03	0,11±0,03	0,04
	21,21,XX	0,08	0,04	0,04	0,02	0,02	0,05	0,00	0,05	0,04±0,02	0,03±0,03	0,71
	21,21,YY	0,04	0,02	0,06	0,02	0,00	0,00	0,04	0,05	0,03±0,02	0,03±0,03	0,89