

## Ejemplo comparación de resultados predictores in silico

Cambio de estudio: NF1 c.1845+1G>A (chr17:29548948 G/A, rs1131691096 o NM\_001128147.2: c.1845+1G>A)

### Exón 15 e intrones adyacentes

```
tttgtttcttaaagcaggtttttacagttatataattggtccgaattcatcatttagcttta
tatgtacatgccagtttagagtcagaatgatgggaataaaaatgatttcattctgtctgtat
tattccctagagggtttgtgttcacacagagtttctctctctttttaccttttactatataatg
aaactacaaaatgaaagagctcaatttcttagcattttataaaaatagtactccagtggttat
gtttaccaaataatgtttgagtgagtccttctctttgtcttctcttttttaaaaattcag
GCTCTGCTCGTTCTTCATCAGTTAGATAGCATTGATTGTGGAAATCCTGATGCTCCTGTA
GAAACATTTTGGGAGATTAG
gtataatgtacttttatttttttaaatccaacttttaaattttatttttgatattttgtcttg
aaatatttaactctgttagtacttagacattgtataaaacttacacttccaaagggttttatgg
ttttgtattttatttgacttcaaattatttagaattttcttggttttaactgtaagaaaagta
tcacagcaatttagaaaaataaatttaagaatagtgctaaattttgtcaccctaacaataa
gtactgtgtgtttgtataattacttttttcagatttcaatgtggttaactactgtattttta
```

Se ha descrito que este cambio produce el *skipping* de dos exones: exón 15 y 16. Deleción de varios exones, mutación y sitios de *splicing* débiles fuerzas el *skipping* de dos exones. Durante el proceso de corte y *splicing* del pre-mRNA mutado, se utilizan el sitio *donor* en el intrón 14 y el sitio *acceptor* del intrón 16. El modelo propuesto para la omisión de doble exón enfatiza el papel de los sitios de *splicing* fuertes. El exón 15 está rodeado por sitios de *splicing* débiles y se necesitan sitios de *splicing* fuertes del exón 16 para la eliminación adecuada de los intrones 15 y 16. Si el sitio *donor* fuerte del intrón 16 se debilita debido a la presencia de la mutación c.1845 1G> A, los sitios de *splicing* más fuertes en el intrón 14 son reconocidos por la maquinaria de *splicing* y el exón 15 se elimina de la transcripción<sup>1</sup>.

1. Fang LJ, Simard MJ, Vidaud D, Assouline B, Lemieux B, Vidaud M, Chabot B, Thirion JP (2001) A novel mutation in the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene promotes skipping of two exons by preventing exon definition. J Mol Biol 307(5):1261–1270

## NetGene2

The sequence: wt has the following composition:

Length: 679 nucleotides.  
28.6% A, 13.3% C, 14.6% G, 43.6% T, 0.0% X, 27.8% G+C

Donor splice sites, direct strand

-----  
No donor site predictions above threshold.

Donor splice sites, complement strand

-----  
pos 3'->5' pos 5'->3' phase strand confidence 5' exon intron 3'  
481 199 0 - 0.44 CTTTGGAAAGT^GTAAGTTTTA  
164 516 1 - 0.41 ATAGTAAAAG^GTAAAAAGAG

Acceptor splice sites, direct strand

-----  
pos 5'->3' phase strand confidence 5' intron exon 3'  
300 0 + 0.23 AAAAATTCAG^GCTCTGCTGG  
651 - + 0.00 CTTTTTTCAG^ATTTCATGT

Acceptor splice sites, complement strand

-----  
pos 3'->5' pos 5'->3' phase strand confidence 5' intron exon 3'  
356 324 0 - 0.25 GTTCTACAG^GAGCATCAGG  
353 327 0 - 0.17 TCTACAGGAG^CATCAGGATT  
347 333 0 - 0.18 GGAGCATCAG^GATTCCACAA  
313 367 1 - 0.07 ACTGATGAAG^AACCAGCAGA  
307 373 1 - 0.07 GAAGAACCAG^CAGAGCCTGA

The sequence: mut has the following composition:

Length: 679 nucleotides.  
28.7% A, 13.3% C, 14.4% G, 43.6% T, 0.0% X, 27.7% G+C

Donor splice sites, direct strand

-----  
No donor site predictions above threshold.

