Ejemplo comparación de resultados predictores in sillico

Cambio de estudio NF1 c.3362A>G (chr17:3123274 A/G, rs757222815 o NM_000267.3:c.3362A>G)

Exón 26 y 27 e intrones adyacentes:

Se ha descrito que este cambio causa la formación de dos transcritos: (1) conteniendo la sustitución y (2) con *skipping* del exón 20. La mutación resulta en la presencia de una isoforma del mRNA con el *splicing* correcto, conteniendo el cambio *missense* correspondiente (p.Glu1121Gly), y otra donde pierde el exón 20[1].

El cambio se encuentra en la primera línea del exón 26 (la **a** en color rojo subrayada en amarillo).

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

Según el artículo, el cambio de interés está en el exón 20. Sin embargo, el cambio anotado como c.3362A>G en NF1 está en el exón 26, por lo que trabajaremos con este.

1. Xu W, Yang X, Hu X, Li S (2014) Fifty-four novel mutations in the NF1 gene and integrated analyses of the mutations that modulate splicing. Int J Mol Med 34(1) ¡:53-60

NetGene2

The sequence: wt has the following composition:

Length: 1324 nucleotides.
33.5% A, 17.4% C, 20.2% G, 28.9% T, 0.0% X, 37.6% G+C

Donor splice sites, direct strand
----

pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' exon intron 3'
270	2	+	0.41	CATTTACCAG^GTAATATTGC
326	2	+	0.37	GCTATATCAG^GTAAAATCAT
490	2	+	0.34	CTATGTAAAG^GTCAGTCTTT
693	1	+	0.76	CACTCCATAG^GTGAGATCAA
1025	0	+	0.83	TTCTCAGTGG^GTAAGTGATT
1038	1	+	0.51	AGTGATTAGA^GTAAGCGGGG
1295	-	+	0.00	ATTTGATAAG^GTAATTAGGT

Donor splice sites, complement strand
----

pos 3'->5'	pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' exon intron 3'
653	672	2	-	0.89	TTGGCATTGA^GTAAGTTTGA

Acceptor splice sites, direct strand
----

pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' intron exon 3'
510	2	+	0.25	TATTTCTCAG^ATACTTCACA
549	1	+	0.19	ATGACTGCAG^TGAAGTTGAA
554	0	+	0.18	TGCAGTGAAG^TTGAAGATGA
560	0	+	0.07	GAAGTTGAAG^ATGAAAGTGC
860	1	+	0.18	TTTATGGAAG^TTCTGACAAA
884	1	+	0.19	CTTCAACAAG^GCACAGAATT
890	1	+	0.19	CAAGGCACAG^AATTTGACAC

Acceptor splice sites, complement strand
----

pos 3'->5'	pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' intron exon 3'
1017	308	2	-	0.07	ACCCACTGAG^AACAAGGAAC
1011	314	2	-	0.07	TGAGAACAAG^GAACCACATT
731	594	0	-	0.25	AGTTCTCTAG^GTTTTGTATT
685	640	1	-	0.25	ACCTATGGAG^TGCATGAGAC
677	648	2	-	0.18	AGTGCATGAG^ACCACTGTCT

The sequence: mut has the following composition:

Length: 1324 nucleotides.
33.5% A, 17.4% C, 20.2% G, 28.9% T, 0.0% X, 37.7% G+C

Donor splice sites, direct strand
----

pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' exon intron 3'
270	2	+	0.41	CATTTACCAG^GTAATATTGC
326	2	+	0.37	GCTATATCAG^GTAAAATCAT
490	2	+	0.34	CTATGTAAAG^GTCAGTCTTT
693	1	+	0.69	CACTCCATAG^GTGAGATCAA
1025	0	+	0.83	TTCTCAGTGG^GTAAGTGATT
1038	1	+	0.51	AGTGATTAGA^GTAAGCGGGG
1295	-	+	0.00	ATTTGATAAG^GTAATTAGGT

