

# **Tutorial Bioinformatica**

Marcel Ferreira - Bolsista/CAPES

2023-12-04

# Table of contents

<b>Sobre esse curso</b>	<b>4</b>
Realização . . . . .	4
Apoio . . . . .	4
Autores . . . . .	4
Colaboradores . . . . .	4
<b>Introdução</b>	<b>5</b>
<b>Primeiros passos</b>	<b>6</b>
Configurações de sistema . . . . .	6
Softwares necessários . . . . .	6
Usuários Windows . . . . .	6
No Ubuntu . . . . .	6
Instalação . . . . .	7
Dados utilizados . . . . .	7
<b>Dia 1 - Sequenciamento de DNA</b>	<b>9</b>
Arquivos . . . . .	9
Atividades . . . . .	9
<b>Dia 2 - Alinhamento de sequências de DNA</b>	<b>11</b>
Arquivos . . . . .	11
Atividades . . . . .	11
<b>Dia 3 - Genotipagem</b>	<b>13</b>
Arquivos . . . . .	13
Atividades . . . . .	13
<b>Dia 4 - Análise de sequenciamento Oxford Nanopore</b>	<b>15</b>
Atividades . . . . .	15
<b>Dia 5 - Genotipagem de STRs a partir de dados de NGS</b>	<b>18</b>
<b>Referências</b>	<b>19</b>

<b>ANEXO: Dicas para uso do Ubuntu/WSL</b>	<b>20</b>
Navegação e Diretórios . . . . .	20
Listar Conteúdo do Diretório . . . . .	20
Mudar de Diretório . . . . .	20
Diretório Atual . . . . .	20
Criar Diretório . . . . .	20
Manipulação de Arquivos . . . . .	20
Copiar Arquivo . . . . .	20
Mover/Renomear Arquivo . . . . .	20
Remover Arquivo . . . . .	21
Visualização de Conteúdo . . . . .	21
Visualizar Conteúdo do Arquivo . . . . .	21
Visualizar Conteúdo do Arquivo (página por página) . . . . .	21
Pacotes e Atualizações . . . . .	21
Atualizar Lista de Pacotes . . . . .	21
Atualizar Pacotes Instalados . . . . .	21
Instalar Novo Pacote . . . . .	21
Gerenciamento de Usuários . . . . .	21
Adicionar Usuário ao Grupo . . . . .	21
Mudar Senha do Usuário . . . . .	22
Processos . . . . .	22
Listar Processos . . . . .	22
Matar um Processo por ID . . . . .	22
Monitorar Recursos do Sistema (htop) . . . . .	22
Medir Tempo de Execução de um Comando (time) . . . . .	22
Rede . . . . .	22
Verificar Configurações de Rede . . . . .	22
Testar Conexão com um Endereço IP . . . . .	22
Entrada e Saída Padrão (stdin/stdout) . . . . .	23
Outros Comandos Úteis . . . . .	23
Ajuda sobre um Comando . . . . .	23
Sair do Terminal . . . . .	23

## Sobre esse curso

### Realização



Figure 1: Realização UnB, UNESP e USP.

### Apoio



Figure 2: CAPES-PROCAD Edital nº 16/2020. Processos 88887.516236/2020-00 e 88881.516238/2020-01.

### Autores

Celso Teixeira Mendes Junior  
Erick da Cruz Castelli  
Marcel Rodrigues Ferreira  
Tamara Soledad Frontanilla Recalde

### Colaboradores

# Introdução

Bem-vindos ao Workshop de Bioinformática Aplicada à Genética Forense: Análise de Dados de Sequenciamento de Segunda e Terceira Geração. Este curso abrangente foi projetado para fornecer a vocês uma imersão prática nas técnicas de análise de dados genômicos, com foco especial na aplicação forense.

