Introducción a la bioinformática

Laura Gómez-Romero

Instituto Nacional de Medicina Genómica Igomez@inmegen.gob.mx

October 15, 2021

Tabla de contenidos

Funcionamiento del comando tr

2 Funcionamiento del comando sed

Manos a la obra

Tabla de contenidos

1 Funcionamiento del comando tr

2 Funcionamiento del comando sed

Manos a la obra

Principal función del comando tr

"Translate characters"

— Man page tr

Traducir un caracter por otro

La función más básica de tr

```
## traducir un caracter a otro
echo "este es un ejemplo" | tr 'e' 'a'
```

Traducir una lista de caracteres

Explorando las funcionalidades de tr

```
## Traducir una lista de caracteres por otra lista
echo "este es un ejemplo" | tr 'euo' 'EUO'

## Podemos especificar rangos de caracteres
echo "este es un ejemplo" | tr a-z A-Z

## O clases de caracteres POSIX
echo "este es un ejemplo" | tr [:lower:] [:upper:]

## La primer lista puede ser mas larga que la segunda
echo "este es un ejemplo" | tr [:lower:] 9
```

Listas de caracteres POSIX

| POSIX class | similar to | meaning |
|-------------|---------------|---|
| [:upper:] | [A-Z] | uppercase letters |
| [:lower:] | [a-z] | lowercase letters |
| [:alpha:] | [A-Za-z] | upper- and lowercase letters |
| [:digit:] | [0-9] | digits |
| [:xdigit:] | [0-9A-Fa-f] | hexadecimal digits |
| [:alnum:] | [A-Za-z0-9] | digits, upper- and lowercase letters |
| [:punct:] | | punctuation (all graphic characters except letters and digits) |
| [:blank:] | [\t] | space and TAB characters only |
| [:space:] | [\t\n\r\f\v] | blank (whitespace) characters |
| [:cntrl:] | | control characters |
| [:graph:] | [^ [:cntrl:]] | graphic characters (all characters which have graphic representation) |
| [:print:] | [[:graph:]] | graphic characters and space |
| [:word:] | [[:alnum:]_] | Alphanumeric characters with underscore character _, meaning alnum + It is a bash specific character class. |

Imagen tomada de:

https:

//en.wikibooks.org/wiki/Regular_Expressions/POSIX_Basic_Regular_Expressions

Algunas opciones del comando tr

| Comando | Función |
|---------|---|
| -d | Elimina caracteres |
| -S | Comprime múltiples ocurrencias de los caracteres listados |

Eliminando y comprimiendo caracteres

Explorando las -d y -s del comando tr

Únicamente se comprimirán las múltiples ocurrencias de un caracter si se encuentran contiguas en la cadena de texto.

Tabla de contenidos

Funcionamiento del comando tr

2 Funcionamiento del comando sed

Manos a la obra

Descripción del comando sed

"Sream editor"

— Man page sed

Creando nuestro archivo de prueba

Contenido del archivo
primer linea
segunda linea prueba linea
tercer linea linea
cuarta linea

La función más utilizada de sed: sutitución

sed toma una instrucción y la aplica en cada línea del input

```
## Sustitucion, unicamente la primera ocurrencia
sed 's/linea/n/' sed.txt

## Todas las ocurrencias
sed 's/linea/n/g' sed.txt

## Eligiendo el numero de linea
sed '2s/linea/n/g' sed.txt

## Eligiendo un rango de lineas
sed '2,4s/linea/n/g' sed.txt
```

Selección de líneas utilizando sed

sed toma una instrucción y la aplica en cada línea del input, imprimiendo una línea de output por cada línea del input

Para inhabilitar este comportamiento default existe la opción -n

```
## Elegir un rango de lineas a imprimir
sed -n '2,4p' sed.txt

## Imprimir las lineas que contienen un patron
sed -n '/tercer/p' sed.txt

## Impirmir las lineas que NO contienen un patron
sed -n '/tercer/!p' sed.txt
```

Expresiones regulares con sed

Encerremos el contenido de un patrón en una subexpresión

```
## Utilizando\ subexpresiones\ y\ sustituciones sed -E 's/^([a-z]+) ([a-z]+) /\2-\1/' sed.txt
```

Expresiones regulares con sed

Encerremos el contenido de un patrón en una subexpresión

```
## Utilizando subexpresiones y sustituciones sed -E 's/([a-z]+) ([a-z]+) /(2-1)' sed.txt
```

Desmenuzando el contenido:

- s Activa el modo sustitución de sed
- Denota el inicio de la línea
- [a-z]+ Letras, una o más veces
- () Guardan el contenido de una subexpresión
- \1 Imprime el contenido de la segunda subexpresión
- \2 Imprime el contenido de la segunda subexpresión

Tabla de contenidos

Funcionamiento del comando tr

2 Funcionamiento del comando sed

Manos a la obra

Preparando nuestro directorio de trabajo

- Muévete a tu directorio home en el servidor
- Crea la carpeta practica?
- Entra a la carpeta practica?
- Crea la carpeta data
- Copia los archivos ubicados en /home/lgomez/WelcomeBioinfo/datos/practica7 a tu carpeta data

Familiarizándonos con los datos de trabajo

- Visualiza y explora cada uno de los archivos
- ¿Qué tipo de archivos son? ¿cuál es su contenido?

Verifica la integridad de los datos

- En el mismo directorio existe el archivo md5sum.txt, el contiene contiene la suma md5 para los distintos archivos
- Realiza la verificación de integridad

RECUERDA

El día de hoy tienes una batería de comandos que te pueden ser útiles

Siempre hay más de una forma correcta de llegar al resultado correcto

• ¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

PROCEDIMIENTO:

Buscar el patrón

¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

```
## Buscar el patrón
sed -n \
'/SKKNEEGVIVNRYRPKEPYTGKCLLNTKITADDAPGETWHMVFSHQG/p' \
data/fnr_protein.faa
```

¿A qué proteína pertenece? ¿Seguros que sólo existe en una proteína?

¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

- Convertir el header y la secuencia de cada proteína a una única línea
- Buscar el patrón

¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

```
## Convertir el header y la secuencia de cada proteína
## a una única línea
cat data/fnr_protein.faa | tr '\n' ' '
```

Recuerda que existen caracteres especiales que pueden confundir nuestros comandos

¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

```
## Imprimiendo todos los caracteres de nuestro archivo cat data/fnr_protein.faa | od -c
```

\n y \r son caracteres especiales para especificar salto de línea. Sistemas MS-DOS generalmente agregan los caracteres \r al final de las líneas. Este caracter debe ser eliminado para trabajar en ambientes Linux.

¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

```
## Eliminando el caracter \r
## Utilizando la sustitucion in-place de sed
sed -i 's/\r//g' data/fnr_protein.faa

## Verificando nuestro resultado
cat data/fnr_protein.faa | od -c
```

Ahora si regresemos a nuestra pregunta

¿Existe el dominio de ferredoxina reductasa en las secuencias del archivo fnr_protein.faa?

```
## Convertir el header y la secuencia de cada proteina
## a una unica linea
## Eliminamos los saltos de linea, tenemos una sola linea enorme
cat data/fnr_protein.faa | tr -d '\n'
## Agregando saltos de linea en posiciones convenientes
cat data/fnr_protein.faa | tr -d '\n' | tr '>' '\n'
## Buscando nuestro dominio
cat data/fnr_protein.faa | tr -d '\n' | tr '>' '\n' | \
 sed -n '/SKKNEEGVIVNRYRPKEPYTGKCLLNTKITADDAPGETWHMVFSHQG/p'
## Buscando parte de nuestro dominio
cat data/fnr_protein.faa | tr -d '\n' | tr '>' '\n' | \
 sed -n '/CLLNTKIT/p'
```

