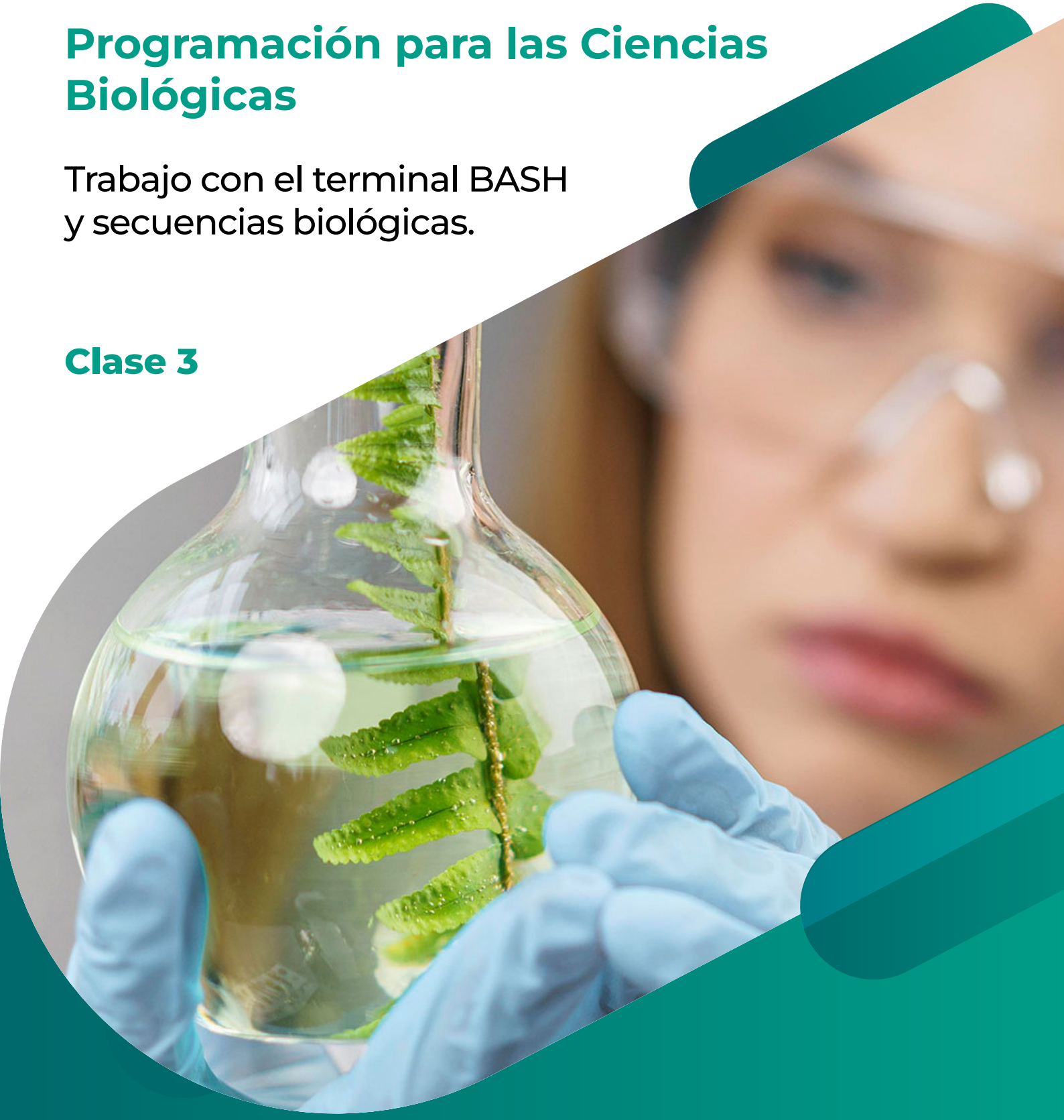
Programación para las Ciencias Biológicas

Trabajo con el terminal BASH y secuencias biológicas.



Clase 3

MAESTRÍA EN MAESTRÍA EN BIOLOGÍA COMPUTACIONAL

La excelencia no se improvisa

1. INTRODUCCIÓN DE LA CLASE

Bienvenidos a la tercera sesión, en la cual, una vez que hemos conocido los conceptos básicos de BASH, nos adentraremos en el desarrollo de scripts para el análisis bioinformático y como conectarnos remotamente a un servidor a través de ssh.

BASH permite la generación de archivos de texto plano que contengan las instrucciones de procesos que realizaríamos a través de un terminal. Estos archivos que contienen instrucciones se denominan scripts y permiten realizar programas para automatizar procesos que podrían ser tediosos, pero que con este lenguaje de programación se pueden simplificar.

De manera complementaria, y considerando que en el mundo de la biología computacional es muy común acceder de forma remota a servidores que tienen grandes capacidades de cómputo para realizar varios trabajos relacionados con el área, revisaremos cómo nos podemos conectar remotamente a un servidor usando el terminal BASH, CMD de Windows® o la herramienta PuTTY®.

En el ámbito de la bioinformática, donde el manejo de grandes volúmenes de datos y la ejecución eficiente de tareas repetitivas son parte fundamental del trabajo, dominar herramientas de automatización y procesamiento resulta esencial. En esta sesión fortaleceremos las competencias necesarias para abordar estos desafíos mediante el uso de scripts en BASH, una de las herramientas más poderosas y versátiles en el análisis de datos bioinformáticos.

También exploraremos cómo escribir y ejecutar scripts en BASH para realizar operaciones complejas de manera eficiente. Aprenderemos a utilizar diversas herramientas de edición de texto que facilitan la manipulación de archivos y mejoran nuestra productividad. Estas habilidades permitirán a los participantes transformar tareas manuales y tediosas en procesos automáticos, reduciendo significativamente el tiempo y los errores asociados al trabajo manual.

Además, se introducirá el uso de SSH (Secure Shell), una herramienta indispensable para la conexión remota a servidores. Dominar esta habilidad es fundamental no solo para acceder a recursos informáticos de alto rendimiento, sino también para colaborar de manera efectiva en proyectos distribuidos que involucran el análisis de datos masivos.