Donor splice sites, complement strand

-----  
pos 3'->5' pos 5'->3' phase strand confidence 5' exon intron 3'  
481 199 0 - 0.44 CTTTGGAAAGT^GTAAGTTTTA  
164 516 1 - 0.41 ATAGTAAAAG^GTAAAAAGAG

Acceptor splice sites, direct strand

-----  
pos 5'->3' phase strand confidence 5' intron exon 3'  
300 0 + 0.17 AAAAATTCAG^GCTCTGCTGG  
651 - + 0.00 CTTTTTTCAG^ATTTCATGT

Acceptor splice sites, complement strand

-----  
pos 3'->5' pos 5'->3' phase strand confidence 5' intron exon 3'  
356 324 0 - 0.25 GTTCTACAG^GAGCATCAGG  
353 327 0 - 0.17 TCTACAGGAG^CATCAGGATT  
347 333 0 - 0.18 GGAGCATCAG^GATTCCACAA  
313 367 1 - 0.17 ACTGATGAAG^AACCAGCAGA  
307 373 1 - 0.07 GAAGAACCAG^CAGAGCCTGA

Se obtienen los mismos resultados para ambas secuencias, por lo que el cambio no debe estar afectando al *splicing*.

### Splice Site Prediction by Neural Network (NNSplice)

#### Donor site predictions for 89.130.114.45.3169.0 :

Start	End	Score	Exon	Intron
126	140	0.81	cctagag	gtttgtgt
253	267	0.49	tgtttga	gtgagtct
374	388	0.79	agattag	gtatatgt
542	556	0.63	tttaact	gtaaagaa

#### Donor site predictions for 89.130.114.45.3158.0 :

Start	End	Score	Exon	Intron
126	140	0.81	cctagag	gtttgtgt
253	267	0.49	tgtttga	gtgagtct
542	556	0.63	tttaact	gtaaagaa

#### Acceptor site predictions for 89.130.114.45.3169.0 :

Start	End	Score	Intron	Exon
110	150	0.89	tctgtctgtattattccct	agaggtttgtgttcaccagagt
301	341	0.53	gctctgctggttcttcatc	agtttagatagcattgatttggtg
631	671	0.94	ttggtatattacttttttc	agatttcaatgtggttactact

#### Acceptor site predictions for 89.130.114.45.3158.0 :

Start	End	Score	Intron	Exon
110	150	0.89	tctgtctgtattattccct	agaggtttgtgttcaccagagt
301	341	0.53	gctctgctggttcttcatc	agtttagatagcattgatttggtg
631	671	0.94	ttggtatattacttttttc	agatttcaatgtggttactact

Se pierde un sitio *donor* (en rojo) en la secuencia mutada. Este es en concreto el sitio *donor* del exón 15, por lo que deberá utilizar el anterior sitio *donor* (el del exón 14), lo que podría condicionar a *exón skipping*.

GENSCAN → no da resultados para este cambio

Predicted genes/exons:	Predicted genes/exons:
Gn.Ex Type S .Begin ...End .Len Fr Ph I/Ac Do/T CodRg P.... Tscr..	Gn.Ex Type S .Begin ...End .Len Fr Ph I/Ac Do/T CodRg P.... Tscr..
-----	-----
NO EXONS/GENES PREDICTED IN SEQUENCE	NO EXONS/GENES PREDICTED IN SEQUENCE

**MaxEntScan** (solo se estudia 5' por la proximidad con el cambio)

```
>wt
TTTGGGAGATTAGgtatatgtacttt      MAXENT: -7.37      MDD: -1.47      MM: -4.31      WMM: -5.49
```

La posición no es muy susceptible a cambios, dado que no se encuentra en un sitio débil de *splicing* (valores muy bajos y negativos para los diferentes indicadores).

