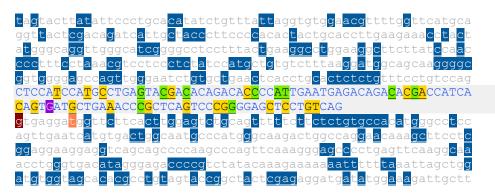
Ejemplo comparación de resultados predictores in sillico

Cambio de estudio PTPRT c.1865+1G>T (chr 20:42350627 G/T, COSV100625964 o NM_007050.6: c.1865+1G>T)

Exón 11 e intrones adyacentes:



El cambio se encuentra en la primera posición justo después del exón 11 (la **g** en color granate).

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	sites, direct	stran	d -			Donor splice	sites, direct	strand	1		
	pos 5'->3' 404 535	phase 2 0	strand + +	confidence 0.93 0.45	5' exon intron 3' CTCCTGTCAG^GTGAGGATGG H GAGGAAGGAGGAG^GTCAGCC		pos 5'->3' 535	phase 0	strand +	confidence 0.44	5' exon intron 3' GAGGAAGGAG^GTCAGCAGCC
D	-14					Donor splice	sites, comple	ement st	rand		
Donor splice	sites, comple	ement s	trand			nos 21-151	pos 5'->3'	nhaca	ctood	confidence	5' exon intron 3'
pos 3'->5' 276	pos 5'->3' 428	phase 1	strand -	confidence 0.99	5' exon intron 3' GAGAGTGCAG^GTGAGTTCAG H	276	428	1	-	0.99	GAGAGTGCAG^GTGAGTTCAG H
						Acceptor spli	ce sites, dir	ect str	and		
Acceptor spli	ice sites, di	rect st	rand								
							pos 5'->3'	phase	strand	confidence	
	pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' intron exon 3'		36	2	+	0.00	TGTTTATTAG^GTGTGGAACG
	36	2	+	0.00	TGTTTATTAG^GTGTGGAACG		300	1	+	0.76	TCCTGTCCAG^CTCCATCCAT
	300	1	+	0.76	TCCTGTCCAG^CTCCATCCAT		317	0	+	0.34	CATGCCTGAG^TACGACACAG
	317	0	+	0.34	CATGCCTGAG^TACGACACAG		327	1	+	0.20	TACGACACAG^ACACCCCATT
	327	1	+	0.25	TACGACACAG^ACACCCCATT		465	0	+	0.18	GGGCCTCCAG^TTGAATCATG
	465	0	+	0.18	GGGCCTCCAG^TTGAATCATG						
						Acceptor spli	ce sites, com	nplement	strand		
Acceptor spli	ce sites, cor	nplemen	t strand								
						pos 3'->5'	pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' intron exon 3'
pos 3'->5'	pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' intron exon 3'	397	307	1	-	0.15	CAACTGACAG^GAGCTCCCCG
397	307	1	-	0.33	CACCTGACAG^GAGCTCCCCG	313	391	1	-	0.33	TCGTACTCAG^GCATGGATGG
313	391	1	-	0.30	TCGTACTCAG^GCATGGATGG						

Se está perdiendo un sitio donor (en azul) que se detectaba en la secuencia WT y no se predice en la secuencia mutante. Este coincide con el sitio donor del exón, por lo que se van a producir cambios en el splicing, bien saltándose el exón completo o bien (en el caso de que se empleara el acceptor normal y el otro sitio donor predicho) se incluirían 131 pares de bases en la secuencia del mensajero.

Splice Site Prediction by Neural Network (NNSplice)

Donor site predictions for wt:

Start	End	Score	Exon Intron
55	69	0.54	catgcag gt tactcg
397	411	0.99	ctgtcag gt gaggat
528	542	0.53	gaaggag gt cagcag

Acceptor site predictions for wt:

Start	End	Score	Intron	Exon
16	56	0.74	ctgcacatatctg	tttatt ag gtgtggaacgttttggttca
204	244	0.71	tatccatgctgtg	tcttta ag gatggcagcaaggggcggtg
280	320	0.97	cactctctgtttc	ctgtcc ag ctccatccatgcctgagtac

Donor site predictions for mut:

Start	End	Score	Exon	Intron
55	69	0.54	catgo	ag gt tactcg
528	542	0.53	gaagga	ag gt cagcag

Acceptor site predictions for mut:

Start	End	Score	Intron	Exon
16	56	0.74	ctgcacatatct	gtttatt ag gtgtggaacgttttggttca
204	244	0.71	tatccatgctgtg	gtcttta ag gatggcagcaaggggcggtg
280	320	0.97	cactctctgttt	cctgtcc ag ctccatccatgcctgagtac

Se está perdiendo un sitio *donor* (en azul) que se detectaba en la secuencia WT y no se predice en la secuencia mutante. Este coincide con el sitio *donor* del exón, por lo que se van a producir cambios en el *splicing*, bien saltándose el exón completo o bien (en el caso de que se empleara el *acceptor* normal y el siguiente sitio *donor* predicho) se incluirían 131 pares de bases en la secuencia del mensajero.