Al finalizar el curso, los participantes estarán preparados para aplicar estos conocimientos en proyectos bioinformáticos, optimizando su flujo de trabajo y aumentando su capacidad

para enfrentar problemas complejos en el análisis de datos biológicos. Este conjunto de habilidades les permitirá ser más eficientes y competitivos en un campo en constante evolución.

Clase 3:

RDA1. Desarrollar algoritmos con lenguaje de programación estructurado de línea de comandos para secuencias biológicas.

Trabajo con el terminal BASH y secuencias biológicas.

1.5. Manejo de archivos de secuencias biológicas desde el terminal.
1.5.1. Comandos avanzados para manipulación de archivos grandes de secuencias:
1.5.1.1. Lectura y modificación de archivos en formato FASTA, FASTQ, GFF, y otros formatos bioinformáticos.
1.5.1.2. Uso de head, tail, y split para la gestión de archivos de secuencias grandes.
1.5.2.3. Ejercicios prácticos para extraer y procesar subregiones de secuencias biológicas.

1.6. Estructuras de programación en BASH aplicadas a bioinformática
1.6.1. Estructuras de control: IF, FOR, WHILE
1.6.1.1. Implementación de ciclos y estructuras condicionales para automatización de tareas bioinformáticas.
1.6.1.2. Ejemplos prácticos en el análisis de archivos de secuencias biológicas.
1.6.2. Iteración sobre secuencias
1.6.2.1. Implementación de bucles para procesar múltiples archivos de secuencias de ADN o ARN.
1.6.2.2. Automatización de tareas repetitivas para análisis masivo de secuencias.

Referencias citadas en la Clase 3.

Videos:
1. Scripts con BASH
https://seracademia.com/academia/Bio_Info/M3/Videos/Cuaderno3_BASH.mp4

https://seracademia.com/academia/Bio_Info/M3/Videos/Cuaderno4_BASH.mp4

2. Uso avanzado del terminal BASH

Cuadernos de trabajo Jupyter

1. Cuaderno3_BASH_Apellido_Nombre.ipynb
2. Cuaderno4_BASH_Apellido_Nombre.ipynb

Referencias Bibliográficas

1. Bash Reference Manual (Fundación GNU, 2024), Disponible en: <https://www.gnu.org/software/bash/manual/bash.html>

2. Advanced Bash-Scripting Guide, An in-depth exploration of the art of scripting (The Linux Docmentation Project, 2014), Disponible en <https://tldp.org/LDP/abs/html/>

3. sed, a stream editor (Fundación GNU, 2024), disponible en <https://www.gnu.org/software/sed/manual/sed.html>

4. FastQC, A quality control tool for high throughput sequence data (Babraham Bioinformatics Intitute, 2024), disponible en <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>

Definición de los términos citados en la Clase 3.

1. **Bash:** Bash (acrónimo de Bourne Again Shell) es un intérprete de comandos y lenguaje de scripting utilizado en sistemas Unix y basados en Unix, como Linux y macOS. Bash permite a los usuarios interactuar con el sistema operativo a través de la línea de comandos para realizar tareas como gestionar archivos, ejecutar programas, y automatizar procesos mediante scripts. Es uno de los más populares debido a su flexibilidad y compatibilidad con una amplia variedad de entornos.
2. **Script:** Archivo de texto que contiene una serie de comandos que se ejecutan secuencialmente por un intérprete, como Bash. Los scripts son usados para automatizar tareas repetitivas, configurar sistemas, procesar datos, entre otras aplicaciones. En el contexto de Bash, los scripts están escritos en su lenguaje específico y suelen tener extensiones como .sh o ninguna.
3. **Bash Scripting:** Práctica de escribir scripts utilizando el lenguaje del intérprete Bash. Esto incluye combinar comandos del sistema, estructuras de control (como bucles y condiciones), y funciones para realizar tareas más avanzadas y automatizadas. El Bash scripting es ampliamente usado en la administración de sistemas, la programación de tareas cron (automatización temporal), y el procesamiento de datos.
4. **Shebang:** Es una secuencia de caracteres que aparece al inicio de un archivo de texto ejecutable en sistemas Unix y basados en Unix. Su propósito es indicar al sistema qué intérprete debe utilizar para ejecutar el contenido del archivo. El shebang comienza con #!, seguido por la ruta absoluta del intérprete deseado, por ejemplo; **#!/bin/bash**
5. **Hashbang:** Es un término coloquial que se utiliza como sinónimo de shebang. El nombre proviene de la combinación de los caracteres # (hash) y ! (bang). Aunque los términos son intercambiables, "shebang" es más comúnmente utilizado en contextos técnicos y documentación oficial.
6. **#!/bin/bash**: Conocida como shebang o hashbang aparece al inicio de los scripts de Bash. Indica al sistema operativo que el archivo debe ser ejecutado usando el intérprete especificado.
7. **Parámetros Posicionales $i**: Son variables predefinidas en Bash que representan los argumentos alimentados a un script o función desde la línea de comandos. Cada argumento se asigna automáticamente a una variable numerada según su posición en la lista de argumentos. Así, por ejemplo; “$1: Primer argumento”,

"$2: Segundo argumento", "3: Tercer argumento", … y así sucesivamente, hasta $n, dependiendo del número de argumentos proporcionados.