## Spliceman

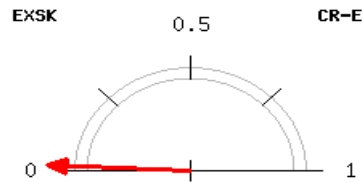
Point mutation	Wildtype (wt)	Mutation (mt)	L1 distance	Ranking (L1)
attag(g/a)tatat	gtatat	atatat	29058	68%

En el análisis de la región adyacente al cambio, se obtiene una puntuación elevada (68%) para el cambio G>A, por lo que puede estar afectando al *splicing*.

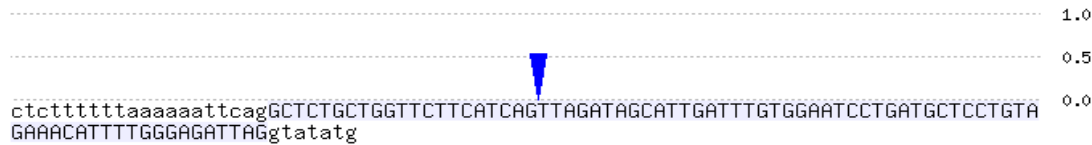
CRYP-SKIP

Results for sequence sec

Exon length (bp)	80
PESS (<=-2.62) density	1.25
NN 5'ss score density	0.00
SF2/ASF score density	0.00
FAS-ESS (hex2) density	12.50
EIE score density	246.60
Probability of cryptic splice site activation ( $P_{CR-E}$ )	0.01




>sec



Parece que hay un sitio críptico de *splicing* dentro del propio exón, aunque con muy poca probabilidad de activación, pero el cambio de interés (la primera **g** en minúsculas después de las mayúsculas, que indican el exón) no lo toma en consideración, por lo que no debe considerar que tenga algún efecto en el *splicing*.

Human Splicing Finder

Type	Interpretation
 Broken WT Donor Site	Alteration of the WT Donor site, most probably affecting splicing

Algorithm/Matix	position	sequences	variation
HSF Donor site (matrix GT)	chr17:31223565	- REF : AAGGTAAGC - ALT : AAGATAAGC	96.93 > 69.79 => -28%
MaxEnt Donor site	chr17:31223565	- REF : AAGGTAAGC - ALT : AAGATAAGC	10.22 > 2.04 => -80.04%

Se produce una mutación en el sitio *donor* de la secuencia WT, haciendo que el *splicing* se vea alterado. Al alterar un sitio *donor*, este puede dejar de utilizarse, llevando a exón *skipping*<sup>2</sup>.

2. Wimmer K, Roca X, Beiglböck H, Callens T, Etzler J, Rao AR, Krainer AR, Fonatsch C, Messiaen L (2007) Extensive in silico analysis of NF1 splicing defects uncovers determinants for splicing outcome upon 5' splice-site disruption. Hum Mutat 28(6):599–612

