

## Ejemplo comparación de resultados predictores in silico

Cambio de estudio OR10H2 c.612T>C (chr19:15728655 T/C, COSV59947296 o NM\_013939.2:c.612T>C)

Exón 1 e intrones adyacentes:

```
gcagaaaagcaagggtgtaggtgggtggtgcatggatcctaataatcgtgatggcaataacaa
tagcagaataattattactatcaacatttataatttattaaattcttactttgtgtcagg
acctgcaaaaagcacttaaggtagtgatcttattttaaaccctaatacattattattaat
gcctttctgcagatggagtaaccatggccttgacagatgaaggaggcgctctcagatgtc
ctccagggcagggaatcactagacaccccacatgctcctaaccactgggtcttctttcctct
CTTCCCCAACTAGGGGTGGCGTCATGCTGGGCTAAACCACACCTCCATGTCTGAATTC
ATCCTCGTGGCCTTCTGCTTCCCCACCTCCAACTGATGCTCTTCTGCTGTTCCTG
CTGATGTACCTGTTACGCTGCTGGCAACCTGCTCATCATGCGCACCGTCTGGAGCGAG
CGCAGCCTCCACACGCCCATGTACTCTTCCCTGTGCGTCTCTCAGTCTCCGAGATCCTC
TACACCGTGCCATCATCCCGCGCATGCTGGCCGACCTGCTGTCCACCAGCGCTCCATC
GCCTTCCCTGGCCTGTGCTCAGTCAATGTTCTTCTCCTTCAGCTTGGCTTCACCCACTCC
TTCCCTGCTACCGTCTATGGGCTACGACCGCTACGTGGCCTATCTGCCACCCCTGCGCTAC
AACGTGCTCATGAGCCACGGGGCTGGCCTGCTGTGGGCTGCTCCTGGGCTGTGGC
TCGGTCATGGGGATGGTGGTGACCTCGGCCATTTTCAACTGACTTCTGTGGATCCCAT
GAGATCCAGCATTTTTTTATGTCACTGTGCCACCTCTGTTGAAGTTGGCTGTGGAAATAAT
GTACCAGCTGTGGCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGTATCATGGCACTGCTGGGCTGTTTT
CTCCTCATCTCCTCTCCTATGCCTTCATCGTGGCCGACATCTGAAGATCCCTTCTGCT
GAAGGTGGAAAGAGCCTTCTCCACCTGTGCTCTCACCTTATTGTGGTCAATTGTGCAC
TATGGCTTTGCTCTGTCTATCTACCTCAAGCCCAAAGGTCCCACTCTCAGGAGGGTGAC
ACCTTGATGGCCACCACCTACGCACTCTCACGCCCTTCCTCAGCCCCATCATCTTCAGC
CTCAGGAACAAAGAAGTGAAGGTGCCATGAAGAGGACCTTCCTCAGCACACTCTATTCC
TCAGGCACCTGAGTAGCTGGTGTGGAAAGTGTGATAGAATAAGATAGGAGGATGACCATC
ACCTTGTCTGCACAGTGTGGC
tagtaattgcttaccttgtaaggcaggtgtaaaagattttctgtatatgacaaactcatcac
atagtaggtgtcagtaaatgttaaagcatgttttacttccacaactcttgatctgtatg
tctttatctgagtttttaatttttgagttatagtagcttttattaagatgtaattcacctac
catacaatgtaccattagagcgacatttctgtggtttttgctattcagagttatgca
accatcatgacaatctggcttagagtagtttttagtcatccaaaaagaaaacccaatccta
```

El cambio se encuentra en la línea 11 del exón 7 (la **t** 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 (no cambios)

### Donor splice sites, direct strand

pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	exon	intron	3'
141	1	+	0.54	AGCACTTAAG		GTGAGTGATC	

### Donor splice sites, complement strand

pos 3'→5'	pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	exon	intron	3'
1521	121	2	-	0.36	ACATTGTATG		GTAGGTGAAT	
1354	288	2	-	0.46	GCCTTACAAG		GTAAGCATT	
1161	481	0	-	0.70	TGAGGACTGC		GTAGGTGGTG	
1059	583	0	-	0.83	CCACAATAAG		GTGAGAGGCA	
671	971	1	-	0.34	GCCCATGACG		GTGAGCAGGA	
504	1138	2	-	0.45	ACAGGAAGAG		GTACATGGGC	
429	1213	2	-	0.58	GCGTGAACAG		GTACATCAGC	
344	1298	1	-	0.71	AGACATGGAG		GTGTGGTTTA	
109	1533	1	-	0.34	CTGACACAAA		GTAAGAATTT	