8. **$#**: En Bash, la variable especial $# representa el número de argumentos posicionales que se pasaron al script o función en el momento de su ejecución. Es útil para determinar cuántos argumentos fueron proporcionados por el usuario y para controlar la lógica del script en función de esa cantidad.
9. **$0**: En Bash, la variable $0 es un parámetro especial que representa el nombre del script o comando que se está ejecutando. Su valor depende del contexto en el que se ejecuta el script. Así en un script $0 contiene el nombre del archivo del script, ya sea como ruta absoluta o relativa, dependiendo como fue lanzado.
10. **$* y $@**:En Bash, $* y $@ son variables especiales que representan todos los argumentos posicionales pasados a un script o función, pero tienen diferencias sutiles en cómo manejan esos argumentos, especialmente cuando se utilizan dentro de comillas dobles (").
    - $*: Representa todos los argumentos como una sola cadena y si se utiliza entre comillas dobles ("$*"), todos los argumentos se concatenan en una única cadena, separados por el primer carácter del Internal Field Separator (IFS) (por defecto, un espacio).
    - $@: Representa todos los argumentos, pero cada uno se trata como un elemento individual. Si se utiliza entre comillas dobles ("$@"), cada argumento se conserva como una unidad separada, lo que es útil para preservar espacios o caracteres especiales en los argumentos.
11. **IFS**: La variable IFS (Internal Field Separator) es una variable especial en Bash que determina los caracteres utilizados para dividir una cadena de texto en campos o tokens durante ciertas operaciones, como la iteración de bucles, la lectura de entradas o la expansión de variables. Por defecto, IFS contiene los caracteres: "Espacio ( )", "Tabulación (\t)" y "Nueva línea (\n)", esto significa que, en ausencia de una personalización explícita, Bash utiliza estos caracteres para separar campos.
12. **ZCAT:** El comando zcat se utiliza en sistemas Unix/Linux para visualizar el contenido de archivos comprimidos en formato gzip (.gz) sin necesidad de descomprimirlos físicamente en el disco. Es especialmente útil cuando se trabaja con archivos grandes y se quiere ahorrar espacio y tiempo.
13. **ZGREP**: El comando zgrep permite buscar patrones de texto dentro de archivos comprimidos en formato gzip (.gz) sin necesidad de descomprimirlos previamente. Combina la funcionalidad de grep (búsqueda de patrones) y zcat (lectura de archivos comprimidos).

14. **FASTA**: FASTA es uno de los formatos más utilizados para representar secuencias biológicas. Un archivo FASTA contiene secuencias de ADN, ARN o proteínas precedidas por un encabezado que comienza con un signo de mayor (>).
15. **FASTQ**: Es un formato que contiene más información que un archivo FASTA, ya que incorpora la calidad de las lecturas de secuenciación. Un archivo FASTQ tiene cuatro líneas para cada secuencia: el identificador, la secuencia, un separador (+), y la línea con los valores de calidad.
16. **GFF**: Los archivos GFF son un estándar ampliamente utilizado en bioinformática para describir características genómicas de secuencias de ADN, ARN o proteínas. Estos archivos contienen información estructurada sobre anotaciones, como genes, exones, intrones, regiones promotoras, sitios de inicio de transcripción, y otros elementos funcionales.
17. **SSH (Secure Shell)**: Protocolo de red que permite la conexión segura a un servidor remoto a través de una red no segura. SSH proporciona autenticación y cifrado para proteger la comunicación, permitiendo a los usuarios ejecutar comandos, transferir archivos y gestionar sistemas de manera remota con seguridad.

Profundización Clase 3.

Clase 3:

RDA1: Desarrollar algoritmos con lenguaje de programación estructurado de línea de comandos para secuencias biológicas.

Trabajo con el terminal BASH y secuencias biológicas.

1.5. Manejo de Archivos de Secuencias Biológicas desde el Terminal

El manejo de archivos de secuencias biológicas en bioinformática es fundamental para el análisis de datos genómicos. Los formatos más comunes incluyen FASTA, FASTQ, GFF y otros formatos específicos. A continuación, se presentan técnicas para manipular estos archivos desde la terminal usando herramientas de Linux y Bash.

1.5.1. Comandos Avanzados para Manipulación de Archivos Grandes de Secuencias

Los archivos de secuencias biológicas, especialmente cuando contienen grandes volúmenes de datos (por ejemplo, resultados de secuenciación de alto rendimiento), pueden ser bastante grandes y difíciles de manejar. Sin embargo, con los comandos adecuados desde BASH se pueden gestionar y procesar de manera eficiente.

1.5.1.1. Lectura y Modificación de Archivos en Formato FASTA, FASTQ, GFF y Otros Formatos Bioinformáticos

El siguiente ejemplo muestra las tres primeras líneas de cada secuencia del archivo FASTA analizado:

```
grep ">" -A3 sampledata/t-coffee/sproteases_small_dna.fasta |head -n20
```

```
>sp|P29786|TRY3_AEDAE
atgaaccagttcttgtttgtatcattttgtgctcttttagattccgcgaa
agtgagcgccgccaccttaagtagtggtcgaatcgtaggggggtttcaga
tagatattgctgaagtaccacaccaagtgagcctacagaggtctggtcgt
--
>sp|P35037|TRY3_ANOGA
atgatttctaacaagatagctattctactggcggttttagttgtagctgt
cgcatgtgcacaggctcgagtagcacagcaacaccgcagcgttcaggctt
tacctcgttttctccctcgtcccaagtatgatgtgggtcatcgcatcgtt
```

--
>sp|P03953|CFAD_MOUSE
atgcattcgagtgtctattttgtggcgttggtgatacttggggccgctgt
atgcgccgcacaacctcgtggaagaattctgggaggacaggaggcagctg
cgcacgcaaggccctatatggcttctgttcaggtaaatggaactcacgtt
--
>sp|P20160|CAP7_HUMAN
atgacgaggctcactgtgttagccttactcgctgggttgcttgcgagttc
cagagctggatcatcaccattgctggatattgtcggtggtcgaaaagcac
gtccgaggcagtttcccttcctggcgagcattcaaaatcaaggtcgccat
--

Para visualizar el contenido de un archivo FASTA , como se mencionó previamente, es posible emplear el comando cat:

cat sampledata/t-coffee/sproteases_small_dna.fasta

(se muestran solo las primeras líneas)

>sp|P29786|TRY3_AEDAE
atgaaccagttcttgtttgtatcattttgtgctcttttagattccgcgaa
agtgagcgccgccaccttaagtagtggtcgaatcgtagggggggtttcaga
tagatattgctgaagtaccacaccaagtgagcctacagaggtctggtcgt
…..
…..

