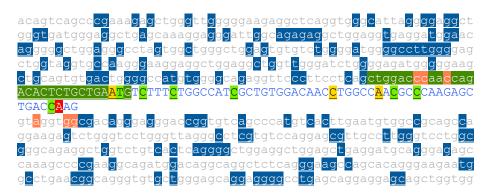
Ejemplo comparación de resultados predictores in sillico

Cambio de estudio CACNA1B c.2093-3C>A (chr 9:138010007 C/A o NM_000718.4: c.2093-3C>A)

Exón 17 e intrones adyacentes:



El cambio se encuentra en la tercera posición justo antes del exón 17 (la **c** en color verde).

Se va a obtener los resultados que produce analizar esta variable con los diferente predictores y ver cuál de ellos es más preciso.

NetGene2

Donor splice s	-				Donor splice	-			
	pos 5'->3' 108 184 369 373 376	phase strand 1 + 0 + 0 + 1 + 1 +	0.47 0.45 1.00 0.19 0.06	5' exon intron 3' GAGGCTGGAG^GTGAGGATGG TGGGGAGCTG^GTAGGTGCCA GCTGACCAAG^GTAGGTGGCG H ACCAAGGTAG^GTGGCGACAG AAGGTAGGTG^GCGACAGGGA		pos 5'->3' 108 184 369 373 376		confidence 0.47 0.45 1.00 0.19 0.06	5' exon intron 3' GAGGCTGGAG^GTGAGGATGG TGGGGAGCTG^GTAGGTGCCA GCTGACCAAG^GTAGGTGGCG H ACCAAGGTAG^GTGGCGACAG AAGGTAGGTG^GCGACAGGGA
Donor splice s	ites, comple	ement strand			Donor splice	sites, comple	ement strand		
No donor si	te predictio	ons above thre	shold.			ite predictio	ons above thres	hold.	
Acceptor splic					Acceptor spli	ce sites, di	rect strand		
		phase strand 1 + 0 + 2 + 1 + 0 + 2 +	confidence 0.20 0.25 0.76 0.45 0.07 0.18	5' intron exon 3' TGTGGGGCAG^AGGTTCCCTT TGGGGCAGAG^GTTCCCTTCC CCTTCCTCAG^CTGGACCCAA ACCCAACCAG^ACACTCTGCT CCGAAGGCAG^ATGGACAGGC AGATGGACAG^GCAGGCTCTC		pos 5'->3' 270 272 286 300 565 573	phase strand 1 + 0 + 2 + 1 + 0 + 2 +	confidence 0.20 0.31 0.76 0.44 0.07 0.18	5' intron exon 3' TGTGGGGCAG^AGGTTCCCTT TGGGGCAGAG^GTTCCCTTCC CCTTCCTCAG^CTGGACCCAA ACCCAACAAG^ACACTCTGCT CCGAAGGCAG^ATGGACAGGC AGATGGACAG^GCAGGCTCTC
Acceptor splic	e sites, com	plement stran	d -		Acceptor spli	ce sites, cor	mplement strand		
pos 3'->5' 360 223	pos 5'->3' 309 446	phase strand 0 - 0 -	0.17	5' intron exon 3' CCTTGGTCAG^CTCTTGGGCG ATCTCCCCAG^ATCCCAACCA	pos 3'->5' 360 223	pos 5'->3' 309 446	phase strand 0 - 0 -		5' intron exon 3' CCTTGGTCAG^CTCTTGGGCG ATCTCCCCAG^ATCCCAACCA

El único cambio que hay entre las predicciones para la secuencia *wild type* frente a la secuencia mutante es que la predicción (en rojo) que corresponde con el sitio *acceptor* del exón cambia en la posición correspondiente a la mutación de interés, pero el sitio *acceptor* se sigue detectando por lo tanto no habrá cambios en el *splicing*.

