





TECNOLÓGICO DE ESTUDIOS SUPERIORES DE TIANGUISTENCO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA EN SISTEMAS COMPUTACIONALES

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE: INGENIERO EN SISTEMAS COMPUTACIONALES

"Desarrollo de una herramienta de visualización Integral de datos omicos"

PRESENTA:

JUAN JOSÉ MARTÍNEZ ULLOA

ASESOR:

DR. JESÚS ESPINAL ENRÍQUEZ MTRA. KAROL BACA LOPEZ

TIANGUISTENCO ESTADO DE MÉXICO, MARZO 2018

Resumen.

Abstract.

Agradecimientos.

Índice

1.	Introducción	2
	1.1. Planteamiento del Problema	. 2
	1.2. Justificación	. 3
	1.3. Delimitación	. 3
	1.4. Hipótesis	
	1.5. Objetivos	
	1.5.1. Objetivo General	
	1.5.2. Objetivos Específicos	
	1.6. Aportaciones de la tesis	
2.	Estado del Arte	4
3.	Tecnologías genómica.	4
4.	Microarreglos	4
	4.1. Formato	. 6
	4.2. Plataformas	. 7
	4.3. Metilación	. 7
5.	Propuesta de Solución	8
6.	Metodología	8
	6.1. Diseño de estudio	. 8
	6.2. Circos plot	. 8
	6.2.1. £Qué es Circos plot?	
	6.2.2. Instalación de Circos plot	
	6.3. Galaxy	

1. Introducción

1.1. Planteamiento del Problema

El cáncer de mama es una enfermedad compleja y heterogénea con más de 1,300,000 casos y 450,000 muertes cada año en todo el mundo. Esta enfermedad se caracteriza por diferentes ápectos biológicos como desregulazación de la expresión génica, alteraciones genómicas del ADN, etc. Todo esto da lugar al inicio y desarrollo del carcinoma de mama. En éstos últimos años el uso de datos ómicos, como los basados en microarreglos (microarrays) y secuenciación, se encuentran muy trabajados en el campo de la biomedicina. Todos estos datos permiten estudiar enfermedades desde un punto de vista biomolecular.

Con esto, se ofrecen grandes oportunidades para mejorar tanto la comprención de la enfermedad, como el desarrollo de nuevos métodos para el diagnóstico y tratamiento del paciente, sin embargo, el análisis de estos datos producidos por estas tecnologías, es bastante complejo por lo que es necesario la aplicación de avanzadas técnicas de análisis y cálculos computacionales que permiten obtener la información biológica disponibles. Hasta el día de hoy todos estos datos óptenidos de diversos experimentos, datos de muy alta calidad, datos clinicamente bien anotados, y una gran cantidad de datos de canceres analizados con el fin de encontrar anomalias recurrentes que sean importantes de la enfermedad y estos datos se guardan en diversas plataformas que permiten tener uns gran cantidad de información, pero estos datos no son tan faciles de analizar, por ello, la bioinformática ayuda a manejar estructurar y organizarla para que sea mas fácil de comprender. Circos plot es una de las herramientas que existen para la visualización datos, ideal para explorar las relaciones entre objetos y posiciones. Esta herramienta es flexible, aunque originalmente fue diseñado para visualizar datos genómicos, se puede crear figúras a partir de datos en cualquier campo, desde la genómica hasta la visualización de la migración al arte matemático. Está controlado por archivos de configuración de texto plano, lo que lo hace díficil su incorporación en pipeline de adquisición de datos, análisis e informes. Esta herramienta por manejarse con archivos de texto plano y su interfaz de comunicación con el usuario es la linea de comandos, hace que el tiempo de instalación y desarrollo de una visualización tome muchisimo tiempo y es dificil de utilizar.