Mientras que, para buscar patrones o secuencias en un archivo FASTA, se puede usar grep:

grep -n "atgaacc" sampledata/t-coffee/sproteases_small_dna.fasta

2:atgaaccagttcttgtttgtatcattttgtgctcttttagattccgcgaa
47:acaccagttacgtgtctctataatgaaccgaacaacgtgcaatctgcgta
209:acagcctatcgaagaatgaacccatgaaacaaacattcgagattaaaaaa

La salida del comando indica que se han encontrado coincidencias coincidencias en las líneas 2, 47 y 209

A continuación se presenta un ejemplo de archivo FASTQ:

head SRR957824_1.fastq

@SRR957824.1 1/1
ACTATGAGCGAAACGGCATCCTGGCAGCCGAGCGCATCCATTCCTAAC
TTATTAAAACGCGCGGCGATTATGGCGGAGAACCCTCGTTTCTTTTCCC
ATCGTGGAGTGCTGGAGGTGGAGACGCCCTGTATGTGCCAGGCGACG
GTAACC
+
?????BBBDDDDDDDBDFFFFFFFFFHHHICEEEEHBHHIIIIIIIFGHHIIIIHFGH
HCEEHEEHBEDFEFEFD>B@##
##################################
@SRR957824.2 2/1
GATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCACAGCGCTATCTCGTAT
GCCGTCTTCTGCTTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATCATACTAATA
TGAGTTCGATATATAAACTGAAAGATCAAACATGAGTTCATCAGTGTA
CTATATA
+
????????DDDDDDDDGGGGGGIIIIIIHIIHIIHHHHHHHHHHIFHHIIHHHHHHI
HGHHIIIFGHDHHEHHE##
##################################
@SRR957824.3 3/1
TGGCTAACCCGGATACCACTTCCGGCGAAATGTGCGTATTATCCACAG
ATTCATCGTTTAACACGAATTTTCAAAACGGAACAGCTTATGAGTGCA
ATCGCGCCTGGAATGATCCTCATCGCGTACCTCTGCGGCTCCATTTCCA
GTGCC

Este archivo, perteneciente a la *Escherichia coli* K1, se descarga con:

wget -c
ftp://ftp.sra.ebi.ac.uk/vol1/fastq/SRR957/SRR957824/SRR957824_1.fastq.gz

El análisis de la calidad de las lecturas que contiene el archivo FASTQ puede realizarse con la herramienta FASTQC. Para instalar esta herramienta en el entorno de trabajo, se emplea el siguiente comando:

sudo apt install fastqc

La ejecución de la herramienta se realiza con el comando fastqc acompañado del archivo FASTQ a analizar:

fastqc SRR957824_1.fastq.gz

Started analysis of SRR957824_1.fastq.gz
Approx 5% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 10% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 15% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 20% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 25% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 30% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 35% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 40% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 45% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 50% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 55% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 60% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 65% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 70% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 75% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 80% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 85% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 90% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Approx 95% complete for SRR957824_1.fastq.gz
Analysis complete for SRR957824_1.fastq.gz

Esta herramienta genera un informe visual que describe varios aspectos clave de la calidad de las lecturas (reads) en un archivo FASTQ. Aquí se explican las principales secciones del informe:

1. Basic Statistics

Measure	Value
Filename	SRR957824_1.fastq
File type	Conventional base calls
Encoding	Sanger / Illumina 1.9
Total Sequences	1792335
Sequences flagged as poor quality	0
Sequence length	150
%GC	49

Figura1: fastqc - Basic Statistics

Descripción: Resume las características generales del archivo FASTQ. Incluye:

- Número de secuencias totales.

- Longitud de las secuencias (mínima, máxima y promedio).
- Calidad promedio (Q-score).
- Contenido de GC (%).

2. Per Base Sequence Quality

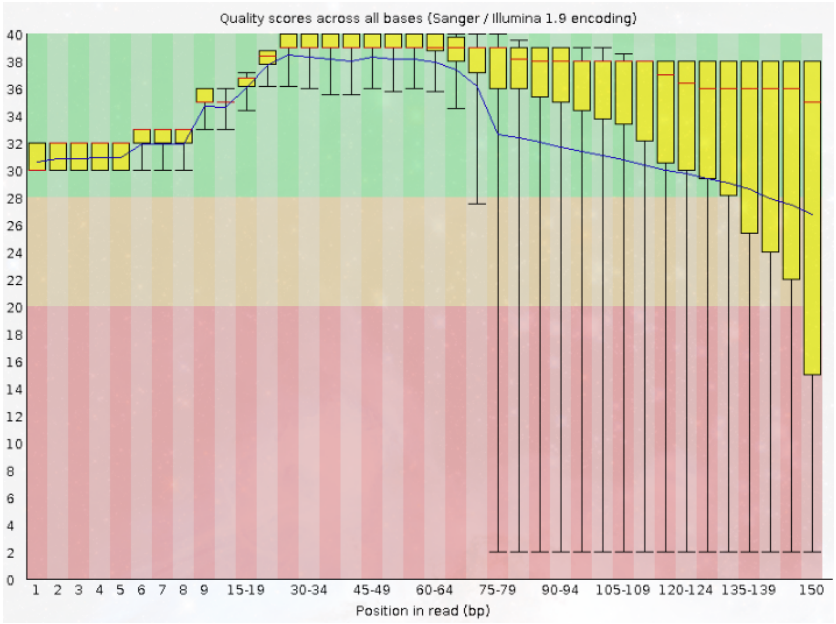


Figura2: fastqc - Per base sequence quality

- Gráfico: Muestra la calidad de las bases en cada posición a lo largo de las lecturas.
- Interpretación:
  - Cada caja del gráfico representa la mediana (línea central), el rango intercuartil (caja) y las posiciones extremas (bigotes).
  - Alta calidad se refleja en puntajes de calidad (>28) constantes.

Degradación de calidad en las bases finales es común en plataformas como Illumina.