Este dominio no está totalmente conservado

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment gi|15239282|ref|NP 201420.1| MAAAISAAVSLPS----SKSSSLLTKISSVSPQRIFLKKS-----TVCYRRVVSVKA gi | 145323954 | ref | NP 001077566.1 | MATTMNAAVSLTS----SNSSSFPATSCAIAPERIRFTKGAFYYKSNNVVTGKRVFSIKA gi|115465942|ref|NP 001056570.1| MAAVTAAAVSTSAAAAVTKASPSPAHCFLPCPPRTRAA-----HORGLLLRA gi | 15239282 | ref | NP 201420.1 | OVTTD---TTEAPPVKVVKESKKQEEGIVVNKFKPKNPYTGRCLLNTKITGDDAPGETWH gi | 145323954 | ref | NP 001077566.1 | OITTE--TDTPTPAKKVEKVSKKNEEGVIVNRYRPKEPYTGKCLLNTKITADDAPGETWH gi|115465942|ref|NP 001056570.1| OVSTTDAAAVAAAPAKKEKISKKHDEGVVTNKYRPKEPYVGKCLLNTKITADDAPGETWH gi|15239282|ref|NP 201420.1| IVFTTEGEVPYREGOSIGVIPEGIDKNGKPHKLRLYSIASSAIGDFGDSKTVSLCVKRLV gi|145323954|ref|NP 001077566.1| gi|115465942|ref|NP 001056570.1| MVFSTEGEIPYREGOSIGVIADGVDKNGKPHKLRLYSIASSALGDFGDSKTVSLCVKRLV 167 gi|15239282|ref|NP 201420.1| YTNDGGEIVKGVCSNFLCDLKPGDEAKITGPVGKEMLMPKDPNATIIMLGTGTGIAPFRS gi|145323954|ref|NP 001077566.1| gi|115465942|ref|NP 001056570.1| YTNDOGEIVKGVCSNFLCDLKPGSDVKITGPVGKEMLMPKDPNANIIMLATGTGIAPFRS gi|15239282|ref|NP 201420.1| FLWKMFFEEHEDYKFNGLAWLFLGVPTSSSLLYKEEFEKMKEKNPDNFRLDFAVSREOTN gi|145323954|ref|NP 001077566.1| PI-WEMPPEKHDDYKFNGI.AWI.PI-GVPTTSSI.I.YOREPDKMKAKAPENPRUDYATSREOAN gi|115465942|ref|NP 001056570.1| FLWKMFFEKYDDYKFNGLAWLFLGVPTSSSLLYKEEFDKMKAKAPENFRVDYAVSREOTN 287 gi|15239282|ref|NP 201420.1| EKGEKMYIOTRMAEYAEELWELLKKDNTFVYMCGLKGMEKGIDDIMVSLAAKDGIDWLEY gi | 145323954 | ref | NP 001077566.1 | DKGEKMYIQTRMAQYAAELWELLKKDNTFVYMCGLKGMEKGIDDIMVSLAANDGIDWFDY gi | 115465942 | ref | NP 001056570.1 | AGGERMYIOTRMAEYKEELWELLKKDHTYVYMCGLKGNEKGIDDIMVSLAAKDGIDWADY 347 gi|15239282|ref|NP 201420.1| KKOLKRSEOWNVEVY gi | 145323954 | ref | NP 001077566.1 | KKOLKKAEOWNVEVY gi | 115465942 | ref | NP 001056570.1 |

Alineamiento realizado con Clustal Omega: https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/

- ¿Existe la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?
- ¿Existe la secuencia complementaria reversa de la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

¿Existe la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

El procedimiento, implementando lo que hemos aprendido es:

- Explorar el archivo por caracteres especiales
 - Si existen caracteres especiales indeseados, eliminarlos
 - Convertir el header y la secuencia de cada gene a una línea
 - Buscar nuestra secuencia

¿Existe la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

```
## Explorar el archivo por caracteres especiales
cat data/fnr_gene.fa | od -c

## Si existen caracteres especiales indeseados, eliminarlos
sed -i 's/\r//g' data/fnr_gene.fa
cat data/fnr_gene.fa | od -c

## Convertir el header y la secuencia de cada gene a una línea
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n'

## Buscar nuestra secuencia
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n' | \
sed -n '/GACCATAATGTCATC/p'
```

¿Existe la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

```
## Explorar el archivo por caracteres especiales
cat data/fnr_gene.fa | od -c

## Si existen caracteres especiales indeseados, eliminarlos
sed -i 's/\r//g' data/fnr_gene.fa
cat data/fnr_gene.fa | od -c

## Convertir el header y la secuencia de cada gene a una línea
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n'

## Buscar nuestra secuencia
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n' | \
sed -n '/GACCATAATGTCATC/p'
```

Esta secuencia no existe en nuestros genes

¿Existe la secuencia complementaria reversa de la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

El procedimiento, implementando lo que hemos aprendido es:

- Explorar el archivo por caracteres especiales, HECHO
- Si existen caracteres especiales indeseados, eliminarlos, HECHO
- Convertir el header y la secuencia de cada gene a una línea, HECHO
- Obtener la secuencia complementaria reversa de nuestro miRNA [HINT, comando tr y rev]
- Buscar nuestra secuencia

¿Existe la secuencia complementaria reversa de la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

```
## Obtener la secuencia complementaria reversa
## Obtener la secuencia complementaria
cat data/mirBio.txt | tr 'GACT' 'ctga' | tr [:lower:] [:upper:]
## Obtener la secuencia complementaria reversa
cat data/mirBio.txt | tr 'GACT' 'ctga' | tr [:lower:] [:upper:] | rev
## Convertir el header y la secuencia de cada gene a una línea
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n'
## Buscar nuestra secuencia, en el archivo de genes modificado
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n' | \
 sed -n '/GATGACATTATGGTC/p'
```