Donor splice sites, complement strand
----

pos 3'->5'	pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' exon intron 3'
653	672	2	-	0.90	TTGGCATTGA^GTAAGTTTGA H

Acceptor splice sites, direct strand
----

pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' intron exon 3'
510	2	+	0.24	TATTTCTCAG^ATACTTCACA
549	1	+	0.17	ATGACTGCAG^TGAAGTTGGA
554	0	+	0.07	TGCAGTGAAG^TTGGAGATGA
860	1	+	0.18	TTTATGGAAG^TTCTGACAAA
884	1	+	0.19	CTTCAACAAG^GCACAGAATT
890	1	+	0.19	CAAGGCACAG^AATTTGACAC

Acceptor splice sites, complement strand
----

pos 3'->5'	pos 5'->3'	phase	strand	confidence	5' intron exon 3'
1017	308	2	-	0.07	ACCCACTGAG^AACAAGGAAC
1011	314	2	-	0.07	TGAGAACAAG^GAACCACATT
731	594	0	-	0.25	AGTTCTCTAG^GTTTTGTATT
685	640	1	-	0.25	ACCTATGGAG^TGCATGAGAC
677	648	2	-	0.18	AGTGCATGAG^ACCACTGTCT

Desaparece un sitio aceptor (en rojo) en la secuencia mutada, coincidiendo con la posición de interés. Sin embargo, este sitio no se utiliza en el *splicing* de la secuencia *wild type*, por lo que no tendrá influencia sobre el proceso.

Splice Site Prediction by Neural Network (NNSplice)

No hay cambios entre las predicciones para la secuencia *wild type* y la mutada, por lo que no tendrá efecto en el *splicing*.

Donor site predictions for 80.102.134.120.15118.0 :

Start	End	Score	Exon	Intron
263	277	0.71	ttaccag**gt**aatatt	
300	314	0.61	atgaaag**gt**atacta	
319	333	0.90	atatcag**gt**aaaatc	
483	497	0.97	tgtaaag**gt**cagtct	
572	586	0.52	caaacag**gt**ggcagg	
686	700	0.79	tccatag**gt**gagatc	
739	753	0.51	ctggcat**gt**aagaga	
773	787	0.82	aggccat**gt**tagtaa	
1018	1032	0.99	tcagtgg**gt**aagtga	
1031	1045	0.92	gattaga**gt**aagcgg	
1288	1302	0.99	tgataag**gt**aattag	

Donor site predictions for 80.102.134.120.15129.0 :

Start	End	Score	Exon	Intron
263	277	0.71	ttaccag**gt**aatatt	
300	314	0.61	atgaaag**gt**atacta	
319	333	0.90	atatcag**gt**aaaatc	
483	497	0.97	tgtaaag**gt**cagtct	
572	586	0.52	caaacag**gt**ggcagg	
686	700	0.79	tccatag**gt**gagatc	
739	753	0.51	ctggcat**gt**aagaga	
773	787	0.82	aggccat**gt**tagtaa	
1018	1032	0.99	tcagtgg**gt**aagtga	
1031	1045	0.92	gattaga**gt**aagcgg	
1288	1302	0.99	tgataag**gt**aattag	

Acceptor site predictions for 80.102.134.120.15118.0 :

Start	End	Score	Intron	Exon
112	152	0.66	tgttttgtgattttttaa**ag**aaagtaatatgatcagtgaa	
490	530	0.96	gtcagtctttttatttctc**ag**atacttcacattatttatga	
672	712	0.95	gtggtctcatgcactccat**ag**gtgagatcaaatgaaagttt	
792	832	0.90	gcatctgtttgtccacatt**ag**gcttaggttaccacaaggat	
1001	1041	0.84	aatgtggttccttgttctc**ag**tgggtaagtgattagagtaa	
1153	1193	0.76	taggtgatttttcagctgt**ag**ggaagtggttggcaccacta	

Acceptor site predictions for 80.102.134.120.15129.0 :