## SVM-BPfinder

seq_id	agez	ss_dist	bp_seq	bp_scr	y_cont	ppt_off	ppt_len	ppt_scr	svm_scr	seq_id	agez	ss_dist	bp_seq	bp_scr	y_cont	ppt_off	ppt_len	ppt_scr	svm_scr
wt	26	544	cagttagag	-3.29332663113	0.556586270872	27	15	27	-2.165481	mut	29	484	cagttagag	-3.29332663113	0.567849686848	27	15	27	-2.1618432
wt	26	538	gagtcagaa	-2.89833006643	0.559099437148	21	15	27	-1.6302195	mut	29	478	gagtcagaa	-2.89833006643	0.570824524313	21	15	27	-1.6264327
wt	26	532	gaatgatgg	0.625970548719	0.563567362429	15	15	27	0.13094365	mut	29	472	gaatgatgg	0.625970548719	0.576017130621	15	15	27	0.13496457
wt	26	523	gaataaaaat	-0.951366120865	0.569498069498	6	15	27	0.084942132	mut	29	463	gaataaaaat	-0.951366120865	0.582969432314	6	15	27	0.089292988
wt	26	518	aaatgatttt	-1.05449072678	0.573099415205	1	15	27	0.36221874	mut	29	458	aaatgatttt	-1.05449072678	0.587196467991	1	15	27	0.36677167
wt	26	513	attttatttc	-1.71390654969	0.570866141732	1	10	18	0.01390654969	mut	29	453	attttatttc	-1.71390654969	0.584821428571	1	10	18	0.023969518
wt	26	499	gtattatttc	-2.71726068681	0.566801619433	12	12	18	-1.0709924	mut	29	439	gtattatttc	-2.71726068681	0.58064516129	12	12	18	-1.0665214
wt	26	478	tggtcacca	1.13991097262	0.564482029598	7	23	53	1.0810696	mut	29	418	tggtcacca	1.13991097262	0.578692493947	7	23	53	1.0856591
wt	26	458	tttttacct	-1.4022471159	0.556291390728	1	9	19	0.14610042	mut	29	398	tttttacct	-1.4022471159	0.569974554707	1	9	19	0.15051967
wt	26	451	cttttacta	-2.5719692367	0.551569506726	29	11	20	-2.0764633	mut	29	391	cttttacta	-2.5719692367	0.564766839378	29	11	20	-2.0722009
wt	26	440	tattgaaac	-0.171515038984	0.551724137931	18	11	20	-0.44024053	mut	29	380	tattgaaac	-0.171515038984	0.565333333333	18	11	20	-0.43584517
wt	26	428	aaatgaaag	-1.35512054508	0.557919621749	6	11	20	-0.14209721	mut	29	368	aaatgaaag	-1.35512054508	0.573002754821	6	11	20	-0.1372258
wt	26	419	agctcaatt	-0.672308691496	0.562801932367	2	6	17	0.3520785	mut	29	359	agctcaatt	-0.672308691496	0.579096045198	2	6	17	0.35734101
wt	26	411	ttcttagca	-1.37452504514	0.559113300493	55	25	64	-2.84103	mut	29	351	ttcttagca	-1.37452504514	0.575144508671	55	25	64	-2.8358524
wt	26	404	catttataa	-3.43528852024	0.558897243108	48	25	64	-3.2048978	mut	29	344	catttataa	-3.43528852024	0.575221238938	48	25	64	-3.1996257
wt	26	401	ttataaaaat	-1.64220173827	0.560606060606	45	25	64	-2.3123728	mut	29	341	ttataaaaat	-1.64220173827	0.577380952381	45	25	64	-2.306955
wt	26	396	aaataagta	-1.7704608476	0.565217391304	40	25	64	-2.0446114	mut	29	336	aaataagta	-1.7704608476	0.583081570997	40	25	64	-2.0388418
wt	26	382	gtgttatgt	-2.08548191202	0.564986737401	26	25	64	-1.281855	mut	29	322	gtgttatgt	-2.08548191202	0.583596214511	26	25	64	-1.2758447
wt	26	376	tggttacca	-0.856846062567	0.563342318059	20	25	64	-0.42152715	mut	29	316	tggttacca	-0.856846062567	0.581993569132	20	25	64	-0.41550334
wt	26	362	gttttgagt	-0.963812446041	0.56862745098	6	25	64	0.42447388	mut	29	302	gttttgagt	-0.963812446041	0.589225589226	6	25	64	0.43112647
wt	26	358	gagtgagtc	-0.395835473586	0.57223796034	2	25	64	0.90122309	mut	29	298	gagtgagtc	-0.395835473586	0.59385665529	2	25	64	0.90820529
wt	26	331	tttttaaaaa	-4.88295649111	0.546012269939	12	18	28	-1.8325206	mut	29	271	tttttaaaaa	-4.88295649111	0.563909774436	12	18	28	-1.8267403
wt	26	330	tttttaaaaa	-1.98390511134	0.547692307692	11	18	28	-0.6336405	mut	29	270	tttttaaaaa	-1.98390511134	0.566037735849	11	18	28	-0.62763902
wt	26	322	aattcaggc	-1.66747183673	0.552050473186	3	18	28	-0.0018713694	mut	29	262	aattcaggc	-1.66747183673	0.571984435798	3	18	28	0.0045667077
wt	26	304	tcctcatca	-1.29719370536	0.545150501672	34	9	14	-1.9517882	mut	29	244	tcctcatca	-1.29719370536	0.564853556485	34	9	14	-1.9454247