1.2. Justificación

La cantidad de información generada a través de las tecnologías de secuenciación masiva son enormes. La integración de toda esa información puede ayudar a tomar decisiones de índole biomédica e incluso clínica. Aunque existen plataformas ya conocidas capaces de presentar esa información de un modo amigable, la programación de dichas herramientas continúa siendo complicada para un usuario final. Es por esto, que generar una herramienta con gran capacidad de visualización, integración de información y facilidad de implementación para un usuario final es de la mayor importancia.

Con el fin de mejorar el rendimiento y la cantidad de tiempo de los investigadores del Instituto Nacional de Medicina Genómica, es fundamental sistematizar este software para reducir el tiempo de programación y la investigación. La sistematización de circos plot, brindará la posibilidad de que el investigador ahorre en tiempo de programación o en dado caso que no se conozca nada del uso nativo de circos plot, leer todo el manual de uso de dicho software, para que ocupe su mayor de tiempo en la investigación y solo tome varios minutos para diseñar su grafica circular llamada circos plot.

1.3. Delimitación

El desarrollo de tecnologías de secuenciación masiva es abrumador. Para poder integrar toda la información proveniente de dichas tecnologías es necesario contar con herramientas adecuadas para la obtención, análisis y visualización de las tecnologías anteriormente mencionadas.

Ante esta problemática, resulta altamente relevante generar una herramienta capaz de condensar en un solo golpe de vista varias capas de información, para que, de este modo, se pueda analizar con un mayor detalle los datos obtenidos.

Circos plot es una herramienta de apoyo visual que permite lograr la visualización a nivel de genoma completo varios tipos diferentes de datos: Expresión, mutaciones, metilación, citobandas, etc., de una manera amigable para el usuario final.

Aunque circos plot tiene grandes ventajas en cuanto a la visualización, su programación es altamente complicada, por lo que generar un back-end que integre de modo sencillo varios tipos de datos, será de la mayor utilidad.

1.4. Hipótesis

El desarrollo de una herramienta de Visualización integral permitirá el análisis de la información de los datos derivados de múltiples plataformas.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Implemetar una herramienta de visualización que integre datos genómicos derivados de múltiples plataformas.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Realizar el pretatamiento de los datos de trascriptoma (Microarreglos).
- Realizar el pretatamiento de los datos de Metilación.
- Desarrollar algoritmo computacional para hacer la búsqueda en la referencia del genoma humano con los datos de trascriptoma y metilación.
- Desarrollar software para preprocesar datos de distintos tipos de tecnologías genómicas.
- Desarrollar software para integrar al backbone de circos plot varias capas de información proveniente del paso anterior.
- Generar opciones de visualización de fácil manejo para el usuario final.

1.6. Aportaciones de la tesis

La presente Tesis aportara

2. Estado del Arte

3. Tecnologías genómica.

Las tecnologías genómicas es el conjunto de herramientas orientadas al estudio integral del funcionamiento, contenido, evolución del genoma. Es una de las áreas más vanguardistas de la biología. La genómica usa conocimientos derivados de distintas ciencias como la biología molecular, la bioquímica, la informática, la estadística, las matemáticas y la física. Para entender un poco más de estas tecnologias y de los datos que se obtiene de las antes mencionadas, hablaremos de las tecnologias genómicas que son: Microarreglos y Metilación.

4. Microarreglos

Un microarreglo de ADN (ácido desoxirribonucleico) tambien llamado DNA chip, tambien llamado **oligonucleotido de DNA chip o gene chip** que consiste en pequeños fragmentos de ADN de los cuales representa un gen diferente [?], es una superficie sólida a la cual se une una colección de fragmentos de

ADN. Las superficies empleadas para fijar el ADN son muy variables y pueden ser de vidrio, plástico e incluso de silicona. Los chips de ADN se usan para analizar la expresión diferencial de genes. Su funcionamiento consiste, básicamente, en medir el nivel de hibridación entre la sonda específica (probe, en inglés), y la molécula diana (target), y se indican generalmente mediante fluorescencia y a través de un análisis de imagen, lo cual indica el nivel de expresión del gen.