### Acceptor splice sites, direct strand

pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	intron	exon	3'
119	2	+	0.43	TTTGTGTGCT		GACCTGCACA	
313	1	+	0.97	CCCCAACTAG		GGGTGGCCGT	
641	2	+	0.27	TCTCCTTCAG		CTTCGGCTTC	
882	0	+	0.19	TCTGTTGAAG		TTGGCCTGTG	
907	1	+	0.18	AATGTACCAG		CTGTGGCCCT	
1205	2	+	0.33	TCAGCCTCAG		GAAACAAAGAA	

### Acceptor splice sites, complement strand

pos 3'→5'	pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	intron	exon	3'
1291	351	2	-	0.21	ATTCTATCAG		CACCTCCACA	
1277	365	1	-	0.47	TCCACACCAG		CTACTCAGGT	
1269	373	0	-	0.18	AGCTACTCAG		GTGCCTGAGG	
1260	382	0	-	0.18	GGTGCCTGAG		GAATAGAGTG	
1254	388	0	-	0.18	TGAGGAATAG		AGTGTGCTGA	
1252	390	0	-	0.18	AGGAATAGAG		TGTGCTGAGG	
1243	399	0	-	0.18	GTGTGCTGAG		GAAGTCTCTC	
1239	403	1	-	0.18	GCTGAGGAAG		GTCTCTTTCA	
1216	426	0	-	0.18	CAACCTTCAG		TTCTTTGTTC	
1019	623	2	-	0.18	CGACCTTCAG		CAGAAGGGAT	
1016	626	2	-	0.35	CCTTCAGCAG		AAGGGATCTT	
1013	629	2	-	0.18	TCAGCAGAAG		GGATCTTCAA	
1002	640	1	-	0.07	GATCTTCAAG		ATGTGCGCCA	
888	754	2	-	0.33	ATTTCCACAG		GCCCACTTCA	
828	814	0	-	0.17	GGATCCACAG		AAAGTCAGTT	
824	818	1	-	0.07	CCACAGAAAG		TCAGTTGGAA	
820	822	2	-	0.07	AGAAAAGTCAG		TTGGAAAATG	
804	838	0	-	0.07	AATGGCCGAG		GTCAACACCA	
780	862	0	-	0.07	CATGACCCAG		CCACAGCCCC	
773	869	1	-	0.07	GAGCCACCCAG		CCCAGGAGCA	
768	874	1	-	0.07	ACCAGCCCAG		GAGCAGGCCA	
727	915	0	-	0.07	GGCTCATGAG		CACGTTGTAG	
717	925	1	-	0.17	CACGTTGTAG		CGCAGGGGGT	
712	930	0	-	0.18	TGTAGCGCAG		GGGGTGGCAG	
702	940	1	-	0.18	GGGGTGGCAG		ATGGCCACGT	
123	1519	2	-	0.26	CTTTGTGCAG		GTCTGACAC	

### Donor splice sites, direct strand

pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	exon	intron	3'
141	1	+	0.54	AGCACTTAAG		GTGAGTGATC	

### Donor splice sites, complement strand

pos 3'→5'	pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	exon	intron	3'
1521	121	2	-	0.36	ACATTGTATG		GTAGGTGAAT	
1354	288	2	-	0.46	GCCTTACAAG		GTAAGCATT	
1161	481	0	-	0.70	TGAGGACTGC		GTAGGTGGTG	
1059	583	0	-	0.83	CCACAATAAG		GTGAGAGGCA	
671	971	1	-	0.34	GCCCATGACG		GTGAGCAGGA	
504	1138	2	-	0.45	ACAGGAAGAG		GTACATGGGC	
429	1213	2	-	0.58	GCGTGAACAG		GTACATCAGC	
344	1298	1	-	0.71	AGACATGGAG		GTGTGGTTTA	
109	1533	1	-	0.34	CTGACACAAA		GTAAGAATTT	