wt	26	301	tcacacagtt	-2.81303679314	0.543918918919	31	9	14	-2.3558152	mut	29	241	tcacacagtt	-2.81303679314	0.563559322034	31	9	14	-2.3494719
wt	26	297	cagttagat	-3.37861995263	0.544520547945	27	9	14	-2.3239585	mut	29	237	cagttagat	-3.37861995263	0.564655172414	27	9	14	-2.3174556
wt	26	286	cattgatttt	0.0540481574368	0.551601423488	16	9	14	-0.28125994	mut	29	226	cattgatttt	0.0540481574368	0.574660633484	16	9	14	-0.27381248
wt	26	271	tcctgatgc	2.60973824561	0.552631578947	1	9	14	1.6692211	mut	29	211	tcctgatgc	2.60973824561	0.577669902913	1	9	14	1.6773077
wt	26	242	agattaggt	-4.17453333754	0.561181434599	9	14	31	-1.3323978	mut	29	182	agattaggt	-4.17480496831	0.593220338903	9	14	31	-1.3115846
wt	26	226	cttttatttt	-4.16552108921	0.561085972851	1	6	18	-0.94361932	mut	29	166	cttttatttt	-4.16552108921	0.596273291925	1	6	18	-0.93225485
wt	26	219	tttttaaaat	-4.38621696754	0.551401869159	3	10	18	-1.1597566	mut	29	159	tttttaaaat	-4.38621696754	0.584415584416	3	10	18	-1.1490941
wt	26	218	tttttaaaat	-1.50013025492	0.553990610329	2	10	18	0.034417252	mut	29	158	tttttaaaat	-1.50013025492	0.588235294118	2	10	18	0.04547729
wt	26	213	aattcaact	-0.972857079582	0.552884615385	10	22	45	-0.014346312	mut	29	153	aattcaact	-0.972857079582	0.587837837838	10	22	45	-0.0030574616
wt	26	206	cttttaaaat	-4.21153155808	0.547263681592	3	22	45	-0.84116764	mut	29	146	cttttaaaat	-4.21153155808	0.581560283688	3	22	45	-0.83009085
wt	26	205	tttttaaaat	-1.50013025492	0.55	2	22	45	0.28465622	mut	29	145	tttttaaaat	-1.50013025492	0.585714285714	2	22	45	0.29619088
wt	26	199	attttatttt	-4.80365335808	0.546391752577	1	17	35	-1.0398547	mut	29	139	attttatttt	-4.80365335808	0.582089552239	1	17	35	-1.0283253
wt	26	180	tccttgaat	-1.30579471607	0.525714285714	36	11	18	-2.0507665	mut	29	120	tccttgaat	-1.30579471607	0.55652173913	36	11	18	-2.0408166
wt	26	173	atattaaact	-2.89520397162	0.529761904762	29	11	18	-2.2286999	mut	29	113	atattaaact	-2.89520397162	0.564814814815	29	11	18	-2.2173788
wt	26	172	tattaaactc	1.79241327146	0.532934131737	28	11	18	-0.32895331	mut	29	112	tattaaactc	1.79241327146	0.570093457944	28	11	18	-0.31695194
wt	26	158	tacttagta	-2.07512337945	0.522875816993	14	11	18	-0.9603487	mut	29	98	tacttagta	-2.07512337945	0.559139784946	14	11	18	-0.94863651
wt	26	147	ttgtaaaac	-0.0933739458788	0.528169014085	3	11	18	0.51359092	mut	29	87	ttgtaaaac	-0.0933739458788	0.573170731707	3	11	18	0.52812515
wt	26	141	aacttacac	0.14061016216	0.529411764706	13	6	13	-0.073954304	mut	29	81	aacttacac	0.14061016216	0.578947368421	13	6	13	-0.057955768
wt	26	124	gttttatgg	-3.1384501241	0.521008403361	4	15	30	-0.63252118	mut	29	64	gttttatgg	-3.1384501241	0.576271186441	4	15	30	-0.61467294
wt	26	109	attttatttt	-4.80365335808	0.5	22	11	27	-2.4586293	mut	29	49	attttatttt	-4.80365335808	0.545454545455	22	11	27	-2.4439488
wt	26	104	atttgacct	0.167020212702	0.494949494949	17	11	27	-0.19751529	mut	29	44	atttgacct	0.167020212702	0.538461538462	17	11	27	-0.18346217
wt	26	99	acttcaaat	-2.67584836905	0.478723404255	12	11	27	-0.99938169	mut	29	39	acttcaaat	-2.67584836905	0.5	12	11	27	-0.99250998
wt	26	94	aaatattata	-3.31179875007	0.483146067416	7	11	27	-0.93046631	mut	29	34	aaatattata	-3.31179875007	0.51724137931	7	11	27	-0.91945453
wt	26	91	ttattagaa	-4.12943490215	0.476744186047	4	11	27	-1.0627822	mut	29	31	ttattagaa	-4.12943490215	0.5	4	11	27	-1.0552713
wt	26	76	gttttaact	-3.55202727953	0.43661971831	57	12	22	-4.251049	mut	29	16	gttttaact	-3.55202727953	0.272727272727	11	0	0	-1.5972073
wt	26	75	ttttaactg	1.09516175821	0.442857142857	56	12	22	-2.366142	mut	29	15	ttttaactg	1.09516175821	0.3	10	0	0	0.29449349