Por lo tanto, los microarreglos son una potente fuente de obtencion de perfiles de expresion de genes sometidos a diferente condiciones. Identificar los patrones de los niveles de expresion sera muy util para compararlos y poder estudiar las respuestas de los genes.

Aplicando una serie de procesos experimentales y computacionales sobre los microarreglos se obtiene una una matriz numerica bidimensional que consta de los genes de poblaciones distintas como individuos y de las condiciones experimentales a las que expusieron as celulas como variables en el caso que se quiera estudiar a los genes, o a la inversa, si es que se quiere realizar un estudio comparativo de las condiciones a que se somete. Cada uno de los valores de la matriz representa el nivel de expresion de un determinado gen bajo una cierta condicion experimental.

Estas matrices son de grandes dimensiones puesto que existen una gran cantidad de condiciones experimentales y genes. En la figura 1 se puede observar el modelo de la presentación de los microarreglos. Cada fila representa un gen, el cual debe de ser indicado, cada columna represnta una condición experimental, cuyo nombre tambien debe de ser identicado. Los valores de la matriz son los niveles de expresión de los genes para la condicion experimental.

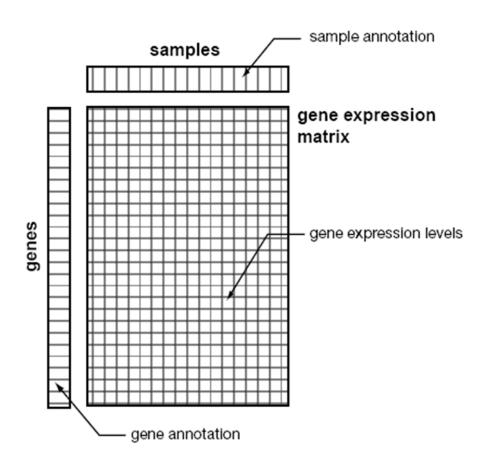


Figura 1: Chip de un Microarreglo

Dado que realizar un analisis de estas matrices de grandes dimensiones es una tarea practicamente imposible, se hace necesarias tecnicas computacionales que permitan analizar todos estos datos y entonces realizar el analisis biologico.

Actualmente existen diferentes bases de datos a nuestro alcance a traves de Internet que unifican y facilitan toda esta informacion genetica ademas de ofrecer diversas herramientas para el analisis de esta gran cantidad de informacion. Algunas de estas bases de datos por ejemplo son las que hay en el EMBL (European Molecular Biology Laboratory), el SIB (Swiss Institute of Bioinformatics), el EBI (European Bioinformatics Institute) o el NCBI (National Center for Biotechnology Information). El EBI y el NCBI son los que mas informacion contienen y por lo tanto los mas utilizados. El tamño de los microarreglos es de 1.28 cm x 1.28 cm, hay 500,000 ubicaciones en cada matriz y por lo general tiene millones de cadenas de ADN construidas en cada ubicación, cada cadena contiene 25 pares bases (Figura 1).

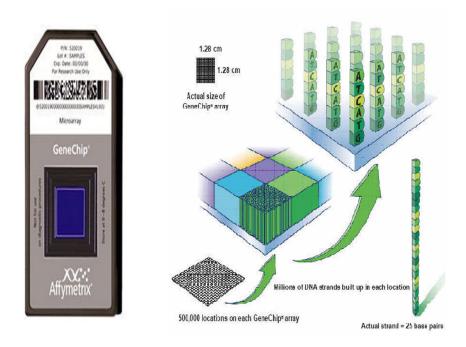


Figura 2: Chip de un Microarreglo.

En estos chips se imprimen las secuencias biologicas en un chip, de manera que se puede cuantificar el transcripción en una matriz numérica.

4.1. Formato

Los archivos están disponibles en un formato de valores separados por comas (CSV). Estos son archivos de texto sin formato con cada fila terminada por un carácter de nueva línea. Los datos en campos separados están entre comillas y separados por comas. Ninguno de los campos de datos contiene ninguno de estos caracteres: comillas, nueva línea, retorno de carro o tabulación.