### Acceptor splice sites, direct strand

pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	intron	exon	3'
119	2	+	0.43	TTTGTGTGCT		GACCTGCACA	
313	1	+	0.97	CCCCAACTAG		GGGTGGCCGT	
641	2	+	0.27	TCTCCTTCAG		CTTCGGCTTC	
882	0	+	0.19	TCTGTTGAAG		TTGGCCTGTG	
907	1	+	0.18	AATGTACCAG		CTGTGGCCCT	
1205	2	+	0.33	TCAGCCTCAG		GAAACAAAGAA	

### Acceptor splice sites, complement strand

pos 3'→5'	pos 5'→3'	phase	strand	confidence	5'	intron	exon	3'
1291	351	2	-	0.21	ATTCTATCAG		CACCTCCACA	
1277	365	1	-	0.47	TCCACACCAG		CTACTCAGGT	
1269	373	0	-	0.18	AGCTACTCAG		GTGCCTGAGG	
1260	382	0	-	0.18	GGTGCCTGAG		GAATAGAGTG	
1254	388	0	-	0.18	TGAGGAATAG		AGTGTGCTGA	
1252	390	0	-	0.18	AGGAATAGAG		TGTGCTGAGG	
1243	399	0	-	0.18	GTGTGCTGAG		GAAGTCTCTC	
1239	403	1	-	0.18	GCTGAGGAAG		GTCTCTTTCA	
1216	426	0	-	0.18	CAACCTTCAG		TTCTTTGTTC	
1019	623	2	-	0.18	CGACCTTCAG		CAGAAGGGAT	
1016	626	2	-	0.34	CCTTCAGCAG		AAGGGATCTT	
1013	629	2	-	0.18	TCAGCAGAAG		GGATCTTCAA	
1002	640	1	-	0.17	GATCTTCAAG		ATGTGCGCCA	
888	754	2	-	0.33	ATTTCCACAG		GCCCACTTCA	
828	814	0	-	0.17	GGATCCACAG		AAAGTCAGTT	
824	818	1	-	0.07	CCACAGAAAG		TCAGTTGGAA	
820	822	2	-	0.07	AGAAAAGTCAG		TTGGAAAATG	
804	838	0	-	0.07	AATGGCCGAG		GTCAACACCA	
780	862	0	-	0.07	CATGACCCAG		CCACAGCCCC	
773	869	1	-	0.07	GAGCCACCCAG		CCCAGGAGCA	
768	874	1	-	0.07	ACCAGCCCAG		GAGCAGGCCA	
727	915	0	-	0.07	GGCTCATGAG		CACGTTGTAG	
717	925	1	-	0.17	CACGTTGTAG		CGCAGGGGGT	
712	930	0	-	0.18	TGTAGCGCAG		GGGGTGGCAG	
702	940	1	-	0.18	GGGGTGGCAG		ATGGCCACGT	
123	1519	2	-	0.26	CTTTGTGCAG		GTCTGACAC	

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

#### Donor site predictions for 85.53.81.31.7591.0 :

Start	End	Score	Exon	Intron
134	148	1.00	acttaag	gtgagtga
494	508	0.42	cgcccat	gtacctct
924	938	0.89	gggcttg	gtatgtat
1351	1365	0.74	ttacctt	gtaaggca

#### Donor site predictions for 85.53.81.31.7645.0 :

Start	End	Score	Exon	Intron
134	148	1.00	acttaag	gtgagtga
494	508	0.42	cgcccat	gtacctct
1351	1365	0.74	ttacctt	gtaaggca

#### Acceptor site predictions for 85.53.81.31.7591.0 :

Start	End	Score	Intron	Exon
99	139	0.53	taaattcttactttgtgtc	agacactgcacaaagcacttaa
172	212	0.74	attattaatgcctttctgc	agatggagtaaccatggcttgg
227	267	0.85	cgctctcagatgtcctccc	aggcaggaatcactagacaccc
293	333	0.77	tttcctctcttcccaact	agggggtggccgtcatgctgggg
506	546	0.80	tcttcctgtgcgtcctctc	agtctccgagatcctctacacc
621	661	0.94	tcagatgttcttctccttc	agcttcggcttcacccactcct
1004	1044	0.61	tgaagatcccttctgctga	aggtcgggaacaaggccttctcc
1111	1151	0.67	cccaaagggtcccaactctc	aggaggggtgacaccctgatggc
1185	1225	0.85	ccccatcatcttcagcctc	aggaaacaaagaactgaaggttg
1244	1284	0.79	tcagcacactctattcctc	aggcacctgagtagctggtgtg
1552	1592	0.57	ctgtgggtttttgcgtattc	agagttatgcaaccatcatgac