Start	End	Score	Intron	Exon
112	152	0.66	tgttttgtgattttttaa**ag**aaagtaatatgatcagtgaa	
490	530	0.96	gtcagtctttttatttctc**ag**atacttcacattatttatga	
672	712	0.95	gtggtctcatgcactccat**ag**gtgagatcaaatgaaagttt	
792	832	0.90	gcatctgtttgtccacatt**ag**gcttaggttaccacaaggat	
1001	1041	0.84	aatgtggttccttgttctc**ag**tgggtaagtgattagagtaa	
1153	1193	0.76	taggtgatttttcagctgt**ag**ggaagtggttggcaccacta	

GENSCAN → no da resultados para este cambio

```
Predicted genes/exons:




Gn.Ex Type S .Begin ...End .Len Fr Ph I/Ac Do/T CodRg P.... Tscr..

----- ---- - ------ ------ ---- -- -- ---- ---- ----- ----- ------



NO EXONS/GENES PREDICTED IN SEQUENCE
```

```
Predicted genes/exons:




Gn.Ex Type S .Begin ...End .Len Fr Ph I/Ac Do/T CodRg P.... Tscr..

----- ---- - ------ ------ ---- -- -- ---- ---- ----- ----- ------



NO EXONS/GENES PREDICTED IN SEQUENCE
```

MaxEntScan

MAXENT: -42.21 MDD: -27.71   MM: -28.63   WMM: -22.26   MAXENT: -7.42   MM: -7.61   WMM: -8.09

En los resultados tanto para 5'SS (izquierda) como 3'SS (derecha), las puntuaciones son muuy bajas y negativas, por lo que no debe estar afectando al *splicing*.
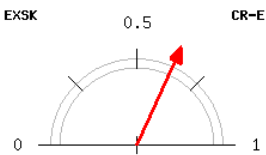
Spliceman

Point mutation	Wildtype (wt)	Mutation (mt)	L1 distance	Ranking (L1)
agttg(a/g)agatg	tgaaga	tggaga	25976	49%

En el análisis de la región adyacente al cambio, se obtiene una puntuación no muy elevada (49%) para el cambio A>G, por lo que puede estar afectando al *splicing*.

CRYP-SKIP

Exon length (bp)	182
PESS (<=-2.62) density	1.65
NN 5'ss score density	0.34
SF2/ASF score density	12.85
FAS-ESS (hex2) density	1.65
EIE score density	316.80
Probability of cryptic splice site activation (P_{CR-E})	0.64

EXSK   0.5   CR-E

0   1

>sec

1.0
0.5
0.02
0.0

tcagtctttttatttctcagATACTTCACATTATTTATGAACCTTTTGAATGACTGCAGTGAAGTTGAAGATGAAAGTGC

1.0
0.54
0.5
0.0

GCAAACAGGTGGCAGGAAACGTGGCATGTCTCGGAGGCTGGCATCACTGAGGCACTGTACGGTCCTTGCAATGTCAAACT
0.04

1.0
0.5
0.0

TACTCAATGCCAACGTAGACAGTGGTCTCATGCACTCCATAGgtgagat
0.04

Parece que hay varios sitios crípticos de *splicing* dentro del propio exón, pero el cambio de interés no lo toma en consideración, por lo que no debe considerar que tenga algún efecto en el *splicing*.

Human Splicing Finder

Type	Interpretation	
🔴 New Donor splice site	Activation of a cryptic Donor site. Potential alteration of splicing	

Algorithm/Matix	position	sequences	variation
HSF Donor site (matrix GT)	chr17:31232740	- REF : GAAGTTGAA - ALT : GAAGTTGGA	63.18 > 72.74 => 15.13%