¿Existe la secuencia complementaria reversa de la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

```
## Obtener la secuencia complementaria reversa
## Obtener la secuencia complementaria
cat data/mirBio.txt | tr 'GACT' 'ctga' | tr [:lower:] [:upper:]
## Obtener la secuencia complementaria reversa
cat data/mirBio.txt | tr 'GACT' 'ctga' | tr [:lower:] [:upper:] | rev
## Convertir el header y la secuencia de cada gene a una línea
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n'
## Buscar nuestra secuencia, en el archivo de genes modificado
cat data/fnr_gene.fa | tr -d '\n' | tr '>' '\n' | \
 sed -n '/GATGACATTATGGTC/p'
```

¿Existe la secuencia complementaria reversa de la semilla del miRNA mirBio en las secuencias del archivo fnr_gene.fa?

Los dos homólogos en A. thaliana podrían ser regulados por nuestro miRNA putativo, sin embargo el homólogo en O. sativa no podría ser un blanco

Es importante mencionar que esta conclusión es una simplificación del problema real, la complementaridad de los miRNAs con sus genes blanco puede no ser perfecta.

Verifiquemos la vecindad de nuestra secuencia blanco

| gi 115465941 ref NM_001063105.1 gi 145323953 ref NM_001084097.1 gi 145359720 ref NM_126017.5 | GCTCAAGGAGAAGATGTACATTCAGACCAGGATGGCAGAGTACAAGGAAGAGCTGTGG GATAAAGGAGAGAAAATGTATATCCAGACTGGATGGCGCAATACGCAGCTGAGTTATGG GAGAAGGGAGGAAAATGTACATTCAGACAAGAATGGCAGAGTATGCAGAAGAGCTGTGG | 989 1076 1102 |
|--|--|---------------------|
| | * * ****** **** ** **** * **** * ** * * | |
| gi 115465941 ref NM 001063105.1 | GAGCTCCTGAAGAAGGACCACACCTATGTGTACATGTGTGGACTGAAAGGCATGGAGAAG | 1049 |
| gi 145323953 ref NM 001084097.1 | GAGTTGTTGAAGAAGACACACCTTTTTGTTTACATGTGTGGACTCAAGGGAATGGAGAAA | 1136 |
| gi 145359720 ref NM 126017.5 | GAGTTGCTGAAGAAGACACACCTTTGTTTACATGTGTGTG | 1162 |
| g1 143337/10 101 MM_12001/13 | *** * ****** *** *** * *** * *** * *** * | 1101 |
| | | |
| gi 115465941 ref NM 001063105.1 | GGTATTGATGACATTATGGTGTCATTGGCTGCAAAAGATGGAATCGACTGGGCTGATTAC | 1109 |
| gi 145323953 ref NM 001084097.1 | GGAATTGATGACATTATGGTCTCATTGGCTGCAAATGACGGTATTGACTGGTTTGATTAC | 1196 |
| gi 145359720 ref NM 126017.5 | GGTATCGATGACATTATGGTCTCGCTTGCTGCTAAAGATGGGATCGATTGGTTGG | 1222 |
| | ** ** *********** ** * ***** ** ** ** * | |
| | | |
| gi 115465941 ref NM_001063105.1 | AAGAAGCAACTGAAGAAGGGCGAGCAATGGAACGTGGAAGTCTACTAATTCTTCCAATTT | 1169 |
| gi 145323953 ref NM_001084097.1 | AAGAAGCAGTTGAAGAAGGCAGAGCAATGGAACGTTGAAGTCTACTGATCAAAAAGCCTT | 1256 |
| gi 145359720 ref NM_126017.5 | AAGAAGCAATTGAAGAGGAGTGAACAGTGGAATGTTGAAGTCTACTAAGGAAGCTTCTGA | 1282 |
| | ******* ***** * ** ** ** ** ***** * | |
| | | |
| gi 115465941 ref NM_001063105.1 | TCCTCACATCTGTTTCTTTTTTTTCTTCCATTTGTATCTGTGCACATCTGTGCCTGTG | 1229 |
| gi 145323953 ref NM_001084097.1 | TGACATTTCTGTAGCAAAGTATAGCTGAACAAAACTGTAATTTTCGCTTCTG | 1308 |
| gi 145359720 ref NM_126017.5 | GGGAGTAATTATATATGTAGATAAAAAGCTTCTGATGCATTGTGAAATCTTCATATCTG | 1342 |
| | * *** | |
| gi 115465941 ref NM 001063105.1 | ATCACTCTATAATGTTAGATAGGCGTATATATATACTGTTTGTCATGTTGGTTAAATTCA | 1289 |
| gi 145323953 ref NM 001084097.1 | AATTTCTGTATTTTGAAGATAAGTTTTTTAGATATGTTATACTAAAAAAAGAGTTCTTTA | 1368 |
| gi 145359720 ref NM 126017.5 | CTTCTTTTTTCTCAAGGATTTTCAATCAAAACATTCAAAAGAGAGCATCA | 1396 |
| 91 143339720 161 NN_120017.5 | CITCITITICITICITE—ANGUATITICANICANNACATICANA——AUAUAGCATCA | 1390 |
| | | |
| gi 115465941 ref NM 001063105.1 | AGCTTCATATAAGAATTACTACTTATGTCTGATCCAAATACTACTATGGTCAAG | 1343 |
| gi 145323953 ref NM 001084097.1 | ATCATTATCATTTACTTCTTCCCA | 1392 |
| gi 145359720 ref NM 126017.5 | ATACCACCAAACTACTCTTTCTCACTTGTTGTTCATGTTATATTTCTTGCAACAATATAG | 1456 |
| | * * ** ** * | |