#### Acceptor site predictions for 85.53.81.31.7645.0 :

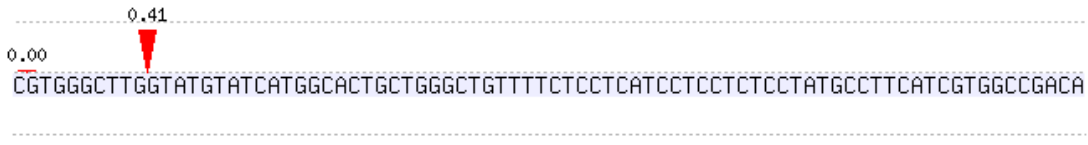
Start	End	Score	Intron	Exon
99	139	0.53	taaattcttactttgtgtc	agacactgcacaaagcacttaa
172	212	0.74	attattaatgcctttctgc	agatggagtaaccatggcttgg
227	267	0.85	cgctctcagatgtcctccc	aggcaggaatcactagacaccc
293	333	0.77	tttcctctcttcccaact	agggggtggccgtcatgctgggg
506	546	0.80	tcttcctgtgcgtcctctc	agtctccgagatcctctacacc
621	661	0.94	tcagatgttcttctccttc	agcttcggcttcacccactcct
1004	1044	0.61	tgaagatcccttctgctga	aggtcgggaacaaggccttctcc
1111	1151	0.67	cccaaagggtcccaactctc	aggaggggtgacaccctgatggc
1185	1225	0.85	ccccatcatcttcagcctc	aggaaacaaagaactgaaggttg
1244	1284	0.79	tcagcacactctattcctc	aggcacctgagtagctggtgtg
1552	1592	0.57	ctgtgggtttttgcgtattc	agagttatgcaaccatcatgac

Desaparece un sitio *donor* de la secuencia WT a la mutante. Este sitio se encuentra coincidiendo con la región donde está la mutación, pero, como está dentro del exón y no participa de normal en el *splicing* del mRNA, por lo que la mutación no estará afectando al *splicing*.

Spliceman

Point mutation	Wildtype (wt)	Mutation (mt)	L1 distance	Ranking (L1)
gtatg(t/c)atcat	gtatgt	gtatgc	27979	61%

CRYP-SKIP



Hay otro sitio críptico a solo 5 nt de nuestra posición de interés, pero la T no la marca como posible sitio de *splicing*, por lo que no estará afectando a este.

Human Splicing Finder

Type	Interpretation
No significant impact on splicing signals.	No significant impact on splicing signals.

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	70	38	gtatcatgg		-1.70767935223	0.727272727273	14	20	41	-0.53619841	mut	70	38	gcatcatgg		-1.50412238601	0.727272727273	14	20	41	-0.45649622

Son diferentes porque incluyen el cambio (en la segunda posición) pero tienen puntuación negativa, por lo que no se tienen en cuenta.

Variant Effect Predictor tool

ENST00000305899.4:c.612T>C	<a href="#">19:15728655-15728655</a>	C	synonymous_variant	OR10H2	<a href="#">ENSG00000171942</a>	Transcript	<a href="#">ENST00000305899.4</a>	protein_coding	1/1	636	612	204	C	TGT/TGC	<a href="#">COSV59947296</a>
----------------------------	--------------------------------------	---	--------------------	--------	---------------------------------	------------	-----------------------------------	----------------	-----	-----	-----	-----	---	---------	------------------------------

ESEfinder

Si realizamos la búsqueda para las regiones de *splicing* que contengan la posición de interés, solo se obtienen dos resultados con puntuaciones positivas para las matrices de 5’S:

907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGT	0.89700	907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGT	-27.22330	907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGT	0.60710	907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGT	-25.50600
916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	7.47230	916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	-12.79590	916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	7.18970	916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	-13.77820

Si buscamos las predicciones equivalentes para la secuencia mutante, se observa que las puntuaciones para el resultado aumentan ligeramente, mientras que para el segundo se reducen un poco:

907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGC	1.02170	907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGC	-26.62240	907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGC	0.87780	907 (-735)	GCTGTGGCCCTGGGCGTGGGCTTGGTATGC	-24.91840
916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	6.27240	916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	-12.28830	916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	6.03390	916 (-726)	CTGGGCGTGGGCTTGGTATGATCATGGCA	-13.26950

Por lo tanto, para el segundo de los resultados, podríamos decir que un sitio *donor* está debilitado, lo que podría estar afectando al *splicing*.

Por otro lado, haciendo la búsqueda de las ESE, las puntuaciones no se ven alteradas de la secuencia WT (arriba) a la mutante, por lo que no habrá cambios en las ESE.

929 (-713)	TGGTATG	-4.87626	929 (-713)	TGGTATG	-3.34073	929 (-713)	TGGTATGT	-4.91800	929 (-713)	TGGTATG	-1.51312
930 (-712)	GGTATGT	-0.62242	930 (-712)	GGTATGT	-1.30741	930 (-712)	GGTATGTA	1.06014	930 (-712)	GGTATGT	-2.24524
931 (-711)	GTATGTA	-3.59577	931 (-711)	GTATGTA	-3.10536	931 (-711)	GTATGTAT	-1.34752	931 (-711)	GTATGTA	-5.83547
932 (-710)	TATGTAT	-7.03470	932 (-710)	TATGTAT	-5.31189	932 (-710)	TATGTATC	-3.52211	932 (-710)	TATGTAT	-1.90920
933 (-709)	ATGTATC	-6.58612	933 (-709)	ATGTATC	-5.08993	933 (-709)	ATGTATCA	-1.78227	933 (-709)	ATGTATC	-2.89588
934 (-708)	TGTATCA	-4.22010	934 (-708)	TGTATCA	-2.93387	934 (-708)	TGTATCAT	-2.90758	934 (-708)	TGTATCA	-0.04653
935 (-707)	GTATCAT	-3.80261	935 (-707)	GTATCAT	-3.36147	935 (-707)	GTATCATG	3.28566	935 (-707)	GTATCAT	-3.56316
936 (-706)	TATCATG	-5.03550	936 (-706)	TATCATG	-4.07180	936 (-706)	TATCATGG	-1.04920	936 (-706)	TATCATG	0.98787

929 (-713)	TGGTATG	-4.87626	929 (-713)	TGGTATG	-3.34073	929 (-713)	TGGTATGC	-4.91800	929 (-713)	TGGTATG	-1.51312
930 (-712)	GGTATGC	-2.47582	930 (-712)	GGTATGC	-2.50411	930 (-712)	GGTATGCA	0.41570	930 (-712)	GGTATGC	-0.70614
931 (-711)	GTATGCA	-4.05348	931 (-711)	GTATGCA	-3.20935	931 (-711)	GTATGCAT	0.38150	931 (-711)	GTATGCA	-4.11854
932 (-710)	TATGCAT	-4.51097	932 (-710)	TATGCAT	-3.50010	932 (-710)	TATGCATC	-2.76287	932 (-710)	TATGCAT	-3.40045
933 (-709)	ATGCATC	-5.12879	933 (-709)	ATGCATC	-3.83518	933 (-709)	ATGCATCA	-1.55143	933 (-709)	ATGCATC	-0.51125
934 (-708)	TGCATCA	-1.91009	934 (-708)	TGCATCA	-0.86501	934 (-708)	TGCATCAT	-2.33865	934 (-708)	TGCATCA	-1.39480
935 (-707)	GCATCAT	-4.40554	935 (-707)	GCATCAT	-3.61025	935 (-707)	GCATCATG	1.89726	935 (-707)	GCATCAT	-3.25111
936 (-706)	CATCATG	-2.08501	936 (-706)	CATCATG	-0.96675	936 (-706)	CATCATGG	-1.02807	936 (-706)	CATCATG	0.63117