Splice Site Prediction by Neural Network (NNSplice)

Donor site predictions for 10.42.3.123.415097.0:

Donor site predictions for 10.42.0.139.415343.0:

Start	End	Score	Exon Intron	Start	End	Score	Exon Intron
101	115	0.88	gctggag gt gaggat	101	115	0.88	gctggag gt gaggat
177	191	0.82	ggagctg gt aggtgc	177	191	0.82	ggagctg gt aggtgc
362	376	0.98	gaccaag gt aggtgg	362	376	0.98	gaccaag gt aggtgg

Acceptor site predictions for 10.42.3.123.415097.0:

Acceptor site predictions for 10.42.0.139.415343.0:

Start	End	Score	Intron	Exon	Start	End	Score	Intron	Exon
266	306	0.72	ggcagaggttcc	cttcctc ag ctggacccaaccagacactc	266	306	0.67	ggcagaggttcccttcctc	ag ctggacccaacaagacactc

Spliceman

Point mutation	Wildtype (wt)	Mutation (mt)	L1 distance	Ranking (L1)
ccaac(c/a)agaca	ccagac	caagac	24974	42%

Human Splicing Finder

Туре	†↓	Interpretation	ţŢ
No significant impact on splicing signals.		No significant impact on splicing signals.	

SVM-BPfinder

seq_id	agez	ss_dist	: bp_seq bp_scr	<pre>y_cont ppt_off</pre>	ppt_len ppt_scr	'svm_scr			
wt	39	55	tcctcagct	0.742156096913	0.58 17	9	13	-0.0752	275426
wt	39	28	tgctgaatg	1.50750334342	0.652173913043	2	19	26	1.3182851
mut	38	54	tcctcagct	0.742156096913	0.571428571429	17	9	13	-0.078043732
mut	38	27	tgctgaatg	1.50750334342	0.681818181818	2	19	26	1.3278593

Variant Effect Predictor tool

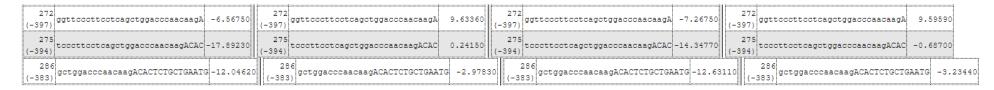
ENST00000371363.5:c.2093-3C>A 9:138010007- A 138010007	splice_region_variant, intron_variant	CACNA1B ENSG00000148408 Transcript	ENST00000277549.9 protein_coding	-	 -	-	-	-
ENST00000371363.5:c.2093-3C>A 9:138010007- A 138010007	splice_region_variant, intron_variant	CACNA1B ENSG00000148408 Transcript	ENST00000277551.6 protein_coding	-	 -	-	-	-
ENST00000371363.5:c.2093-3C>A 9:138010007- A 138010007	splice_region_variant, intron_variant	CACNA1B ENSG00000148408 Transcript	ENST00000371355.8 protein_coding	-	 -	-	-	-
ENST00000371363.5:c.2093-3C>A 9:138010007- A 138010007	splice_region_variant, intron_variant	CACNA1B ENSG00000148408 Transcript	ENST00000371357.5 protein_coding	-	 -	-	-	-
ENST00000371363.5:c.2093-3C>A 9:138010007- A 138010007	splice_region_variant, intron_variant	CACNA1B ENSG00000148408 Transcript	ENST00000371363.5 protein_coding	-	 -	-	-	-
ENST00000371363.5:c.2093-3C>A 9:138010007- A 138010007	splice_region_variant, intron_variant	CACNA1B ENSG00000148408 Transcript	ENST00000371372.6 protein_coding	-	 -	-	-	-

ESEfinder

Se encuentran 3 predicciones con puntuaciones positivas para las matrices 3':

272 (-397)	ggttcccttcctcagctggacccaaccagA -6.1474	272 (-397) ggttcccttcctcagctggacccaaccagA	9.81710	272 (-397) ggttcccttcctcagctggacccaaccagA -6.72550	272 (-397) ggttcccttcctcagctggacccaaccagA 9.78970
275 (-394)	tcccttcctcagctggacccaaccagACAC -17.39420	275 (-394) tcccttcctcagctggacccaaccagACAC	0.49940	275 (-394) tcccttcctcagctggacccaaccagACAC -13.65550	275 (-394) tcccttcctcagctggacccaaccagACAC -0.47290
286 (-383)	gctggacccaaccagACACTCTGCTGAATG -11.54090	286 (-383) gctggacccaaccagACACTCTGCTGAATG	0.89010	286 gctggacccaaccagACACTCTGCTGAATG -12.19690	286 gctggacccaaccagACACTCTGCTGAATG 0.70600

Cuando se comparan con las predicciones equivalentes para la secuencia mutante, se observa que en todos los casos bajan, siendo el más destacado 286 qué pasa de una puntuación positiva a una negativa:



Por lo tanto lo más probable es que se esté perdiendo un sitio acceptor, que puede tener efecto en el splicing.