A genética forense tornou-se uma ferramenta essencial na resolução de casos criminais, identificação de indivíduos e estabelecimento de relações familiares. Neste workshop de cinco dias, exploraremos os fundamentos e as aplicações práticas do sequenciamento de DNA, abordando desde os conceitos básicos até as técnicas avançadas de genotipagem de STRs (*Short Tandem Repeats*) a partir de dados de *Next-Generation Sequencing* (NGS).

**Dia 1 - Sequenciamento de DNA:** Iniciaremos nossa jornada explorando os princípios fundamentais do sequenciamento de DNA de segunda geração. Compreenderemos as tecnologias por trás desses métodos e sua importância na geração de dados genômicos de alta qualidade. Também serão analisados dados brutos de sequenciamento e seu controle qualidade.

**Dia 2 - Alinhamento de Sequências de DNA:** No segundo dia, mergulharemos na etapa crucial de alinhamento de sequências de DNA. A precisão dessa fase é vital para extrair informações significativas dos dados brutos e identificar variações genéticas.

**Dia 3 - Identificação de Variantes:** Aprofundando-nos ainda mais, dedicaremos o terceiro dia à identificação de variantes genéticas. Exploraremos ferramentas e estratégias para detectar mutações, SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), InDels, e outras variantes que desempenham um papel crucial na individualidade genômica.

**Dia 4 - Análise de Sequenciamento Oxford Nanopore:** No quarto dia, abordaremos uma tecnologia revolucionária: o sequenciamento Oxford Nanopore. Compreenderemos suas vantagens, desafios e exploraremos casos de uso específicos na genética forense.

**Dia 5 - Genotipagem de STRs a partir de dados de NGS:** Encerraremos o workshop com uma exploração prática da genotipagem de STRs, uma ferramenta valiosa para estabelecer perfis genéticos únicos. Aprenderemos a interpretar e analisar esses dados, fornecendo *insights* fundamentais para investigações forenses.

Ao longo desta semana, vocês serão desafiados a aplicar os conhecimentos adquiridos em exercícios práticos e estudos de caso, preparando-os para enfrentar os desafios reais da genética forense na era da bioinformática. Esteja preparado para uma jornada intensiva de aprendizado e descoberta!

# Primeiros passos

## Configurações de sistema

Antes de iniciarmos o tutorial, é imperativo garantir que o sistema atenda às configurações mínimas para uma experiência estável. Utilizaremos sistema Linux. Recomenda-se que a máquina disponha de, no mínimo, 40 GB de armazenamento, 8 GB de memória RAM e um processador i5/i7 ou compatível. No entanto, para uma performance ideal e considerando o potencial de expansão das aplicações, encorajamos a utilização de um sistema com mais de 60 GB de armazenamento e, no mínimo, 16 GB de memória RAM. Essas configurações mais robustas assegurarão não apenas a instalação suave do software, mas também a capacidade de executar múltiplas aplicações de forma eficiente, proporcionando uma experiência mais fluida e responsiva ao usuário.

## Softwares necessários

### Usuários Windows

- [WSL](#) (Windows Subsystem for Linux)
- [IGV](#) (Robinson et al. 2011)
- [FASTQC](#)
- [notepad++](#)

 Tutorial para instalar o WSL

Siga o tutorial da microsoft para instalar o WSL.  
<https://learn.microsoft.com/pt-br/windows/wsl/install>

### No Ubuntu

- [IGV](#) (Robinson et al. 2011)
- [FASTQC](#)
- [Trimmomatic](#) (Bolger, Lohse, and Usadel 2014)
- [bwa](#) (Li 2013)

- [minimap2](#) (Li 2018, 2021)
- [samtools](#) (Danecek et al. 2021)
- [freebayes](#) (Garrison and Marth 2012)
- [vcftools](#) (Danecek et al. 2011)
- [bcftools](#) (Danecek et al. 2021)
- [NanoPlot](#) (De Coster and Rademakers 2023)
- [chopper](#) (De Coster and Rademakers 2023)
- [cramino](#) (De Coster and Rademakers 2023)
- [gzip](#)

## Instalação

### Usuários windows

Usuários windows precisam instalar o Subsistema Windows para Linux (WSL). Os softwares FASTQC e IGV precisam ser instalados no windows e **não no WSL**. Anote a **senha** que você configurou. Ela será fundamental durante o uso do WSL!!!!