SVM-BPfinder

seq_id	agez	ss_dist	bp_seq	bp_scr	y_cont	ppt_off	ppt_len	ppt_scr	svm_scr
wt	28	489	atatcaggt	-3.76483546755	0.471074380165	111	7	16	-7.79725
wt	28	484	aggtaaaat	-1.00779112132	0.473903966597	106	7	16	-6.4003314
wt	28	479	aaatcatgt	-1.30108950588	0.474683544304	101	7	16	-6.1984282
wt	28	458	acttcataa	-2.57975429871	0.470198675497	80	7	16	-5.3712697
wt	28	455	tcataataa	-1.19180287359	0.471111111111	77	7	16	-4.6376314
wt	28	452	taataagcc	-0.174280982488	0.472035794183	74	7	16	-4.0490299
wt	28	438	ggctgatta	0.572428480237	0.468822170901	60	7	16	-2.8715193
wt	28	435	tgattatcg	-1.76949310508	0.467441860465	57	7	16	-3.5990431
wt	28	410	cagttaacc	-2.07426918077	0.481481481481	32	7	16	-2.1313849
wt	28	409	agttaaccc	1.74887646245	0.482673267327	31	7	16	-0.57075946
wt	28	395	cattcacac	1.03288935766	0.479487179487	17	7	16	0.034045243
wt	28	379	atatgattg	-1.23149393381	0.478609625668	1	7	16	0.15992187
wt	28	358	tggttagct	-2.14376425571	0.473087818697	2	10	18	-0.24372509
wt	28	345	agttgatac	-0.0248268931793	0.467647058824	23	18	35	-0.58671356
wt	28	334	ccttcacta	-0.131686086113	0.462006079027	12	18	35	0.065905686
wt	28	326	atgtaaagg	-1.1562561675	0.461059190031	4	18	35	0.17081881
wt	28	320	aggtcagtc	-1.80826386605	0.463492063492	2	14	34	0.033593527
wt	28	311	tttttattt	-4.34020649867	0.454248366013	19	8	14	-2.2231555
wt	28	304	ttctcagat	-0.318828248584	0.444816053512	12	8	14	-0.20855393
wt	28	295	acttcacat	-1.16577152797	0.441379310345	3	8	14	0.028402687
wt	28	290	acattattt	-3.83760197771	0.438596491228	266	19	27	-17.544996
wt	28	286	tatttatga	-2.93857085709	0.434163701068	262	19	27	-16.941222
wt	28	283	ttatgaacc	-0.714942389566	0.435251798561	259	19	27	-15.88032
wt	28	274	ttttgaatg	-0.846179518138	0.42750929368	250	19	27	-15.364521
wt	28	270	gaatgactg	1.54243150168	0.430188679245	246	19	27	-14.175208
wt	28	261	cagtgaagt	-0.45226479169	0.4296875	237	19	27	-14.386703
wt	28	255	==agttgaaga==	-1.86208982377	0.432	231	19	27	==-14.558179==
wt	28	249	agatgaaag	-2.12587065779	0.438524590164	225	19	27	-14.279565
wt	28	197	gcatcactg	-0.813053919666	0.458333333333	173	19	27	-10.467625
wt	28	193	cactgaggc	0.860058583981	0.457446808511	169	19	27	-9.5596151
wt	28	167	atgtcaaac	-2.18114612138	0.444444444444	143	19	27	-9.1088335
wt	28	161	aacttactc	0.294735630281	0.442307692308	137	19	27	-7.760309
wt	28	157	tactcaatg	0.348549399332	0.434210526316	133	19	27	-7.4886602
wt	28	133	gtctcatgc	1.69622963776	0.4296875	109	19	27	-5.4432808
wt	28	117	aggtgagat	-1.71186269188	0.419642857143	93	19	27	-5.768181
wt	28	112	agatcaaat	-3.65894545244	0.420560747664	88	19	27	-6.2137679
wt	28	107	aaatgaaag	-1.35512054508	0.43137254902	83	19	27	-4.991728
wt	28	99	gtttcatat	-1.52523129633	0.425531914894	75	19	27	-4.5538342
wt	28	64	atgtaagag	-1.47035922721	0.474576271186	40	19	27	-2.3010681
wt	28	49	aaattactt	-1.11026062717	0.568181818182	25	19	27	-1.1803658
wt	28	44	acttcagca	-2.03765209265	0.538461538462	20	19	27	-1.2365905
wt	28	30	atgttagta	-4.16638534879	0.6	6	19	27	-1.1640385
wt	28	26	tagtaaatt	-0.668958690687	0.666666666667	2	19	27	0.4800939