Estos archivos se usen principalmente en aplicaciones de hojas de cálculo y programas de bases de datos (como bases de datos SQL). Los datos estan formateados de tal manera que estos dos usos sean relativamente fáciles. Se tiene en cuenta que algunos de los archivos y los campos de datos en ellos son grandes.

La primera fila de cada archivo contiene los títulos de los campos que figuran en las filas siguientes.

Cada fila después de la primera fila contiene anotaciones para un solo conjunto de sondas. Todas las anotaciones para ese conjunto de sonda están contenidas en esa única fila. En algunos campos, como las anotaciones de dominio de proteínas, puede haber más de una anotación para un único conjunto de sondas. En este caso, los valores múltiples están separados por la cadena '///'.

En muchos tipos de anotaciones, los subcampos están separados por '//'. Por ejemplo, una anotación para un "GO Biological Process"puede aparecer como "7155 // cell adhesion // predicted / computed". En este caso, las secciones corresponden a ÏD // Descripción // Evidencia", pero el significado de los subcampos varía entre los diferentes tipos de anotación, como se describe a continuación.

Los campos vacíos se indican con '- - -' . El hecho de utilizar una cadena de este tipo en lugar de dejar el campo vacío es que hace que la naturaleza columnar de los datos sea más visible en ciertos programas de hoja de cálculo. Algunas columnas en algunos archivos no contienen datos. Para ayudar a los usuarios a combinar datos de varios archivos, dichas columnas vacías no se eliminan. Por lo tanto, cada archivo tiene las mismas columnas en el mismo orden.

Algunos campos, como Çhip", contienen el mismo valor para cada conjunto de sonda en un archivo. Aunque estos datos son redundantes en cualquier archivo individual, son útiles para los usuarios que combinan datos de varios archivos.

4.2. Plataformas

Actualmente existen diferentes bases de datos a nuestro alcance a través de Internet que unifican y facilitan toda esta información genética además de ofrecer diversas herramientas para el análisis de esta gran cantidad de información. Algunas de estas bases de datos por ejemplo son las que hay en el EMBL (European Molecular Biology Laboratory), el SIB (Swiss Institute of Bioinformatics), el EBI (European Bioinformatics Institute) o el NCBI (National Center for Biotechnology Information). El EBI y el NCBI son los que más información contienen y por lo tanto los más utilizados.

Algunas de la plataformas donde se aloja los datos de microarreglos son varia y una de las más conocidas en la comunidad cientifia es TCGA(The Cancer Genome Atlas) TCGA es una colaboración entre el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) y el Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano (NHGRI) que ha generado mapas completos y multidimensionales de los principales cambios genómicos en 33 tipos de cáncer. El conjunto de datos TCGA, que comprende más de dos petabytes de datos genómicos, se ha hecho públicamente disponible, y esta información genómica ayuda a la comunidad de investigación del cáncer a mejorar la prevención, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer.

Alguna de las plataformas son:

- Illumina
- Affymetrix SNP 6.0

4.3. Metilación

La metilación es un proceso epigenetico que participa en la regulacion de la expresión genica de dos maneras, direcatmente al impedir de la unión de factores de transcripción, e indirectamente proporcionando la estructura çerrada"de la cromatina[?]

5. Propuesta de Solución

La solución ante la problemática planteada, consiste fundamentalmente en incoporporar a circos plot a un interfaz de usuario amigable para el usuario final agregando la mayoria de las funciones del software para su buen funcionamiento, implementando de manera subyacente un programa escrito en python para el mapeo de los datos con el diccionario de referncia del genoma humano para obtener el formato que se requiere para correr el software. Así mismo realizar incorporar circos plot a Galaxy que una platorma que contiene herramientas para análisis de datos para investigación cientifica y de esta manera implementar circos plot en el laboratorio de genómica computacional en el Instituto Nacional de Medicina Genómica