Ao terminar a instalação do WSL e de configurar seu usuário no linux utilize os seguintes comandos:

```
sudo apt-get update
```

```
sudo apt-get upgrade
```

Estes comandos irão garantir que o seu sistema esteja atualizado.

### Sobre o comando sudo

O comando **sudo** permite ao usuário executar comandos com permissão superior. Para isso você precisará da sua **senha** (ou do administrador)!

Para instalar softwares no linux (diretamente ou no WSL) utilize o comando **apt install** da seguinte forma:

```
sudo apt install [SOFTWARE]
```

## Dados utilizados

Baixe os dados que serão utilizados neste workshop via [Google Drive](#);

! Utilize o email correto

Para ter acesso aos dados utilize o email que foi fornecido durante a inscrição no evento.

Em caso de erro, entre em contato com a organização.

Os dados totalizam ~20 GB. **Atente-se para isso!!!**

Os dados estão contidos nesta estrutura de pastas descritas a baixo:

### WorkshopDados/

```
--genome/
|  |--chr17.fas1
|  °--hg38.fa
--fast5/
|  °--*arquivos.fast52
--guppy_installer/
|  °--ont-guppy-cpu_6.5.7_linux64.tar.gz3
--LongReadsFastq/
|  |--HG00096.hg38.fastq
|  °--HG00099.hg38.fastq
°--ShortReadsFastq/
|  |--HG00096_r1.fastq
|  |--HG00096_r2.fastq
|  |--HG00097_r1.fastq
|  |--HG00097_r2.fastq
|  |--HG00099_r1.fastq
|  |--HG00099_r2.fastq
|  |--HG00100_r1.fastq
|  |--HG00100_r2.fastq
|  |--NA18486_r1.fastq
|  |--NA18486_r2.fastq
|  |--NA18487_r1.fastq
|  |--NA18487_r2.fastq
|  |--NA18488_r1.fastq
|  |--NA18488_r2.fastq
|  |--NA19648_r1.fastq
|  |--NA19648_r2.fastq
|  |--NA19649_r1.fastq
|  |--NA19649_r2.fastq
|  |--NA19651_r1.fastq
|  °--NA19651_r2.fastq
```

<sup>1</sup>Genoma do cromossomo 17 obtido em [https://timkahlke.github.io/LongRead\\_tutorials/](https://timkahlke.github.io/LongRead_tutorials/)

<sup>2</sup>Arquivos **fast5** obtidos em [https://timkahlke.github.io/LongRead\\_tutorials/](https://timkahlke.github.io/LongRead_tutorials/)

<sup>3</sup>Instalador obtido em <https://community.nanoporetech.com/>



# Dia 1 - Sequenciamento de DNA

## ! Importante

Verifique se o **FASTQC** está instalado.

## Arquivos

Serão utilizados os arquivos contidos na pasta **WorkshopDados/shortReads/**.

Estão dados vieram do projeto 1000 genomas (<https://www.internationalgenome.org/home>) e compreendem 10 amostras: dois trios e quatro amostras isoladas.

## Atividades

O controle de qualidade (QC) dos dados é uma etapa crítica na análise de sequenciamento de nova geração (NGS) para garantir a confiabilidade dos resultados. Abaixo estão as etapas típicas do controle de qualidade:

### 1. Análise Inicial com FASTQC:

- Execute o **FASTQC** nas suas leituras brutas para avaliar a qualidade geral. Isso inclui gráficos e estatísticas que indicam a distribuição da qualidade das bases ao longo das reads, a presença de adaptadores, a presença de sequências *overrepresented*, entre outros.