3. Per Sequence Quality Scores

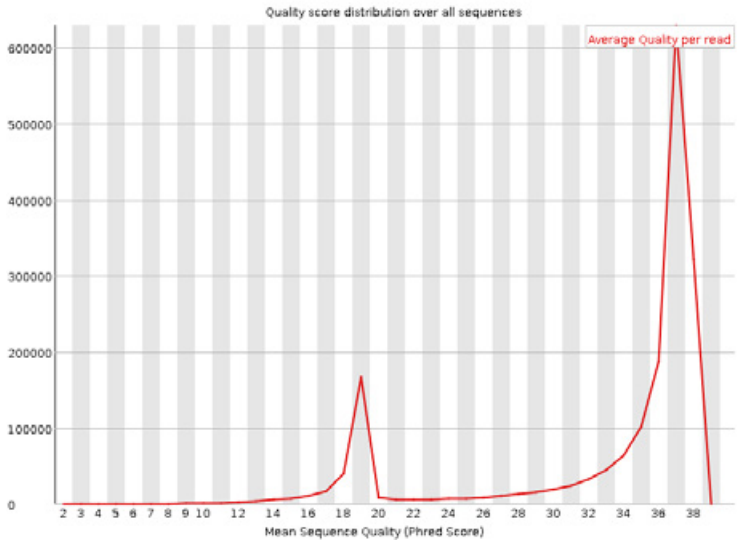


Figura 3: fastqc - Per sequence quality scores

- Gráfico: Distribución de las calidades promedio por lectura.
- Interpretación:
  - Lecturas con calidades consistentemente altas son ideales.
  - Picos en calidades bajas pueden indicar problemas en la secuenciación.

4. Per Base Sequence Content

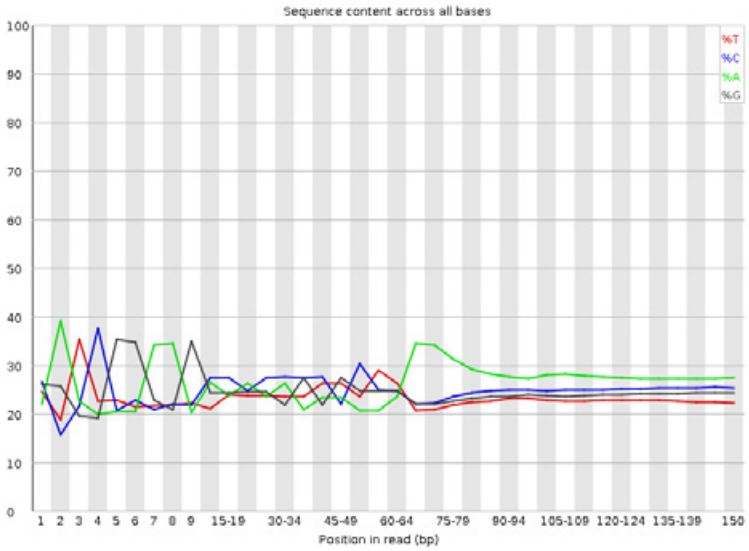


Figura 4: fastqc - Per base sequence content

- Gráfico: Proporción de nucleótidos (A, T, C, G) por posición en las lecturas.
- Interpretación:
  - En una biblioteca bien balanceada, las proporciones deben ser similares.
  - Desequilibrios (especialmente al inicio de las lecturas).

5. Per Sequence GC Content

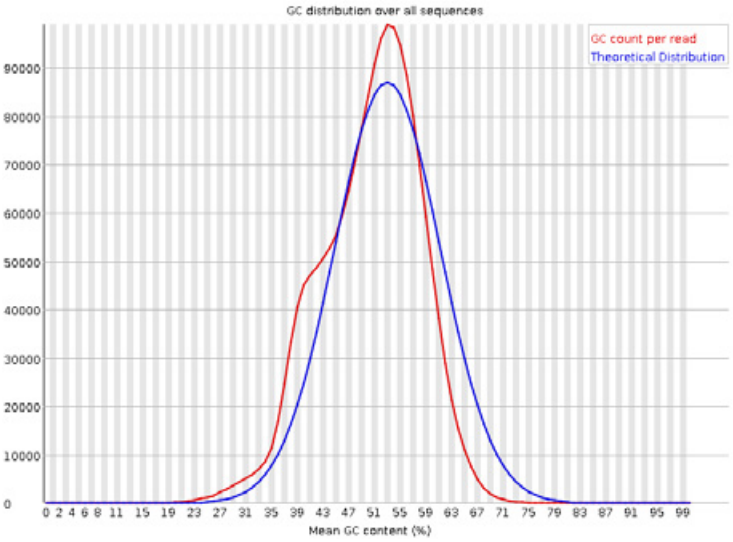


Figura 5: fastqc - Per sequence GC content

- Gráfico: Distribución del contenido de GC entre las lecturas.
- Interpretación:
  - Un pico único y simétrico es normal.
  - Las desviaciones pueden sugerir contaminación por organismos con distinto contenido GC.

6. Per Base N Content

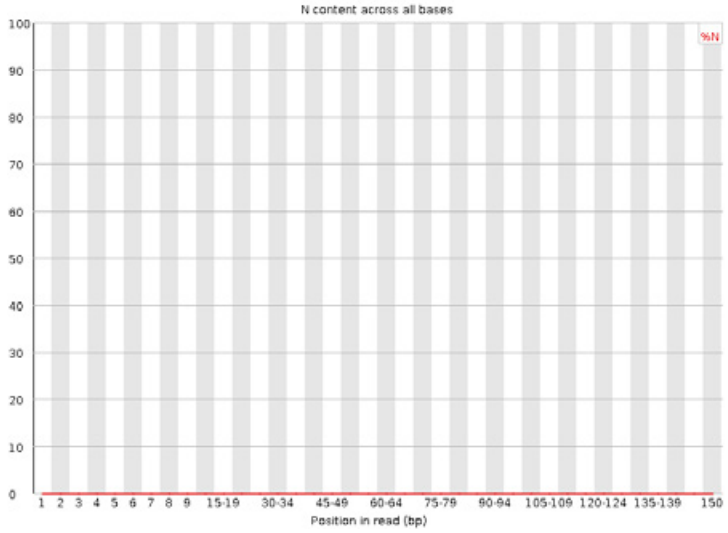


Figura 6: fastqc - Per base N content

- Gráfico: Frecuencia de bases no determinadas ("N") por posición.
- Interpretación:
  - Idealmente, debe ser cercano a 0.
  - Valores altos indican problemas en la calidad de la secuenciación.