6. Metodología

6.1. Diseño de estudio

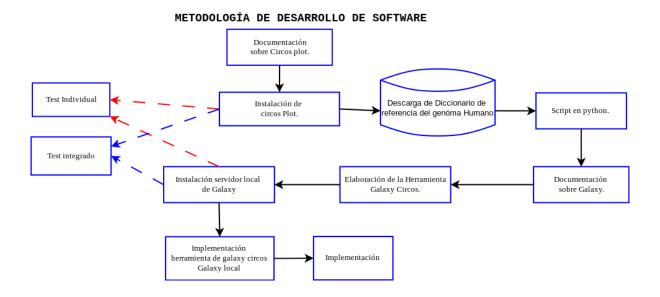


Figura 3: Metodología

6.2. Circos plot

6.2.1. £Qué es Circos plot?

Circos fue diseñado inicialmente para mostrar datos genómicos (particularmente genómica del cáncer y genómica comparativa) y biología molecular. Tiene características específicas que abordan los retos típicos en el dibujo de este tipo de datos, que tienden a ser muy escasa y abarcan un gran número de escalas de longitud.

Circos fue concebido originalmente para visualizar datos genómicos tales como alineaciones y variación estructural. Con el tiempo, se agregó soporte para pistas de datos 2D, tales como trazados de línea, dispersión, mapa de calor e histograma.

A medida que crecía la popularidad de Circos, provocada por una infografía de página completa del New York Times, comenzó a utilizarse para visualizar otros datos, no sólo genómicos.

Es una herramienta de visualización para facilitar la identificación y análisis de similitudes y diferencias que surgen de las comparaciones de genomas. La herramienta es eficaz en la visualización de la variación en la estructura del genoma y, en general, cualquier otro tipo de relaciones de posición entre los intervalos genómicos. Tales datos se producen rutinariamente mediante alineaciones de secuencias, matrices de hibridación, mapeo del genoma y estudios de genotipado. Circos utiliza un diseño de ideograma circular para facilitar la visualización de relaciones entre pares de posiciones mediante el uso de cintas, que codifican la posición, el tamaño y la orientación de los elementos genómicos relacionados. Circos es capaz de mostrar datos como diagramas de dispersión, líneas y histogramas, mapas de calor, mosaicos, conectores y texto. Las imágenes de mapa de bits o vectoriales pueden crearse a partir de entradas de datos estilo GFF y archivos de configuración jerárquica, que pueden generarse fácilmente mediante herramientas automatizadas, lo que hace que Circos sea adecuado para un despliegue rápido en el análisis de datos y en las tuberías de generación de informes.

Circos ha aparecido en muchas publicaciones, tanto científicas como generales. Ha cambiado la forma en que la comunidad científica visualiza alteraciones genómicas (cambios en un genoma en el tiempo, o diferencias entre dos o más genomas). Una aplicación oportuna de este enfoque es la creación de cifras eficaces que muestran cómo los genomas del cáncer difieren de los sanos (por ejemplo, COSMIC: Censo de las mutaciones somáticas en el cáncer).

La comunidad científica biológica ha adoptado a Circos de todo corazón. Por ahora, Circos ha aparecido en las portadas de las publicaciones de Nature y Science, que son las principales revistas científicas del mundo como por ejemplo Bioinformatics, GenomeBiology, nature, Science, Nucleic Acids Research, American Scientis, Genome Reserch, PortFolio, Wired, PNAS, PLOS, entre otras.

Circos plot es una idea original de **Martin Krzywinski** y de un grupo de trabajo atras de el. El articulo donde habla sobre esta nueva herramienta de visualización (*Circos: an information aesthetic for comparative genomics*) fue publicado el 9 de septiembre del 2009 y actualmente tiene 2973 citas, esto quiere decir que es una herramienta verdaderamente utilizada no solo en la biología y todas sus ramas si no en muchas otros campos de la ciencia.

6.2.2. Instalación de Circos plot

Primero, descargamos Circos http://circos.ca/software/download. El contenido de la distribución se describe a continuación. No necesitamos mover o editar ningún archivo en la distribución principal.

