**Guía para la realización de un análisis de enriquecimiento funcional usando una lista de genes**

**Simposio anual Ómicas - Modalidad talleres**

1. **Descarga de archivos necesarios:**

En esta sesión se realizará análisis de enriquecimiento funcional para una única lista de genes.

* Ingrese en su navegador el siguiente enlace: <https://raw.githubusercontent.com/ccsosa/R_Examples/master/GIM.csv>. Posteriormente, dé clic derecho y elija la opción Guardar como… para empezar la descarga del archivo GIM.csv en su computador local como se muestra a continuación:

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Correo electrónico

Descripción generada automáticamente

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

1. **INSTALACIÖN DE CYTOSCAPE Y BiNGO**

* Ingrese a la página <https://cytoscape.org/download.html> y de clic en el recuadro marcado. Su navegador descargara el archivo desde la dirección web: <https://github.com/cytoscape/cytoscape/releases/download/3.9.0/Cytoscape_3_9_0_windows_64bit.exe>

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Al descargarse la aplicación, aparecerá la siguiente ventana, en la cual debe dar clic en donde dice Más información

Interfaz de usuario gráfica, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Una nueva ventana emergerá y la opción ejecutar de todas formas estará disponible. Por favor, dé clic en el icono.

Interfaz de usuario gráfica, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* El instalador se abrirá, luego debe dar clic sobre aceptar para iniciar la instalación

Interfaz de usuario gráfica

Descripción generada automáticamente con confianza media

* Al abrirse Cytoscape se verá así:

Interfaz de usuario gráfica

Descripción generada automáticamente

* Luego de la imagen de carga aparecerá el programa, el cual visualmente se ve así:

Interfaz de usuario gráfica, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Para instalar el plugin BiNGO, deberá buscar el menú Apps y dar clic en la opción *App Manager*

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Al dar clic, la siguiente ventana aparecerá, en la barra de búsqueda que dice Search, escriba BiNGO

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* De clic en BinGO, al hacerlo, aparecerá en la parte inferior derecha la opción de instalar, por favor de clic en instalar

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Al dar clic en instalar, aparecerá un cuadro de progreso mostrando la descarga de BiNGO

Interfaz de usuario gráfica, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Al terminar la descarga, aparecerá el botón Close, además que se mostrará que BiNGO fue instalado lo cual indicará que ya se instaló el *plugin*

Interfaz de usuario gráfica, Aplicación

Descripción generada automáticamente

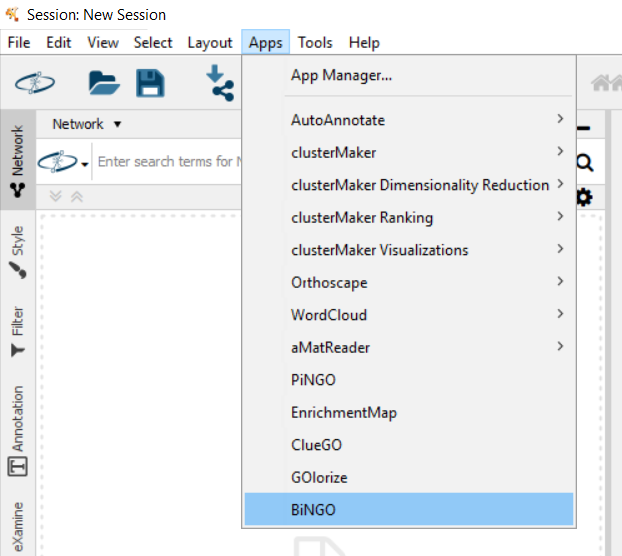
* Para usar BinGO deberá acceder de nuevo al menú Apps, en donde observará que BiNGO está ahora disponible para su uso.