seq_id	agez	ss_dist	bp_seq	bp_scr	y_cont	ppt_off	ppt_len	ppt_scr	svm_scr
wt	28	489	atatcaggt	-3.76483546755	0.471074380165	111	7	16	-7.79725
wt	28	484	aggtaaaat	-1.00779112132	0.473903966597	106	7	16	-6.4003314
wt	28	479	aaatcatgt	-1.30108950588	0.474683544304	101	7	16	-6.1984282
wt	28	458	acttcataa	-2.57975429871	0.470198675497	80	7	16	-5.3712697
wt	28	455	tcataataa	-1.19180287359	0.471111111111	77	7	16	-4.6376314
wt	28	452	taataagcc	-0.174280982488	0.472035794183	74	7	16	-4.0490299
wt	28	438	ggctgatta	0.572428480237	0.468822170901	60	7	16	-2.8715193
wt	28	435	tgattatcg	-1.76949310508	0.467441860465	57	7	16	-3.5990431
wt	28	410	cagttaacc	-2.07426918077	0.481481481481	32	7	16	-2.1313849
wt	28	409	agttaaccc	1.74887646245	0.482673267327	31	7	16	-0.57075946
wt	28	395	cattcacac	1.03288935766	0.479487179487	17	7	16	0.034045243
wt	28	379	atatgattg	-1.23149393381	0.478609625668	1	7	16	0.15992187
wt	28	358	tggttagct	-2.14376425571	0.473087818697	2	10	18	-0.24372509
wt	28	345	agttgatac	-0.0248268931793	0.467647058824	23	18	35	-0.58671356
wt	28	334	ccttcacta	-0.131686086113	0.462006079027	12	18	35	0.065905686
wt	28	326	atgtaaagg	-1.1562561675	0.461059190031	4	18	35	0.17081881
wt	28	320	aggtcagtc	-1.80826386605	0.463492063492	2	14	34	0.033593527
wt	28	311	tttttattt	-4.34020649867	0.454248366013	19	8	14	-2.2231555
wt	28	304	ttctcagat	-0.318828248584	0.444816053512	12	8	14	-0.20855393
wt	28	295	acttcacat	-1.16577152797	0.441379310345	3	8	14	0.028402687
wt	28	290	acattattt	-3.83760197771	0.438596491228	266	19	27	-17.544996
wt	28	286	tatttatga	-2.93857085709	0.434163701068	262	19	27	-16.941222
wt	28	283	ttatgaacc	-0.714942389566	0.435251798561	259	19	27	-15.88032
wt	28	274	ttttgaatg	-0.846179518138	0.42750929368	250	19	27	-15.364521
wt	28	270	gaatgactg	1.54243150168	0.430188679245	246	19	27	-14.175208
wt	28	261	cagtgaagt	-0.45226479169	0.4296875	237	19	27	-14.386703
wt	28	249	agatgaaag	-2.12587065779	0.438524590164	225	19	27	-14.279565
wt	28	197	gcatcactg	-0.813053919666	0.458333333333	173	19	27	-10.467625
wt	28	193	cactgaggc	0.860058583981	0.457446808511	169	19	27	-9.5596151
wt	28	167	atgtcaaac	-2.18114612138	0.444444444444	143	19	27	-9.1088335
wt	28	161	aacttactc	0.294735630281	0.442307692308	137	19	27	-7.760309
wt	28	157	tactcaatg	0.348549399332	0.434210526316	133	19	27	-7.4886602
wt	28	133	gtctcatgc	1.69622963776	0.4296875	109	19	27	-5.4432808
wt	28	117	aggtgagat	-1.71186269188	0.419642857143	93	19	27	-5.768181
wt	28	112	agatcaaat	-3.65894545244	0.420560747664	88	19	27	-6.2137679
wt	28	107	aaatgaaag	-1.35512054508	0.43137254902	83	19	27	-4.991728
wt	28	99	gtttcatat	-1.52523129633	0.425531914894	75	19	27	-4.5538342
wt	28	64	atgtaagag	-1.47035922721	0.474576271186	40	19	27	-2.3010681
wt	28	49	aaattactt	-1.11026062717	0.568181818182	25	19	27	-1.1803658
wt	28	44	acttcagca	-2.03765209265	0.538461538462	20	19	27	-1.2365905
wt	28	30	atgttagta	-4.16638534879	0.6	6	19	27	-1.1640385
wt	28	26	tagtaaatt	-0.668958690687	0.666666666667	2	19	27	0.4800939