Alineamiento realizado con Clustal Omega: https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/

Los genes con los que hemos trabajado son homólogos entre ellos, lo cual quiere decir que provienen de un **ancestro común**.

Averigüemos que tanto han divergido, ¿cuál es su contenido de GC?

El contenido de GC se calcula:

- sumando la cantidad de G's + la cantidad de C's
- dividiendo este número entre la longitud de la secuencia

En equipo:

- Describan el procedimiento que seguirían, incluyendo el comando que aplicarían para cada paso, para resolver el problema.
- Pueden proponer generar tantos archivos intermediarios como sea necesario
- En su propuesta puede no estar incluida la operación aritmética final: $\mathsf{G} + \mathsf{C}$ / longitud, sin embargo, si deben obtener cada elemento de la fórmula
- Preparen una diapositiva con el procedimiento propuesto para presentarla al resto de la clase.

Pueden utilizar todos los comandos vistos durante el curso.

¿Cuál es el contenido de GC para cada gene del archivo fnr_gene.fa?

El procedimiento propuesto por mi:

- Generar archivos independientes para cada gene
- Obtener el contenido de GC
 - Traducir G's y C's a saltos de línea
 - Contar los saltos de linea
- Obtener la longitud de las secuencias
 - Eliminar saltos de línea
 - Contar caracteres

¿Cuál es el contenido de GC para cada gene del archivo fnr_gene.fa?

```
## Generar archivos independientes para cada gene
grep -n ">" data/fnr_gene.fa
wc -l data/fnr_gene.fa

sed -n '2,21p' data/fnr_gene.fa > thaliana_fnr2.txt
sed -n '23,44p' data/fnr_gene.fa > thaliana_fnr1.txt
sed -n '46,65p' data/fnr_gene.fa > sativa_fnr.txt
```

¿Cuál es el contenido de GC para cada gene del archivo fnr_gene.fa?

```
### Obtener el contenido de GC
### Traducir G's y C's a saltos de linea
### Contar los saltos de linea

cat sativa_fnr.txt | tr -d '\n' | tr [CG] '\n' | wc -l
cat thaliana_fnr1.txt | tr -d '\n' | tr [CG] '\n' | wc -l
cat thaliana_fnr2.txt | tr -d '\n' | tr [CG] '\n' | wc -l
```

¿Cuál es el contenido de GC para cada gene del archivo fnr_gene.fa?

```
### Obtener la longitud de las secuencias
### Eliminas saltos de linea
### Contar caracteres

cat sativa_fnr.txt | tr -d '\n' | wc
cat thaliana_fnr1.txt | tr -d '\n' | wc
cat thaliana_fnr2.txt | tr -d '\n' | wc
```

¿Cuál es el contenido de GC para cada gene del archivo fnr_gene.fa?

Contenido de GC = cantidad de G + C/longitud de la secuencia

- A. thaliana FNR1: 648/1509 = 42.9%
- A. thaliana FNR2: 563/1392 = 40.44%
- O. sativa: 719/1373 = 52.36%

Los genes homólogos en A. thaliana son muy parecidos entre ellos (en términos de contenido de GC) y ligeramente diferentes al homólogo en O. sativa

References I