7. Sequence Length Distribution

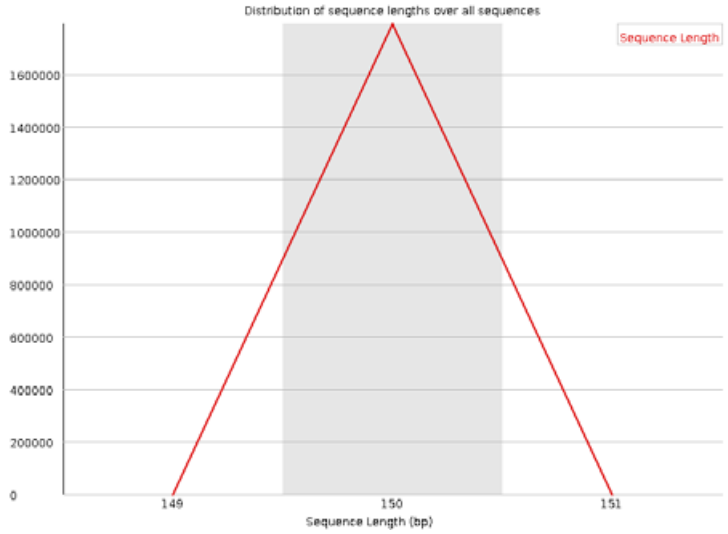


Figura 7: fastqc - Sequence Length Distribution

- Gráfico: Longitud de las lecturas.
- Interpretación:
  - Una única longitud dominante es típica.
  - Variación puede ser esperada en datos de secuenciación adaptativa.

8. Sequence Duplication Levels

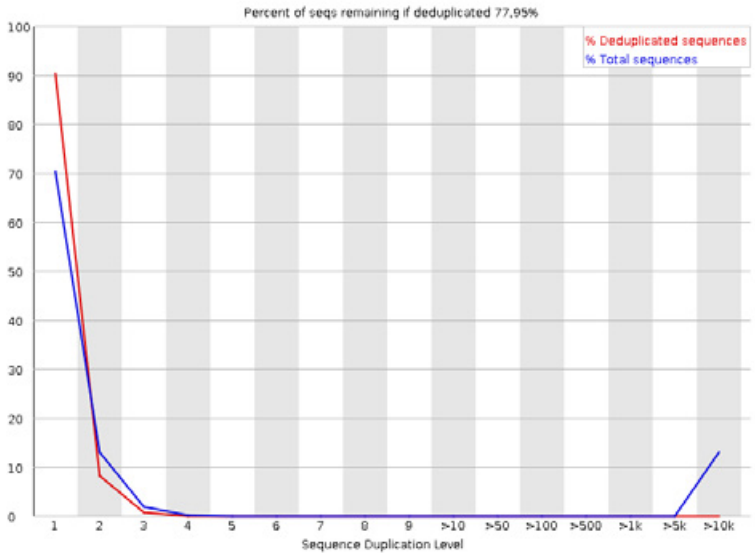


Figura 8: fastqc - Sequence Duplication Levels

- Gráfico: Frecuencia de duplicación de lecturas.

- Interpretación:
  - Altos niveles de duplicación pueden indicar enriquecimiento intencionado (e.g., RNA-seq) o contaminación.

9. Overrepresented Sequences

Sequence	Count	Percentage	Possible Source
GATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCACAGCGCTATCTCGTATGC	236678	13.205009108230325	TruSeq Adapter, Index 1 (97% over 36bp)

fastqc - Overrepresented sequences

- Lista: Secuencias presentes en frecuencias anormalmente altas.
- Interpretación:
  - Puede indicar contaminantes como adaptadores, primers, o secuencias repetitivas.

10.Adapter Content

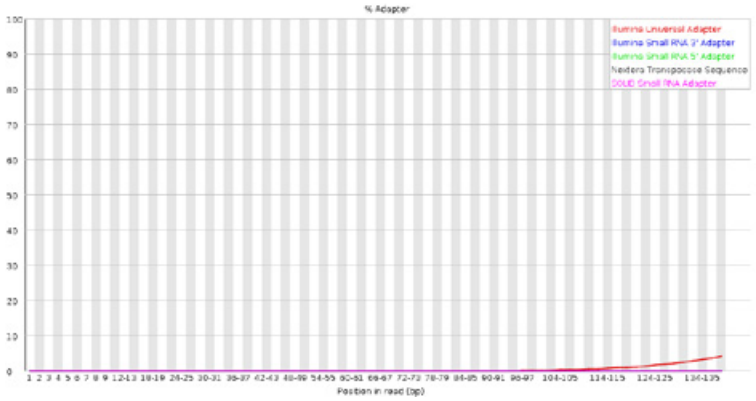


Figura 9: fastqc - Adapter Content

- Gráfico: Muestra la proporción de secuencias que contienen adaptadores en cada posición de las lecturas.
  - En el eje X: La posición a lo largo de las lecturas.
  - En el eje Y: Porcentaje de lecturas con adaptadores detectados.
- Interpretación:
  - Idealmente, el porcentaje debe ser cercano a 0%.
  - Un aumento hacia el final de las lecturas es común en bibliotecas con fragmentos más cortos que la longitud de lectura.

11. Íconos y su significado:

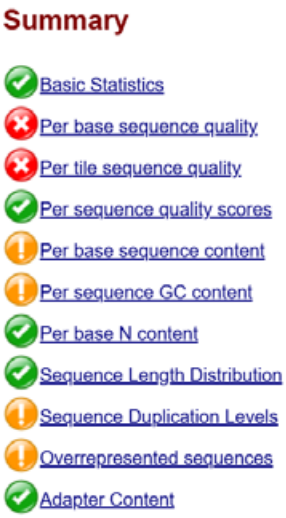


Figura 10: Significado de íconos

- ✓ **(Visto verde): Aprobado**
  - Indica que los datos para esa métrica cumplen con los estándares de calidad esperados.
  - No se requieren acciones adicionales.
  - Ejemplo: Una buena distribución de calidad por base o un contenido de GC uniforme.
- **! (Advertencia amarilla): Precaución**
  - Indica que hay algo inusual o ligeramente fuera de los parámetros óptimos.
  - Puede no ser un problema grave, pero merece atención para evaluar si afecta el análisis downstream.
  - Ejemplo: Ligero desequilibrio en el contenido de bases al inicio de las lecturas.
- ✗ **(Cruz roja): Problema detectado**
  - Indica que hay un problema significativo en esa métrica.
  - Puede requerir intervención, como recorte, filtrado, o repetir la preparación/secuenciación de la muestra.
  - Ejemplo: Alta proporción de bases de baja calidad o sobre-representación de adaptadores.