Listing 1: Suponiendo que desea instalar en ROOT=/software/circos

```
$ cd ~

$ mkdir software

$ mkdir software/circos

$ cd software/circos

# Descargar Circos y colocalo en el directorio software/circos

$ wget http://circos.ca/distribution/circos-0.69-6.tgz

# Descargar la versión mas actual (Recomendación).

#Descomprime

$ tar xvfz circos-0.69-6.tgz
```

```
10
11
    circos-0.69-6/data/karyotype/karyotype.arabidopsis.txt
    circos-0.69-6/data/karyotype/karyotype.zeamays.txt
12
    circos-0.69-6/data/karyotype/karyotype.oryzasativa.txt
13
    # Crea un enlace simbolico a current
14
    $ ln -s circos-0.69-6 current
15
    # Comprobamos si se creo el enlace simbolico.
16
    $ 1s -1h
17
    drwxrwxr-x 9 juanjo juanjo 4.0K nov 29 10:36 circos-0.69-6/
18
    -rw-rw-r-- 1 juanjo juanjo 22M nov 29 10:36 circos-0.69-6.tgz
19
    lrwxrwxrwx 1 juanjo juanjo 13 nov 29 10:30 current -> circos-0.69-6/
20
    # Borramos el archivo tgz, si ustede quiere
21
```

Para instalar los módulos GD y Perl en Ubuntu, usamos apt-get.

```
$ sudo apt-get -y install libgd2-xpm-dev
```

CORRIENDO CIRCOS

Circos utiliza banderas de línea de comandos, que son obligatorias. Por lo menos, debe especificar el archivo de configuración de imagen usando -conf.

Es una buena idea agregar el **bin/** directorio en la distribución para PATH que pueda ejecutar **bin/circos** desde cualquier lugar.

Añadimos al **root= /software/circos/current** como se describió anteriormente, añadimos esto a nuestro **/.bash-profile**.

```
$ export PATH=~/software/circos/current/bin:$PATH
```

Ejecutamos explícitamente cualquiera /.bashrc /.bash-profile para que esto surta efecto

```
1  $ .~/ .bashrc
2  # o
3  $ .~/ .bash_profile
```

Finalmente, probamos que nuestro PATH ha sido modificado,

```
$ cd ~

2 $ echo $PATH

3 ~/software/circos/current/bin: ...

4 $ which circos

5 ~/software/circos/current/bin/circos
```

Revisando si faltan módulos Perl

Verificamos si tenemos algún módulo faltante

```
$ circos -modules
2
    ok
             1.36 Carp
             0.38 Clone
3
    ok
            2.63 Config::General
   ok
    ok
            3.56 Cwd
            2.158 Data::Dumper
6
    ok
    ok
             2.54 Digest::MD5
    ok
             2.85 File::Basename
    ok
             3.56 File::Spec::Functions
```

```
10
           0.2304 File::Temp
11
    ok
            1.51 FindBin
    ok
             0.39 Font::TTF::Font
12
             2.53 GD
13
    ok
             0.2 GD::Polyline
    ok
14
15
    ok
             2.45 Getopt::Long
    ok
            1.16 IO::File
16
17
    ok
            0.413 List::MoreUtils
18
    ok
             1.41 List::Util
    ok
            0.01 Math::Bezier
19
         1.9997 Math::BigFloat
20
    ok
            0.07 Math::Round
21
22
    ok
             0.08 Math:: VecStat
23
    ok
             1.03 Memoize
    ok 1.53_01 POSIX
24
    ok
            1.26 Params::Validate
    ok
             1.64 Pod::Usage
26
27
    ok
             2.05 Readonly
    ok 2016060801 Regexp::Common
28
            2.64 SVG
29
    ok
    ok
            1.19 Set::IntSpan
30
    ok
31
           1.6611 Statistics::Basic
          2.53_01 Storable
32
    ok
33
    ok
            1.20 Sys::Hostname
    ok
            2.03 Text::Balanced
34
    ok
            0.60 Text::Format
           1.9726 Time::HiRes
36
```

Cuando tenemos estas cosas ya tenemos circos plot instalado en nuestro SO

6.3. Galaxy

Galaxy es una plataforma abierta basada en la web para la investigación biomédica computacional accesible, reproducible y transparente.