### 2. Identificação de Adaptadores e Trimagem:

- Com base nos resultados do **FASTQC**, identifique a presença de adaptadores e sequências indesejadas nas extremidades das reads. Utilize o **Trimmomatic** para remover essas sequências, garantindo que apenas dados de alta qualidade sejam mantidos.
- [COMANDO]

### 3. Remoção de Leituras de Baixa Qualidade:

- Algumas leituras podem conter regiões de baixa qualidade. Considere a remoção dessas leituras ou a trimagem de regiões específicas usando ferramentas adequadas, dependendo da natureza do problema.
- [COMANDO]

#### 4. Filtragem de Leituras Curtas ou Longas:

- Dependendo do seu experimento, você pode querer filtrar leituras muito curtas ou muito longas que possam representar artefatos ou problemas experimentais.

#### 5. Avaliação de Qualidade Pós-Trimagem:

- Após a trimagem e filtragem, execute novamente o **FASTQC** para avaliar como essas etapas afetaram a qualidade dos dados. Isso ajudará a garantir que você atingiu os padrões de qualidade desejados.

# Dia 2 - Alinhamento de sequências de DNA

## Arquivos

Os arquivos utilizados para estas análises serão os `.fastq` analisados no primeiro dia.

### Arquivos `.fastq`

Preste atenção para o caminho da pasta aonde estão os `.fastq`. Eles estão na pasta `WorkshopDados/shortReads/`

## Atividades

### 1. Indexação do Genoma de Referência:

- Para o alinhamento de sequências utilizaremos o programa `bwa`. Há outros, como `bowtie2`, `minimap2`, que podem ser utilizados caso seja conveniente. Os comandos abaixo preparam o genoma de referência para o `bwa`.
- Antes de realizar o alinhamento, é necessário indexar o genoma de referência usando o comando `bwa index`. Isso cria arquivos que aceleram o processo de alinhamento.

```
bwa index hg38.fa
```

### Indexação do genoma

O processo para criar o índice do genoma via `bwa index` demora bastante tempo para ser realizado. Mesmo em máquinas com grandes capacidades de memória. Devido a isso colocamos na pasta `WorkshopDados/genome/` os arquivos resultantes desta etapa, que são os arquivos com extensão `.amb`, `.ann`, `.bwt`, `.fai`, `.pac` e `.sa`. O genoma de referência humano esta no arquivo `hg38.fa`. Esse é a última versão do genoma de referência e a mais utilizada no mundo. Caso deseje testar em um genoma menor, utilize o `chr12.fasta`.

### 2. Alinhamento de Sequências:

- Use o **bwa mem** para alinhar suas sequências de DNA ao genoma de referência.
- `bwa mem -R "@RG\tID:{SAMPLE}\tSM:{SAMPLE}" hg38.fa {SAMPLE}_r1.fastq {SAMPLE}_r2.fastq -o {SAMPLE}.sam`

Substitua **reference\_genome.fa**, **{SAMPLE}** pelos nomes dos arquivos correspondentes.

#### 💡 Automatizando o processo (Opcional)

Caso tenha experiência em programação, você pode utilizar um **loop**, como **for** ou **while**, para rodar todas as amostras ao mesmo tempo. Você pode utilizar o próprio **bash** (ubuntu) ou sua linguagem de programação favorita, como **python**, **perl**, **R**, etc.

Você poderá incluir as etapas seguintes no mesmo **loop**.

### 3. Converter Formato SAM para BAM e ordenar os reads:

- O arquivo de saída do **bwa mem** é no formato SAM. Converta-o para o formato BAM, mais compacto e eficiente.
- `samtools sort {SAMPLE}.sam > {SAMPLE}.bam`

### 4. Indexar o Arquivo BAM:

- Ordene o arquivo BAM para facilitar a busca e indexe-o para melhorar o desempenho de ferramentas subsequentes.
- `samtools index {SAMPLE}.bam`

### 5. Visualização do Alinhamento:

- Use o **IGV** (Integrative Genomics Viewer) para visualizar o alinhamento (**{SAMPLE}.bam**) e verificar sua qualidade.