13 Interpretación en el contexto del análisis:

- ✓ **Verde:** Los datos están en buen estado y no necesitas realizar ajustes específicos para esa métrica.
- **! Amarillo:** Es una señal para investigar. Si afecta mucho al análisis downstream (como ensamblaje o mapeo), considere tomar medidas correctivas.
- ✗ **Rojo:** Necesita acción inmediata, ya que puede comprometer la utilidad de los datos para análisis posteriores.

Al revisar estos íconos como una guía rápida se puede identificar las áreas que requieren atención en los datos de secuenciación.

Para mayores detalles revise https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/

GFF (General Feature Format): Los archivos GFF son un estándar ampliamente utilizado en bioinformática para describir características genómicas de secuencias de ADN, ARN o proteínas. Estos archivos contienen información estructurada sobre anotaciones, como genes, exones, intrones, regiones promotoras, sitios de inicio de transcripción, y otros elementos funcionales.

Ejemplo de archivo GFF:

zcat /usr/share/doc/python-biopython-doc/Tests/SwissProt/multi_ex.gff.gz

```
##gff-version 3
##sequence-region P00750 1 562
P00750	UniProtKB	Signal peptide	1	22	.	.	.	.
P00750	UniProtKB	Propeptide	23	32	.	.	.	ID=PRO_0000028348
P00750	UniProtKB	Propeptide	33	35	.	.	.	ID=PRO_0000028349;Note=Removed by plasmin
P00750	UniProtKB	Chain	36	562	.	.	.	ID=PRO_0000028350;Note=Tissue-type plasminogen activator
P00750	UniProtKB	Chain	36	310	.	.	.	ID=PRO_0000028351;Note=Tissue-type plasminogen activator chain A
P00750	UniProtKB	Chain	311	562	.	.	.	ID=PRO_0000028352;Note=Tissue-type plasminogen activator chain B
P00750	UniProtKB	Domain	39	81	.	.	.	Note=Fibronectin type-I
```

P00750 UniProtKB Domain 82 120 . . .
Note=EGF-like
P00750 UniProtKB Domain 127 208 . . .
Note=Kringle 1
P00750 UniProtKB Domain 215 296 . . .
Note=Kringle 2

Si se desea buscar patrones en un archivo GFF, se puede usar grep, en archivos no comprimidos, y zgrep, en archivos comprimidos en formato .gz:

zgrep "Peptide" /usr/share/doc/python-biopython-doc/Tests/SwissProt/multi_ex.gff.gz

P28799 UniProtKB Peptide18 47 . . .
ID=PRO_0000012694;Note=Paragranulin
P28799 UniProtKB Peptide58 113 . . .
ID=PRO_0000012695;Note=Granulin-1
P28799 UniProtKB Peptide123 179 . . .
ID=PRO_0000012696;Note=Granulin-2
P28799 UniProtKB Peptide206 261 . . .
ID=PRO_0000012697;Note=Granulin-3
P28799 UniProtKB Peptide281 336 . . .
ID=PRO_0000012698;Note=Granulin-4
P28799 UniProtKB Peptide364 417 . . .
ID=PRO_0000012699;Note=Granulin-5
P28799 UniProtKB Peptide442 496 . . .
ID=PRO_0000012700;Note=Granulin-6
P28799 UniProtKB Peptide518 573 . . .
ID=PRO_0000012701;Note=Granulin-7

1.5.1.2. Uso de head, tail y split para la Gestión de Archivos de Secuencias Grandes

Como se vio previamente, cuando trabajamos con archivos de secuencias biológicas grandes, es útil utilizar comandos como head y tail para visualizar el contenido de un archivo sin necesidad de cargarlo completamente en memoria.

split

En ocasiones, cuando un archivo es muy grande se lo puede dividir para realizar análisis más sencillos con los pedazos de archivos más pequeños. Para ello se puede usar el comando split que puede dividir el archivo con base al criterio de líneas o de tamaño de archivo. En biología computacional puede ser conveniente dividirlo por líneas.

De manera ilustrativa trabajaremos en el archivo "SRR957824_1.fastq.gz" que se descargó previamente, inicialmente lo descomprimiremos con gunzip y lo dividiremos en segmentos, cuyos nombres empezaran con "xaa", "xab", … etc.

gunzip SRR957824_1.fastq.gz

Para saber cuántas líneas tiene originalmente, se puede usar "wc -l" en el archivo descomprimido:

wc -l SRR957824_1.fastq

Lo que arroja:

7169340 SRR957824_1.fastq

Es decir, más de 7 millones de líneas, por lo que lo dividiremos en archivos de 200000 líneas cada uno.

split -l 200000 SRR957824_1.fastq

Estos archivos nuevos pueden analizarse de manera individual. Por ejemplo, de manera ilustrativa, nuevamente con **fastqc**.

fastqc xaa

Started analysis of xaa

Approx 5% complete for xaa

Approx 10% complete for xaa

Approx 15% complete for xaa

Approx 20% complete for xaa

Approx 25% complete for xaa

Approx 30% complete for xaa

Approx 35% complete for xaa

Approx 40% complete for xaa

Approx 45% complete for xaa

Approx 50% complete for xaa

Approx 55% complete for xaa

Approx 60% complete for xaa

Approx 65% complete for xaa

Approx 70% complete for xaa

Approx 75% complete for xaa

Approx 80% complete for xaa

Approx 85% complete for xaa

Approx 90% complete for xaa

Approx 95% complete for xaa

Approx 100% complete for xaa

Analysis complete for xaa

1.5.2. Ejercicios Prácticos para Extraer y Procesar Subregiones de Secuencias Biológicas

Para procesar subregiones de secuencias biológicas, por ejemplo, con herramientas como cut, awk y sed se puede extraer ciertas posiciones de una secuencia de ADN o ARN para manipular las cadenas de texto que contienen las secuencias.