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

1. **Uso de BiNGO**

* Abra BiNGO desde el menú Apps



* BiNGO se abrirá y tendrá el siguiente aspecto en donde está la siguiente información en orden descendente (En rojo, se señalan los parámetros más importantes):
  + Nombre del análisis
  + Espacio para incluir los id de los genes
  + Selección de evaluación a ser realizada
  + Prueba estadística
  + Selección del método de corrección de hipótesis múltiples
  + Elección del alfa
  + Selección de los GO a ser visualizados en un grafo
  + Selección de la referencia a usar
  + Información para obtener
  + Selección del organismo a ser analizado
  + Espacio para guardar el archivo localmente
  + Botón para correr el análisis

Interfaz de usuario gráfica, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Copie los genes del archivo GIM.csv descargado previamente y péguelos en el espacio provisto, posteriormente elija organismo la opción *Homo sapiens* y desactive la opción *Save BiNGO data file in* si es el caso para evitar guardar archivos localmente*.* Finalmente, de clic en el botón *Start BiNGO* para iniciar el análisis.

Interfaz de usuario gráfica

Descripción generada automáticamente con confianza media

* Al cabo de unos segundos aparecerán los resultados en la interfaz de Cytoscape, obtendrá un grafo dirigido y una tabla con los resultados:

Interfaz de usuario gráfica, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* La tabla con los resultados del análisis aparecerá en la parte inferior de Cytoscape. Esta tabla tiene siete columnas: GO ID, GO Description, p-val, Corrected p-val, Cluster frequency, Total frequency y Genes, las cuales representan: el id del término GO, el nombre del GO, el p valor, el p valor después de usar la corrección de Bonferroni o *false discovery rate,* la frecuencia del término GO en la muestra de genes, la frecuencia total del GO en la base de datos de anotación de la especie y los genes que pertenecen al término GO.

Tabla

Descripción generada automáticamente

1. **Uso de ShinnyGO**

ShinnyGO, es una nueva herramienta para análisis de enriquecimiento funcional que a diferencia de otras herramientas combina el uso de la base de datos de *Gene ontology,* con datos de *KEGG*, *Reactome* y *STRING.* La herramienta tiene once opciones:

|  |  |
| --- | --- |
| Opción | Descripción |
| Enrichment | Lista de términos GO enriquecidos |
| Chart | Gráficos descriptivos para los términos GO enriquecidos |
| Tree | Análisis de conglomerados jerárquico |
| Network | Permite obtener un grafo con pesos para los GO enriquecidos |
| KEGG | Si se usa la opción KEGG permite obtener que rutas metabólicas están sobrerrepresentadas |
| Genes | Permite obtener información adicional acerca de los genes usados |
| Group | Agrupa los términos GO enriquecidos y los genes a los cuales están asociados |
| Plots | Permite obtener gráficos para comparar la lista de genes y el genoma del organismo |
| Genome | Permite realizar un gráfico para mapear en que cromosomas están los genes usados |
| Promoter | Permite buscar factores de transcripción para los genes analizados |

* Abra el enlace: <http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>, en este encontrará la aplicación la cual consta de un panel izquierdo en donde encontrará el organismo el cual será evaluado, el espacio para ingresar los genes, el botón *Submit*, que activará el programa, la opción *P-value cutoff (FDR)*, para elegir, el punto critico para definir que GO están enriquecidos y la opción # of top pathways to show, que servirá para definir cuantos GO enriquecidos desea que aparezcan.

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Copie los genes del archivo GIM.csv descargado previamente y péguelos en el espacio provisto, posteriormente elija como organismo la opción *Human,* elija 0.05 como FDR y seleccione que solo quiere el top 30 de términos GO enriquecidos.Finalmente, de clic en el botón *Submit.*

Interfaz de usuario gráfica, Texto, Aplicación

Descripción generada automáticamente

* Al cabo de unos segundos los resultados del análisis serán mostrados, estos están organizados de acuerdo con el *Fold enrichment:* , que representa cuán drásticamente están sobrerrepresentados los genes de una determinada ruta.

Interfaz de usuario gráfica, Tabla

Descripción generada automáticamente

* Al correr el análisis, once opciones estan disponibles para su uso. Al dar clic en *chart*, podrá obtener un gráfico de los términos GO enriquecidos, donde, x es el *fold enrichmen*t, y son los términos GO obtenidos y los colores representan el FDR obtenido.

Imagen que contiene Interfaz de usuario gráfica

Descripción generada automáticamente

Si se usa la opción Network aparecerá el siguiente grafo, ¿qué representa?

Diagrama

Descripción generada automáticamente