El único cambio que existe es el referente al propio sitio *donor* en el que se encuentra la mutación. Este sitio *donor* sigue teniendo una puntuación negativa, por lo que es poco probable que afecte al *splicing*.

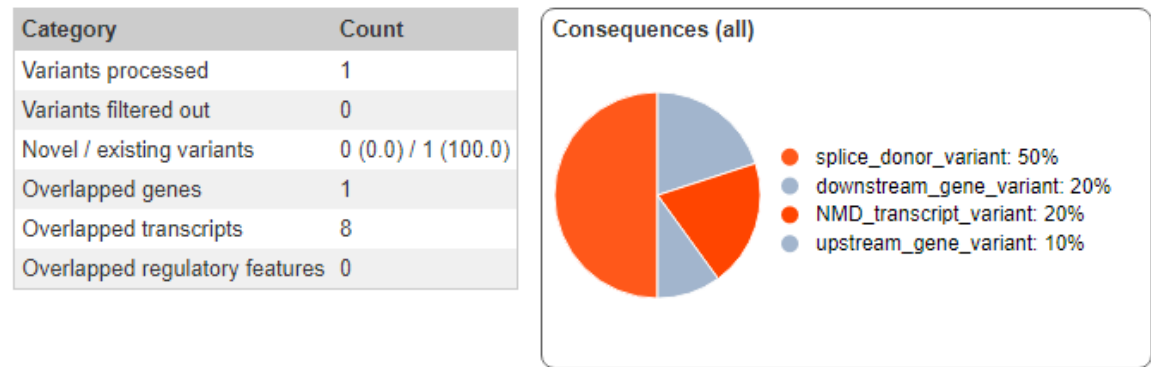
IntSplice

SNV at chr17:29548948 can't be predicted by IntSplice.

Prediction shows either Abnormal or Normal.

Prediction	Genomic Mutation	Ensembl 64 Transcript ID and Exon No.
------------	------------------	---------------------------------------

Variant Effect Predictor tool



En un 50% de los resultados, nos indican que es una variante que está afectando al sitio *donor* del *splicing* y un 20% de ellos que está implicada en el NMD o *non-sense mediated decay* (fenómeno que consiste en evitar la producción de proteínas truncadas con efectos deletéreos<sup>3</sup>). Por lo tanto, si está afectando al sitio *donor*, es muy probable que dicha mutación haga que el sitio de *splicing* normal no se pueda utilizar, lo que hace que se pierda un exón en el mRNA<sup>2</sup>, lo que conducirá a la activación de NMD para degradar el transcrito generado incorrectamente.

