

## **Introducción a la Bioinformática**

### **Instalación de Linux – BioPerl/BioPython/... - Blast Suite**

Para poder desarrollar el trabajo práctico deberán tener instalados el sistema operativo Linux (opcional), el lenguaje de programación de elección (Perl, Python o Java entre otros) con las librerías correspondientes (de BioPerl o de BioPython, ...) y la suite de programas de Blast.

#### **Linux**

Pueden realizar una partición del disco o bien instalar una máquina virtual.

Las distribuciones Linux que suelen utilizarse en bioinformática son Debian o Ubuntu. Existen distribuciones como Bio-Linux cuyos paquetes pueden ser instalados sobre Debian o Ubuntu, o la máquina virtual de DNALinux, ambas ya tienen Perl preinstalado, EMBOSS y otras herramientas que les serán de utilidad ya incluidas.

#### **Perl (lenguaje recomendado para hacer el TP)**

Los programas Perl son llamados scripts y tienen extensión \*.pl (o bien \*.cgi si son aplicaciones web). Perl es un lenguaje interpretado o de scripting (aunque también hay compiladores) cuya estructura deriva del C y toma cosas de la programación shell. Instalación y documentación en:

<http://www.perl.org>

#### **BioPerl**

BioPerl es proyecto comunitario open source de módulos Perl integrados para trabajar con secuencias y anotaciones, acceder a bases de datos remotas, parsear el output de programas como BLAST, FASTA, etc. Es prácticamente esencial para todo bioinformático.

BioPerl-core tiene los módulos principales, BioPerl-run es una colección de módulos que facilitan la ejecución de programas locales como EMBOSS suite. Instalar BioPerl desde

<http://www.bioperl.org>

#### **BLAST local (BLAST+ is a new suite of BLAST tools that utilizes the NCBI)**

La descarga de los programas blast la hacen desde:

<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/doc/blast-help/downloadblastdata.html#downloadblastdata>

Existen distintas maneras de correr Blast de manera local.

Se puede ejecutar con algún comando específico de bioperl o bien desde línea de comando:

```
> blastp -d swissprot -i demo.fasta -o myblast.report          (con standalone Blast)
> blastall -p blastp -d swissprot -i demo.fasta -o myblast.report (con Blast+)
```

Desde BioPerl:

Utilizando el objeto Bio::Tools::Run::StandAloneBlast.pm (con Blast instalado local)

Utilizando el objeto Bio::Tools::Run::RemoteBlast.pm (usando el Blast del NCBI)

BLAST help: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK52637/>

# Introducción a la Bioinformática

## Trabajo Práctico (parte 1)

El presente trabajo práctico tiene por objetivo adquirir las primeras habilidades en el campo de la Bioinformática. Se incluyen cuatro ejercicios donde deberán desarrollar pequeños scripts para resolver problemas específicos. Los mismos pueden ser desarrollados utilizando cualquiera de los lenguajes de programación bioinformática de código abierto como BioPerl, BioJava y BioRuby, que son ampliamente utilizados en la investigación bioinformática y de biología computacional, aunque se sugiere la utilización de BioPerl para facilitar la resolución de los ejercicios. Las herramientas computacionales escritas en estos lenguajes proporcionan múltiples funcionalidades para crear soluciones personalizadas y realizar análisis de datos biológicos. Un quinto ejercicio está relacionado con la comprensión de la información en bases de datos de biología molecular.

Para comenzar el trabajo deben entrar en la base de datos *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) donde encontrarán el catálogo online genes humanos asociados a trastornos genéticos más importante de la actualidad. En grupo decidan sobre qué enfermedad hereditaria quieren investigar y luego a partir de la información en OMIM seleccionen uno más genes asociados a esta patología para comenzar con el ejercicio 1. Este mismo gen o genes deben utilizarse en el ejercicio 5 (en la parte 2 del TP).

Cuando entreguen el TP completo (ambas partes) cada grupo tendrá 10 minutos para exponer cómo realizó el trabajo práctico y comentar sobre su investigación (no tanto sobre el código realizado). Por favor preparen una presentación. La correcta exposición del trabajo realizado por los miembros del grupo también entra en la evaluación.