Spliceman

Point mutation	Wildtype (wt)	Mutation (mt)	L1 distance	Ranking (L1)
gtcag(g/t)tgagg	caggtg	cagttg	29806	73%

Human Splicing Finder

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

Algorithm/Matix	position	sequences	variation
HSF Donor site (matrix GT)	chr20:42350630	- REF : CAGGTGAGG - ALT : CAGTTGAGG	94.56 > 67.42 => -28.7%
MaxEnt Donor site	chr20:42350630	- REF : CAGGTGAGG - ALT : CAGTTGAGG	10.07 > 1.56 => -84.51%

SVM-BPfinder

seq_id	agez	ss_dist	bp_seq bp_scr	y_cont ppt_off	ppt_len ppt_scr	svm_scr			
wt	16	65	ccatcacag	-0.902916729791	0.5 60	0	0	-3.58817	706
wt	16	59	cagtgatgc	1.56505381791	0.518518518519	54	0	0	-2.2360726
wt	16	53	tgctgaaac	1.5325273915	0.520833333333	48	0	0	-1.8682707
wt	16	43	cgctcagtc	1.55421593035	0.5 38	0	0	-1.23352	24
wt	16	23	ctgtcaggt	-2.25471015424	0.44444444444	18	0	0	-1.476875
wt	16	18	<mark>aggtgagga</mark>	-2.33930154855	0.538461538462	13	0	0	-1.163140 ₁
mut	16	65	ccatcacag	-0.902916729791	0.516666666667	60	0	0	-3.5827878
mut	16	59	cagtgatgc	1.56505381791	0.537037037037	54	0	0	-2.2300917
mut	16	53	tgctgaaac	1.5325273915	0.541666666667	48	0	0	-1.8615422
mut	16	43	cgctcagtc	1.55421593035	0.526315789474	38	0	0	-1.2250248
mut	16	23	ctgtcagtt	-1.86300009501	0.5 18	0	0	-1.30555	92
mut	16	18	agttgagga	-2.4030353825	0.538461538462	13	0	0	-1.1880949

Se producen cambios en los dos BP debido a la presencia de la mutación que aumentan el score pero este sigue siendo negativo, por lo tanto no se van a tener en cuenta.

Variant Effect Predictor tool

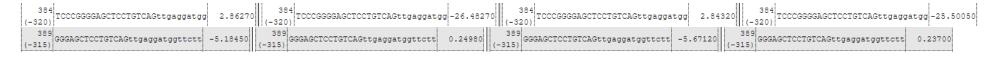
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000356100.6	protein_coding	-	-	-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000373184.5	protein_coding	-	-	-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000373187.5	protein_coding	-		-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000373190.5	protein_coding	-		-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000373193.7	protein_coding	-	-	-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000373198.8	protein_coding	-		-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000373201.5	protein_coding	-	-	-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000612229.4	protein_coding	-		-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A 42350627	splice_donor_variant, NWD_transcript_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000617474.1	nonsense_mediated_decay	-		-	-	-	-	COSV100625964
ENST00000373193.7:c.1865+1G>T	20:42350627- A	splice_donor_variant	PTPRT	ENSG00000196090 Transcript	ENST00000618610.1	protein_coding	-	-	-	-	-	-	COSV100625964

ESEfinder

Se encuentran dos predicciones con puntuaciones positivas: una solo para las matrices 5' (384) y una con puntuaciones positivas para todas las matrices (389).

384 (-320) TCCCGGGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatgg 1.91450	384 TCCCGGGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatgg -25.95170	384 (-320) TCCCGGGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatgg 1.865	10 384 TCCCGGGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatgg -24.99210
389	389	389	389
(-315) GGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatggttctt 11.82000	(-315) GGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatggttctt 2.94240	(-315) GGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatggttett 11.67660	(-315) GGGAGCTCCTGTCAGgtgaggatggttctt 2.84820

Si comparamos estas puntuaciones con las de la secuencia mutante, se observa que las puntuaciones para 384 han aumentado, mientras que para 389 disminuido en todas las matrices.



Por lo tanto, lo más probable es que se esté perdiendo un donor en la secuencia mutante, ya que la puntuación de 389 en 5' disminuye en casi 17 puntos.