Desaparece un BP en la secuencia mutada, justo el que incluye la posición de interés, por lo que no es probable que haya una alteración del *splicing* porque está dentro del exón y tiene puntuación negativa.
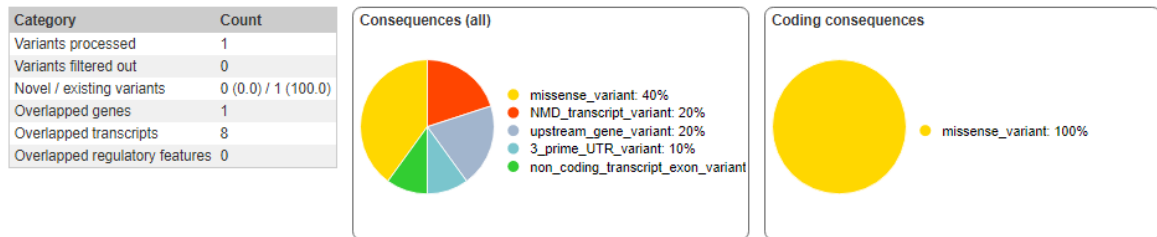
IntSplice

SNV at chr17:3123274 can't be predicted by IntSplice.

Prediction shows either Abnormal or Normal.

Prediction   Genomic Mutation   Ensembl 64 Transcript ID and Exon No.

Input queries: hg19, chr17, 3123274

Variant Effect Predictor tool

Category	Count
Variants processed	1
Variants filtered out	0
Novel / existing variants	0 (0.0) / 1 (100.0)
Overlapped genes	1
Overlapped transcripts	8
Overlapped regulatory features	0

Consequences (all)
- missense_variant: 40%
- NMD_transcript_variant: 20%
- upstream_gene_variant: 20%
- 3_prime_UTR_variant: 10%
- non_coding_transcript_exon_variant

Coding consequences
- missense_variant: 100%

Se trata de una variante que está afectando al sitio de *splicing*, por lo que va a provocar que se altere el *splicing* normal. Esto se observa porque el resultado dice que es una variante NMD, lo que quiere decir que está activando un proceso que solo se da para degrada mRNAs mal generado. Además, dice que es una variante *missense*, lo que generará un cambio en la proteína.

Uploaded variant	Location	Allele	Consequence	Symbol	Gene	Feature type	Feature	Biotype
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	missense_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000356175.7	protein_coding
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	missense_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000358273.9	protein_coding
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	missense_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000456735.6	protein_coding
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	upstream_gene_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000466819.5	nonsense_mediated_decay
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	upstream_gene_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000479614.1	nonsense_mediated_decay
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	non_coding_transcript_exon_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000493220.5	retained_intron
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	3_prime_UTR_variant, NMD_transcript_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000495910.6	nonsense_mediated_decay
ENST00000358273.4:c.3362A>G	17:31232747-31232747	G	missense_variant, NMD_transcript_variant	NF1	ENSG00000196712	Transcript	ENST00000579081.5	nonsense_mediated_decay