**Ejercicio 1 – PROCESAMIENTO DE SECUENCIAS.** Escribir un script que lea una o más secuencias (de nucleótidos) de un archivo que contenga la información en formato GenBank de un mRNA de su gen (o genes) de interés, las traduzca a sus secuencias de amino ácidos posibles (tener en cuenta los Reading Frames) y escriba los resultados en un archivo en formato FASTA. Ustedes deben generarse su archivo GenBank de secuencias input, por ejemplo realizando una consulta de los mRNA del gen INS (que está asociado a la Diabetes) en la base de datos de NCBI-Gene y obtener uno o más resultados en formato GenBank en un archivo de texto. Si no desean seguir trabajando con las seis secuencias de aa posibles, pueden utilizar alguna función o programa que les permita saber cuál es el marco de lectura correcto y seguir con esa secuencia.

**NOTA:** Ver aclaración de este ejercicio al final del documento.

- **Input:** Archivo de secuencias Genbank (ej. NMxxxx.gbk con una o más secuencias).
- **Output:** Archivo de secuencias Fasta de cada ORF (ej. Xxxxx.fas con una o más secuencias de aminoácidos).

Deben entregar el script Ex1.pm (si lo hacen con BioPerl, sino será otra extensión) y el input file que utilicen con una breve descripción de lo que hicieron y como se debe ejecutar para probarlo.

**Ejercicio 2.a - BLAST.** Escribir un script que realice un BLAST de una o varias secuencias (si son varias se realiza un Blast por cada secuencia input) y escriba el resultado (blast output) en un archivo. Nota: Pueden ejecutar BLAST de manera remota o bien localmente (si hacen ambos tienen más puntos!), para esto deben instalarse BLAST localmente del FTP del NCBI, luego bajarse la base de datos <ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db/FASTA/swissprot.gz> y descomprimirla en un dir por ej. ncbi-blast-2.3.0+/data/, luego usar el comando ncbi-blast-2.3.0+/bin/makeblastdb sobre el archivo swissprot (el original ya está en formato FASTA) para darle formato de BLAST DB. Dependiendo de la versión de Blast suite que tengan instalado puede que en vez de makeblastdb deban utilizar el comando formatdb.

- **Input: Secuencia Fasta (ej. Xxxx.fas con una o más secuencias de aminoácidos obtenidas en Ej.1).**
- **Output: Reporte Blast (ej. blast.out, si deciden hacer múltiples pueden generar un único o varios archivos).**

Deben entregar el script Ex2.pm y su input file con una breve descripción de lo que hicieron, con una interpretación de los resultados del Blast, y mencionar como se debe ejecutar para probarlo.

**Ejercicio 2.b – Interpretación del resultado del Blast.** Dar una explicación del resultado blast obtenido en términos de las secuencias encontradas y dar una explicación sobre que significan los valores estadísticos asociados a las secuencias encontradas (el capítulo 4 del libro de David Mount puede ayudarlos).

**Ejercicio 3 – Multiple Sequence Alignment (MSA).** Descargar las secuencias (en formato fasta) de 3 o más organismos distintos pertenecientes a otras especies que hayan salido en los resultados del Blast y realizar un alineamiento múltiple con tu secuencia de consulta más estas otras encontradas. Si no pueden hacerlo localmente pueden utilizar algún programa de MSA online. Intenten realizar una interpretación del resultado del alineamiento múltiple. Entregar información del MSA.

## Aclaración para el Ejercicio 1:

Para bajar una secuencia de nuestro gen elegido que funcione para en el Ejercicio 1 y para los demás, deberán bajarse alguno de los RNA mensajeros maduros (transcripto) de su gen de interés. Es decir, una secuencia de mRNA que ya haya sido procesada y no tenga intrones, esta es la secuencia que deben bajarse en formato Genbank y hacer la traducción a su secuencia de aminoácidos.

Por ejemplo, para el gen de la insulina humano (INS Homo sapiens):

1. Hacer una búsqueda en la **base de datos de Genes** e ir a las secuencias de Referencia y seleccionar algunos de los mRNA (NMxxxx)

NCBI Reference Sequences (RefSeq)

RefSeqs maintained independently of Annotated Genomes

These reference sequences exist independently of genome builds. [Explain](#)

**Genomic**

NO\_007114.1 RefSeqGene

Range 496..6416

Download GenBank, FASTA, Sequence Viewer (Graphics)

**mRNA and Protein(s)**

NM\_000207.2 → NP\_000198.1 insulin preproprotein

See identical proteins and their annotated locations for NP\_000198.1

Status: REVIEWED

Description Transcript Variant: This variant (1) represents the shortest variant. All variants encode the same protein.