### 6. Use o IGV para observar várias amostras ao mesmo tempo

# Dia 3 - Genotipagem

## Arquivos

## Atividades

### 1. Preparação do Ambiente:

- Certifique-se de que o **freebayes** está instalado no seu ambiente. Você pode instalar com `sudo apt install freebayes`.

### 2. Indexação do Genoma de Referência (se ainda não estiver indexado):

- Assim como na etapa de alinhamento, o genoma de referência deve ser indexado.
- `samtools faidx hg38.fa`
- Caso utilize um genoma menor, atualize o nome.

### 3. Crie um arquivo com os nomes das amostras BAM:

- Entre na pasta onde estão os arquivos BAM gerados e utilize o comando `ls` como abaixo
- `ls *.bam > bam_list.txt`

### 4. Chamada de Variantes com freebayes:

- Execute o **freebayes** para chamar variantes a partir do arquivo BAM gerado após o alinhamento.
- `freebayes -f reference_genome.fa -L bam_list.txt -t bed_file.bed > variantes.vcf`

#### Otimizando o uso do freebayes

Caso o computador que esteja utilizando abortar o processo por falta de memória, você pode optar por reduzir o número de amostras em `bam_list.txt`. É importante destacar que a análise correta de genotipagem via **freebayes**

requer que todas as amostras sejam analisadas simultaneamente, mas para fim de aprendizado esta é uma estratégia.

## 5. Filtragem de Variantes (opcional):

- Dependendo dos seus critérios e do tipo de análise, pode ser necessário filtrar as variantes chamadas pelo **freebayes** para reduzir o número de falsos positivos. Abaixo estão alguns exemplos
- `bcftools view --exclude 'QUAL>1' variantes.vcf > variantes_filtradas.vcf`
- `bcftools view --trim-alt-alleles variantes_filtradas.vcf > variantes_filtradas_trim.vcf`
- `bcftools view --min-ac 1 variantes_filtradas_trim.vcf > variantes_filtradas_trim_minac.vcf`
- `bcftools norm -f hg38.fa variantes_filtradas_trim_minac.vcf > variantes_filtradas_trim_minac_norm.vcf`
- Adapte os critérios de filtragem conforme necessário.

## 6. Análise e Interpretação de Variantes:

- Utilize ferramentas como **VCFtools** para realizar análises adicionais no arquivo VCF, como filtragem específica e anotações.

## 7. Visualização de Variantes:

- Use o **IGV** para visualizar as variantes em relação ao genoma de referência e avaliar sua qualidade.
- Você pode abrir ao mesmo tempo o VCF e o alinhamento (BAM) de uma mesma amostra. Caso deseje.

## Dia 4 - Análise de sequenciamento Oxford Nanopore

### ! Importante

O software guppy só esta disponível para download via comunidade da Oxford Nanopore. Para este tutorial fornecemos um arquivo `.tar` para instalação em sua máquina. O arquivo esta na pasta **WorkshopDados/guppy\_installer/**

Para instalar siga os seguintes passos:

Acesse a pasta que contem o arquivo `.tar` e descompacte;

```
tar -xf ont-guppy-cpu_6.5.7_linux64.tar.gz
```

Verifique o caminho completo para a pasta

```
pwd
```

Executando guppy via caminho completo (Exemplo pedindo ajuda)

```
./guppy_basecaller --help
```

Este tutorial foi inspirado no tutorial do Tim Kahlke<sup>4</sup> e em nossas experiências durante os trabalhos com ONT.