ESEfinder

De los resultados donde se encuentra la posición de interés, en cuanto a los sitios de *splicing*, tiene puntuación positiva en las matrices de 5'SS en un único resultado (AAGTTGAAGATGAAAGTGCGCAAACAGGTG) con puntuaciones 4.26180 y 4.56120, pero también da una puntuación positiva en un único resultado (TTTGAATGACTGCAGTGAAGTTGAAGATGA) en las matrices de 3'SS (0.44860 y 0.18690). Si vamos a los resultados equivalentes en la secuencia mutada, para la primera, los valores casi no se han visto alterados (4.41830 y 4.72050), igual que en la segunda, aunque haya aumentado un poco más (0.83560 y 0.52410). Por lo tanto, no se pueden sacar conclusiones para ninguno.

Si buscamos los ESE de la secuencia, para la puntuación de interés, solo hay un fragmento con esta que tiene puntuación positiva en más de una matriz: AAGATGA (1.31395 y 0.07210). El equivalente en la secuencia mutada tiene puntuaciones más altas en esas mismas matrices (2.24182 y 0.30965) por lo que el cambio puede tener un efecto de alteración de este sitio en el *splicing.*

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	3	3	0	32	440.0425	16	-25.6582	11	23	52	569.6720	52	79.9040	54	138	0.39
mut	3	3	0	32	448.1299	16	-26.3825	8	22	53	560.6457	52	79.5217	54	135	0.40

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

HOT-SKIP

```
>wt
gtaaatttcagtcaccaaaaaacataaagcaaaaagcaaataaagcccccccaccacacaaaaaaagcaaagaaataatac
ccatgacaggactaggataggaaaataactgtgtttgtgatttttttaaagaaagtaatatgatcagtgaaattttgct
tataataaaacccagattgcttcattaagtcatttacaaaagtgacattgtctaagctgtttggaccactaattttatat
actaacattaaaagtgacacatttaccaggtaatattgcatctatttgatgctaatgttatgaaaggtatactaggctat
atcaggtaaaatcatgtccaacatagcacacttcataataagccaccctggctgattatcgcgagagaggagagaaacag
ttaacccagggccattcacaccatgcacatatgattgtttggaatgtctggttagctttctagttgatacggccttcac
tatgtaaaggtcagtctttttatttctcagATACTTCACATTATTTATGAACCTTTTGAATGACTGCAGTGAAGTTGAAG
ATGAAAGTGCGCAAACAGGTGGCAGGAAACGTGGCATGTCTCGGAGGCTGGCATCACTGAGGCACTGTACGGTCCTTGCA
ATGTCAAACTTACTCAATGCCAACGTAGACAGTGGTCTCATGCACTCCATAGgtgagatcaaatgaaagtttcatataga
aatacaaaacctagagaactggcatgtaagagaagcaaaaaattacttcagcaaggccatgttagtaaatttgcatctgtt
tgtccacattagGCTTAGGTTACCACAAGGATCTCCAGACAAGAGCTACATTTATGGAAGTTCTGACAAAAATCCTTCAA
CAAGGCACAGAATTTGACACACTTGCAGAAACAGTATTGGCTGATCGGTTTGAGAGATTGGTGGAACTGGTCACAATGAT
GGGTGATCAAGGAGAACTCCCTATAGCGATGGCTCTGGCCAATGTGGTTCCTTGTTCTCAGTGGgtaagtgattagagta
agcggggaagaaaagtgcctggcacatagcaaatccttcagaatatatttgttcaataaatgtttgttgaatgaattgat
aaaatttcagagccagaagaaagatgtttagttaggtgattttttcagctgtagggaagtggttggcaccactagacctga
ctagtgttctgtatcatttcatcctactaaaaaaattccatttaaacgcattaaaaatcactgatctactctggtgtcttc
atatatttgataaggtaattaggttaaacctaattttagttagt
```

Mutation(s) E+42A>T, E+98C>G and E+13A>T have the highest probability of exon skipping.

La posición de estudio está marcada en rosa fuerte, por lo que puede estar implicada en el *splicing* (0.25).