## EX-SKIP

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	16	33	26	262	3696.4485	80	-116.0393	70	51	309	3609.2156	302	453.4088	417	732	0.57
mut	14	33	26	259	3654.6598	79	-114.6174	70	51	310	3617.7994	302	454.6694	411	733	0.56

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

HOT-SKIP

>wt  
gcagaaaagcaaggtgtaggtggtggtgcatggatctaataatcgtgatggcaataacaatagcagaataattattacta  
tcaacattttataattttattaaattcttactttgtgtcaggacctgcacaaagcacttaaggtgagtgatcttatttaaac  
ctcaatacattattattaatgcctttctgcagatggagtaaccatggccttggacagatgaaggaggcgctctcagatgtc  
ctcccaggcaggaatcactagacacccccatgctcctaaccactgggtcttctttcctctCTCCCCAACTAGGGGTGGC  
CGTCATGCTGGGGCTAAACCACACCTCCATGCTGAATTCATCCTCGTCGGCTTCTCTGCCTTCCCCACCTCCAACCTGA  
TGCTCTTCCTGCTGTTCTCTGCTGATGTACCTGTTACGCTGCTGGGCAACCTGCTCATCATGGCCACCGTCTGGAGCGAG  
CGCAGCCTCCACACGCCCATGTACCTCTTCTGTGCGTCCTCTCAGTCTCCGAGATCCTCTACACCGTGGCCATCATCCC  
GCGCATGCTGGCCGACCTGCTGTCCACCCAGCGCTCCATCGCCTTCTGGCCTGTGCCAGTCAGATGTTCTTCTCCTTCA  
GCTTCGGCTTCACCCACTCTTCTGCTACCCGTATGGGTACGACCGCTACGTGGCCATCTGCCACCCCTGCGCTAC  
AACGTGCTCATGAGCCACGGGGCTGCGCCTGCCTGGTGGGCTGCTCCTGGGCTGGTGGCTCGGTGCTGGGGATGGGGGT  
GACCTCGGCCATTTTCCAACCTGACTTTCTGTGGATCCCATGAGATCCAGCATTTTTATGTCATGTGCCACCTCTGTTGA  
AGTTGGCCTGTGGAAATAATGTACAGCTGTGGCCCTGGGGGTGGGTTGGGTATGTATCATGGCACTGCTGGGCTGTTTT  
CTCCTCATCTCTCTCTCTATGCCCTTCTGCTGGCCGACATCTTGAAGATCCCTTCTGCTGAAGGTCGGAACAAGGCCCTT  
CTCCACCTGTGCCTCTCACCTTATTGTGGTCATTGTGCACATGGCTTTGCCTCTGTCTACCTCAAGCCCAAAGGTC  
CCCACTCTCAGGAGGGGTGACACCCTGATGGCCACCACCTACGCACTCCTCACGCCCTTCTCAGCCCCATCATTTCAAGC  
CTCAGGAACAAAGAACTGAAGGTTGCCATGAAGAGGACCTTCTCAGCACACTCTATTCTCAGGCACCTGAGTAGCTGG  
TGTGGAAGTGCTGATAGAATATGATAGGAGGATGACCATCACCTTGTCTGCACAGTGTGGCtagtaatgcttaccttgta  
aggcaggtgtaaaagatttctgtatatgacaacactcatcacatagtaggtgctcagtaaatgttaaaagcatgtttactt  
ccacaactcttgatctgtatgtctttatctgagttttaatttttgagttatagtagctttattaagatgtaattcaccta  
ccatacaatgtacccattagagcgacatttctgtggtttttgctgattcagagttatgcaaccatcatgacaatctggc  
tttagagtatttttagtcatcaaaaaagaaacccaatccta

2534	635	A	TTGGTATATCATG	GGTATATATCA	3	1	1	1	12.0557	5	-5.4218	0	0	0	0.0000	0	0.0000	11	0	11.00
2535	635	C	TTGGTATCTATCATG	GGTATCTATCA	0	0	0	0	0.0000	1	-2.2605	0	0	1	5.2320	0	0.1489	1	1	1.00
2536	635	T	TTGGTATTATCATG	GGTATTATCA	1	0	0	4	54.3215	5	-5.2486	0	0	1	6.4797	0	0.0000	10	1	10.00