### Atividades

#### 1. Realize uma chamada de base utilizando guppy (Opicional):

- Verifique os workflows disponíveis para esta versão de guppy;
- Realize chamada de base para todos os arquivos `fast5` contidos na pasta **WorkshopDados/fast5/**;
- COMANDO

### ⚠ Aviso

O tempo de execução da chama de base (para este conjunto de dados) é superior a **12 horas** em máquinas de uso pessoal, e pode acabar inutilizando seu uso. Caso deseje praticar, recomendamos que seja feito em um momento onde não precise da

<sup>4</sup> [https://timkahlke.github.io/LongRead\\_tutorials/](https://timkahlke.github.io/LongRead_tutorials/)

máquina para outras atividades. Para este tutorial utilize o resultado da chamada de base contido na pasta **WorkshopDados/LongReadsFastq/**

## 2. Avaliação da qualidade do arquivo resultado .fastq:

- Utilize o NanoPlot para gerar gráficos de qualidade da amostra;
- NanoPlot --fastq [AMOSTRA].fastq -o [OUTDIR] --N50 --verbose

## 3. Filtre as leituras baseado no tamanho e qualidade:

- Utilize chopper para isso
- chopper < [AMOSTRA].fastq -q [QUALIDADE] -l [TAMANHO\_MIN] > [AMOSTRA]\_filtrada.fastq

! Por que usar < no comando chopper?

O comando < garante que o arquivo fastq da amostra seja direcionado para entrada (**stdin**) do comando no **chopper**. Em nossas experiências já tivemos a necessidade de utilizar algumas vezes e outras não.

## 4. Alinhamento das Sequências:

- Use o minimap2 para alinhar suas sequências de DNA ao genoma de referência.
- minimap2 -ax map-ont [REFERENCE\_GENOME].fa [AMOSTRA].fastq /  
-R "@RG\tID:{SAMPLE}\tSM:{SAMPLE}" -t [THREADS] > [AMOSTRA].sam

🔥 Consumo de memória durante a etapa

O alinhamento via minimap2 tem pico de consumo de memória de ~ 13 GB. Caso seu computador disponha desta capacidade utilize o arquivo resultante na pasta **WorkshopDados/pre\_run/Dia4/**

- Realize novamente utilizando **bwa mem** desta vez (Opicional);

⚠ Tempo de execução do bwa

Atenção, o **bwa** demora quase 10x mais que o **minimap2**

- bwa mem -x ont2d [REFERENCE\_GENOME].fa [AMOSTRA].fastq /  
-R "@RG\tID:{SAMPLE}\tSM:{SAMPLE}" -t [THREADS] > [AMOSTRA].sam



#### Opcional

Realize uma montagem *de novo* utilizando o pipeline `minimap2-miniasm`. Este processo pode levar várias horas/dias. Tome cuidado!

### 5. Gerar o arquivo BAM indexado:

- Repita os passos 3 e 4 do dia 2 utilizando `samtools`;

### 6. Visualização do Alinhamento:

- Importe o BAM para o IGV e avalie sua qualidade;
- Compare as amostras com suas respectivas amostras de short reads;

### 7. Realize a Genotipagem das Amostras de long reads:

- Utilize o `freebayes` para realizar a genotipagem e modo similar ao passo 3 do dia 3;

#### Tempo de execução da genotipagem em Long Reads

O tempo de execução do `freebayes` para arquivos de ONT pode ser bem demorado! Você pode optar por modificar o arquivo `bed` fornecido para trabalhar com menos regiões.

Para os formulários utilize o `vcf` resultante em **WorkshopDados/pre\_run/Dia4/**

- Repita as métricas de filtragem utilizadas no passo 4 do dia 3;
- Repita os passos 5 e 6 do dia 3, comparando aos resultados de short reads.