Accesible: los usuarios sin experiencia en programación pueden especificar fácilmente parámetros y ejecutar herramientas y flujos de trabajo.

Reproducible: Galaxy captura información para que cualquier usuario pueda repetir y comprender un análisis computacional completo.

Transparente: los usuarios comparten y publican análisis a través de la web y crean páginas, documentos interactivos y basados en la web que describen un análisis completo.

Para obtener instalado galaxy necesitamos seguir los pasos siguientes:

Requisitos

- UNIX / Linux o Mac OSX
- Python 2.7

Empezar

Para producción o usuario único

Clonar Galaxy desde GitHub

```
$ git clone -b release_17.09 https://github.com/galaxyproject/galaxy.git
```

Comenzarlo

Galaxy requiere algunas cosas para ejecutar: un virtualenv, archivos de configuración y módulos dependientes de Python. Sin embargo, iniciar el servidor por primera vez creará / adquirirá estas cosas según sea necesario. Para iniciar Galaxy, simplemente ejecute el siguiente comando en una ventana de terminal:

```
$ cd ~
$ cd /galaxy
# En contadas ocaciones se requiere dara permisos de lectura escritura y ejecución para ello ponmos en terminal:
$ chmod -R 777 run.sh
$ sh run.sh
```

Figura 4: Consola corriendo galaxy.

Esto iniciará el servidor Galaxy en el host local y el puerto 8080. Luego se puede acceder a Galaxy desde nuestro navegador web en http://localhost:8080. Después de comenzar, el servidor de Galaxy imprimirá la salida a la ventana del terminal. Para detener el servidor Galaxy, se puede presionar las Ctrl+C en la ventana de la terminal desde la que se está ejecutando Galaxy. Próximos pasos Convertirse en administrador

Para controlar Galaxy a través de la interfaz de usuario (instalación de herramientas, administración de usuarios, creación de grupos, etc.), los usuarios deben convertirse en administradores . Solo los usuarios registrados pueden convertirse en administradores. Para otorgar privilegios de administrador a un usuario, se completaron los siguientes pasos:

■ En el directorio config/ viene el archivo de configuración pero lo encontramos como **galaxy.ini.sample** pero galaxy no lo reconoce así pero podemos tenerlo simplemente copiarlo como se muestra aqui:

```
$ cd /galaxy/config
$ cp galaxy.ini.sample galaxy.ini
$ vi galaxy.ini
```

 Agregamos el correo electrónico de inicio de sesión Galaxy del usuario al archivo de configuración config/galaxy.ini. Como se muestra aquí:

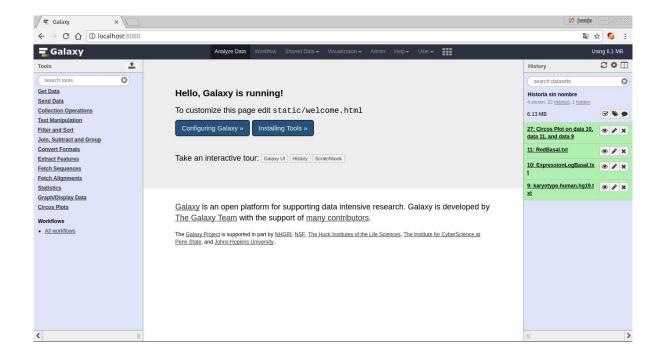


Figura 5: Pantalla principal de Galaxy.

```
# Esta linea viene comentada por lo que hay que descomentarlar y ponemos:
admin_users = jjmartinez@inmegen.edu.mx
```

 Reinicié Galaxy después de modificar el archivo de configuración para que los cambios surtan efecto.