3. Hug, N.; Longman, D.; & Cáceres, J. F. (2015). Mechanism and regulation of the nonsense-mediated decay pathway. *Nucleic Acids Research*, 44(4), 1483–1495.

Uploaded variant	Location	Allele	Consequence	Symbol	Gene	Feature type	Feature	Biotype
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	splice_donor_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000356175.7</a>	protein_coding
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	splice_donor_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000358273.9</a>	protein_coding
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	downstream_gene_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000431387.8</a>	protein_coding
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	splice_donor_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000456735.6</a>	protein_coding
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	downstream_gene_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000487476.5</a>	protein_coding
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	upstream_gene_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000493220.5</a>	retained_intron
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	splice_donor_variant, NMD_transcript_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000495910.6</a>	nonsense_mediated_decay
ENST00000358273.4:c.1845+1G>A	<a href="#">17:31223568-31223568</a>	A	splice_donor_variant, NMD_transcript_variant	NF1	<a href="#">ENSG00000196712</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000579081.5</a>	nonsense_mediated_decay

## ESEfinder

105 (-44)	ATTTTGGGAGATTAGgtatatgtactttta	3.47320	105 (-44)	ATTTTGGGAGATTAGgtatatgtactttta	-1.83070	105 (-44)	ATTTTGGGAGATTAGgtatatgtactttta	2.68240	105 (-44)	ATTTTGGGAGATTAGgtatatgtactttta	-2.17490	105 (-44)	ATTTTGG	-8.19320
--------------	--------------------------------	---------	--------------	--------------------------------	----------	--------------	--------------------------------	---------	--------------	--------------------------------	----------	--------------	---------	----------

La posición de interés no aparece como el mejor resultado del buscador, pero, cuando se buscan todas las secuencias, se obtiene una puntuación positiva para las matrices de 5'SS en un único resultado (el mostrado en la imagen) por lo que esta deberá ser la región que produzca este sitio de *splicing*. Si se hace la búsqueda para la secuencia mutada, no aparece ningún resultado positivo con la posición de interés. Por lo tanto, se está perdiendo el sitio *donor*, afectando el *splicing*.



EX-SKIP

EX-SKIP - Results for submitted sequences

Seq	PESS (count)	FAS-ESS hex2 (count)	FAS-ESS hex3 (count)	IIE (count)	IIE (sum)	NI-ESS trusted (count)	NI-ESS all (sum)	PESE (count)	RESCUE -ESE (count)	EIE (count)	EIE (sum)	NI-ESE trusted (count)	NI-ESE all (sum)	ESS (total)	ESE (total)	ESS/ESE (ratio)
wt	0	7	3	34	532.8639	12	-18.3283	10	8	18	197.2802	29	36.0750	56	65	0.86

Allele wt has a higher chance of exon skipping than allele .

HOT-SKIP

```
>sec
tttgtttcttaaagcagtttttacagttatatattgttccgaattcatcatttagctttatatgtacatgccagtttagag
tcagaatgatgggaataaaatgatttcattctgtctgtattattccctagaggtttggttcaccagagtttctctcttt
ttaccttttactatatattgaaactacaaatgaaagagctcaatttcttagcatttataaaataagtactccagtggtat
gtttacaaaaaatgtttgagtgagtccttctctttgtctttctctttttaaaaaattcagGCTCTGCTGGTTTTCATCA
GTTAGATAGCATTGATTTGTGGAATCCTGATGCTCCTGTAGAAACA TTTTGGGAGATTAGgtatatgtacttttatttt
taaattcaactttttaaaattttattttgtattttgtcttgaaatattaactctgtagtacttagtacattgtaaaactta
cacttccaaaggttttatggttttgtattttatttgacttcaaattattagaatttcttgttttaactgtaagaaaagta
tcacagcaatttagaaaataaattttaagaatagtctaaattttgtcacccctaacataagtactgttggttggtatatt
acttttttcagatttcaatgtggttactactgtattttta
```

No da resultados para mutaciones intrónicas.

Mutation(s) E+70T>G, E+74A>G and E+13C>G have the highest probability of exon skipping.