## **Dia 5 - Genotipagem de STRs a partir de dados de NGS**

# Referências

- Bolger, Anthony M., Marc Lohse, and Bjoern Usadel. 2014. “Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data.” *Bioinformatics* 30 (15): 2114–20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
- Danecek, Petr, Adam Auton, Goncalo Abecasis, Cornelis A. Albers, Eric Banks, Mark A. DePristo, Robert E. Handsaker, et al. 2011. “The Variant Call Format and VCFtools.” *Bioinformatics* 27 (15): 2156–58. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>.
- Danecek, Petr, James K Bonfield, Jennifer Liddle, John Marshall, Valeriu Ohan, Martin O Pollard, Andrew Whitwham, et al. 2021. “Twelve Years of SAMtools and BCFtools.” *GigaScience* 10 (2). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>.
- De Coster, Wouter, and Rosa Rademakers. 2023. “NanoPack2: Population-Scale Evaluation of Long-Read Sequencing Data.” Edited by Can Alkan. *Bioinformatics* 39 (5). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad311>.
- Garrison, Erik, and Gabor Marth. 2012. “Haplotype-Based Variant Detection from Short-Read Sequencing.” <https://doi.org/10.48550/ARXIV.1207.3907>.
- Li, Heng. 2013. “Aligning Sequence Reads, Clone Sequences and Assembly Contigs with BWA-MEM.” <https://doi.org/10.48550/ARXIV.1303.3997>.
- . 2018. “Minimap2: Pairwise Alignment for Nucleotide Sequences.” Edited by Inanc Birol. *Bioinformatics* 34 (18): 3094–3100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>.
- . 2021. “New Strategies to Improve Minimap2 Alignment Accuracy.” Edited by Can Alkan. *Bioinformatics* 37 (23): 4572–74. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab705>.
- Robinson, James T, Helga Thorvaldsdóttir, Wendy Winckler, Mitchell Guttman, Eric S Lander, Gad Getz, and Jill P Mesirov. 2011. “Integrative Genomics Viewer.” *Nature Biotechnology* 29 (1): 24–26. <https://doi.org/10.1038/nbt.1754>.

# **ANEXO: Dicas para uso do Ubuntu/WSL**

## **Navegação e Diretórios**

### **Listar Conteúdo do Diretório**

```
ls
```

### **Mudar de Diretório**

```
cd nome_do_diretorio
```

### **Diretório Atual**

```
pwd
```

### **Criar Diretório**

```
mkdir nome_do_novo_diretorio
```

## **Manipulação de Arquivos**

### **Copiar Arquivo**

```
cp arquivo_origem destino
```

### **Mover/Renomear Arquivo**

```
mv arquivo_origem novo_nome_ou_destino
```

## **Remover Arquivo**

```
rm nome_do_arquivo
```

## **Visualização de Conteúdo**

### **Visualizar Conteúdo do Arquivo**

```
cat nome_do_arquivo
```

### **Visualizar Conteúdo do Arquivo (página por página)**

```
less nome_do_arquivo
```

## **Pacotes e Atualizações**

### **Atualizar Lista de Pacotes**

```
sudo apt update
```

### **Atualizar Pacotes Instalados**

```
sudo apt upgrade
```

### **Instalar Novo Pacote**

```
sudo apt install nome_do_pacote
```

## **Gerenciamento de Usuários**

### **Adicionar Usuário ao Grupo**

```
sudo usermod -aG nome_do_grupo nome_do_usuario
```

## **Mudar Senha do Usuário**

```
passwd nome_do_usuario
```

## **Processos**

### **Listar Processos**

```
ps aux
```

### **Matar um Processo por ID**

```
kill -9 processo_id
```

### **Monitorar Recursos do Sistema (htop)**

```
htop
```

### **Medir Tempo de Execução de um Comando (time)**

```
time comando_a_ser_medido
```

## **Rede**

### **Verificar Configurações de Rede**

```
ifconfig
```

### **Testar Conexão com um Endereço IP**

```
ping endereco_ip
```

## Entrada e Saída Padrão (stdin/stdout)

- **stdin (Standard Input):** É a entrada padrão de dados. Um programa pode ler dados a partir do stdin. Exemplo:
  - `cat < nome_do_arquivo`
- **stdout (Standard Output):** É a saída padrão de dados. Um programa geralmente imprime resultados no stdout. Exemplo:
  - `ls > lista_de_arquivos.txt`
- **stderr (Standard Error):** É a saída padrão para mensagens de erro. Exemplo:
  - `comando_inexistente 2> erro.log`

## Outros Comandos Úteis

### Ajuda sobre um Comando

`man nome_do_comando`

### Sair do Terminal

`exit`