Source sequence(s) BC053255, BM510748

Consensus CDS CCDS7729.1

UniProtKB/TrEMBL I2WAC9

UniProtKB/Swiss-Prot P51308

Conserved Domains (1) [summary](#)

cd04367 HGF\_insulin\_like; HGF\_like family, insulin\_like subgroup, specific to vertebrates. Members include a number of peptides including insulin and insulin-like growth factors I and II, which play a variety of roles in controlling processes such as metabolism, growth and ...

Location:26 → 110

NM\_001185097.1 → NP\_001172026.1 insulin preproprotein

See identical proteins and their annotated locations for NP\_001172026.1

Status: REVIEWED

Description Transcript Variant: This variant (2) differs in the 5' UTR, compared to variant 1. All variants encode the same protein.

Source sequence(s) AT595204, BM510347, BP322143

Consensus CDS CCDS7729.1

UniProtKB/TrEMBL I2WAC9

UniProtKB/Swiss-Prot P51308

Related ENSP00000250971, OTTHUMP0000011162, ENST00000250971, OTTHUMT0000025394

Conserved Domains (1) [summary](#)

cd04367 HGF\_insulin\_like; HGF\_like family, insulin\_like subgroup, specific to vertebrates. Members include a number of peptides including insulin and insulin-like growth factors I and II, which play a variety of roles in controlling processes such as metabolism, growth and ...

Location:26 → 110

NM\_001185098.1 → NP\_001172027.1 insulin preproprotein

See identical proteins and their annotated locations for NP\_001172027.1

Status: REVIEWED

Description Transcript Variant: This variant (3) differs in the 5' UTR, compared to variant 1. All variants encode the same protein.

Source sequence(s) AC132217, BM510347, BP322143

Consensus CDS CCDS7729.1

UniProtKB/TrEMBL I2WAC9

UniProtKB/Swiss-Prot P51308

Related ENSP00000380432, OTTHUMP00000186038, ENST00000397262, OTTHUMT0000025395

Conserved Domains (1) [summary](#)

cd04367 HGF\_insulin\_like; HGF\_like family, insulin\_like subgroup, specific to vertebrates. Members include a number of peptides including insulin and insulin-like growth factors I and II, which play a variety of roles in controlling processes such as metabolism, growth and ...

Location:26 → 110

NM\_001291697.1 → NP\_001278826.1 insulin preproprotein

See identical proteins and their annotated locations for NP\_001278826.1

Status: REVIEWED

Description Transcript Variant: This variant (4) differs in the 5' UTR, compared to variant 1. All variants encode the same protein.

Source sequence(s) AC132217, BM510347

Consensus CDS CCDS7729.1

UniProtKB/TrEMBL I2WAC9

UniProtKB/Swiss-Prot P51308

Conserved Domains (1) [summary](#)

cd04367 HGF\_insulin\_like; HGF\_like family, insulin\_like subgroup, specific to vertebrates. Members include a number of peptides including insulin and insulin-like growth factors I and II, which play a variety of roles in controlling processes such as metabolism, growth and ...

Location:26 → 110

2. Seleccionar uno de los transcriptos del gen en formato GenBank (en lo posible la isoforma 1):

NCBI Resources How To

Nucleotide Nucleotide Limits Advanced

Display Settings: GenBank Send:

### Homo sapiens insulin (INS), transcript variant 1, mRNA

NCBI Reference Sequence: NM\_000207.2

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS	NM_000207	469 bp	mRNA	linear	PRI 18-MAY-2014
DEFINITION	Homo sapiens insulin (INS), transcript variant 1, mRNA.				
ACCESSION	NM_000207				
VERSION	NM_000207.2 GI:109148525				
KEYWORDS	RefSeq.				
SOURCE	Homo sapiens (human)				
ORGANISM	<a href="#">Homo sapiens</a>				
	Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 469)				
AUTHORS	Tan BK, Lewandowski KC, O'Hare JP and Rande HS.				
TITLE	Insulin regulates the novel adipokine adipolin/CTRP12: in vivo and ex vivo effects				
JOURNAL	J. Endocrinol. 221 (1), 111-119 (2014)				
PUBMED	<a href="#">24492466</a>				
REMARK	GeneRIF: In subcutaneous adipose tissue explants, insulin				

### 3. ORF (Open Reading Frame)

Una vez que tienen la secuencia bajada tengan en cuenta que ustedes desconocen

cuál es el marco de lectura correcto de los 6 posibles. Por lo tanto deberán calcular los 6 marcos de lectura posibles, evaluar todos ellos en el ejercicio 2, y así darse cuenta cuál de los 6 es el real. Existen funciones en BioPerl para hacer esto, o mismo pueden usar el programa OrfFinder para ayudarse.