Ejemplo: Extraer un fragmento de secuencia de un archivo FASTA

Si se tiene un archivo FASTA y se necesita extraer una subregión de la secuencia (por ejemplo, de la posición 10 a la 50), se puede usar sed o awk.

Con fines ilustrativos, se puede usar sed para extraer la subcadena:

sed -n '2s/\(.\{9\}\)\(.\{41\}\)/\2/p' sampledata/t-coffee/sproteases_small_dna.fasta

Este comando extrae 41 bases. Comienza desde la posición 10 de la secuencia de la línea 2 de la primera secuencia delarchivo **sproteases_small_dna.fasta.**

Esta instrucción:

- Lee la segunda línea del archivo.
- Extrae los caracteres del 10 al 50.
- Imprime únicamente esos caracteres en la salida estándar.

Análisis detallado de la instrucción:

1. sed -n: Invoca el comando sed (stream editor) en modo "silencioso". No imprime nada automáticamente, a menos que se indique con el modificador p (print).

2. 2s: Aplica la operación de sustitución (s/.../.../) únicamente a la segunda línea del archivo.

3. Patrón de búsqueda: \(.\{9\}\)\(.\{41\}\):

Busca una secuencia en la línea que coincida con:

- **(.{9}):** Los primeros 9 caracteres de la línea (grupo 1).
- **(.{41})**: Los siguientes 41 caracteres de la línea (grupo 2).
- **Los paréntesis (...)** agrupan estas partes como subexpresiones para referencia posterior.

4. Reemplazo: \2:

- Sustituye todo el contenido de la línea con el segundo grupo capturado (los caracteres 10 al 50 de la línea original).
- El primer grupo (\1) es descartado.

5. p (print): Imprime la línea modificada después de la sustitución.

Otro para Extraer y Procesar Subregiones de Secuencias Biológicas será traducir

1.6. Estructuras de Programación en BASH Aplicadas a Bioinformática

En bioinformática, muchas tareas de análisis y procesamiento de secuencias requieren automatización, lo que se puede lograr utilizando estructuras de programación en Bash. Estas estructuras permiten ejecutar operaciones repetitivas, condicionales y de control de flujo, lo que facilita la gestión de grandes volúmenes de datos.

1.6.1. Estructuras de Control: IF, FOR, WHILE

1. IF: Se utiliza para realizar decisiones condicionales.

```
if [ "$secuencia" == "ATG" ]; then
   echo "Secuencia encontrada"
fi
```

2. FOR: Se utiliza para iterar sobre una lista de elementos o secuencias.

```
for archivo in *.fasta; do
   echo "Procesando $archivo"
done
```

3. WHILE: Se utiliza para ejecutar un bloque de código mientras se cumpla una condición.

```
while read línea; do
   echo "Leyendo: $línea"
done < archivo.fasta
```

1.6.1.1. Implementación de Ciclos y Estructuras Condicionales para Automatización de Tareas Bioinformáticas

En análisis bioinformáticos, estas estructuras son esenciales para automatizar tareas como el procesamiento de secuencias, la búsqueda de patrones o la conversión de archivos.

Ejemplo de automatización con IF y FOR:

```
for archivo in *.fastq; do
   if grep -q "AGCT" "$archivo"; then
      echo "Secuencia encontrada en $archivo"
```

```
    else
        echo "Secuencia no encontrada en $archivo"
    fi
done
```

Este script recorre todos los archivos FASTQ en el directorio, buscando una secuencia específica ("AGCT") en cada archivo y proporcionando una salida basada en si la secuencia está presente.

1.6.2. Iteración sobre Secuencias

Cuando se trabaja con múltiples archivos o secuencias, es esencial iterar sobre ellos para realizar análisis masivos o automáticos.

1.6.2.1. Implementación de Bucles para Procesar Múltiples Archivos de Secuencias de ADN o ARN

Ejemplo de bucle sobre archivos de secuencias:

```
for archivo in sampledata/t-coffee/*.fasta; do
    if grep -q "AGCT" "$archivo"; then
        echo "Secuencia encontrada en $archivo"
    else
        echo "Secuencia no encontrada en $archivo"
    fi
done
```

1.6.2.2. Automatización de Tareas Repetitivas para Análisis Masivo de Secuencias

Automatizar tareas repetitivas, como la alineación de secuencias, la extracción de características o la conversión de formatos, es esencial cuando se gestionan grandes volúmenes de datos. Los bucles for y while, junto con el uso de herramientas de bioinformática como BLAST, SAMtools, o BEDTools, hacen que estos análisis sean mucho más eficientes.

Este script recorre todos los archivos .fasta e imprime el nombre de cada secuencia.

```
for archivo in sampledata/t-coffee/*.fasta; do
   echo "Procesando el archivo $archivo"
   # Realizar procesamiento, por ejemplo, contar nucleótidos
   bioawk -c fastx '{print $name}' "$archivo"
done
```

Conexiones remotas con BASH

En BASH, las conexiones remotas pueden ser establecidas utilizando el protocolo SSH (Secure Shell), el cual es un protocolo de comunicación que permite a los usuarios conectarse a servidores remotos y ejecutar comandos en el servidor. El protocolo utiliza algoritmos de cifrado avanzados para asegurar la privacidad y seguridad de la información transmitida durante la conexión.

Las conexiones remotas con SSH se pueden establecer utilizando el terminal de GNU/Linux, la consola CMD de Windows® o programas de terceros como PuTTY®. Este comando usa la siguiente sintaxis:

```
ssh [usuario]@[dirección]
```

Donde:

- usuario: es el nombre del usuario que se desea utilizar para acceder al servidor.
- dirección: la dirección IP o el nombre de dominio del servidor.

Por ejemplo, si desea conectarse como usuario jupyter a un servidor con la dirección IP 192.168.1.100, puede utilizar la siguiente sintaxis:

```
ssh root@192.168.1.100
```

Una vez que se ha establecido la conexión SSH, puede comenzar a ejecutar comandos en el servidor. La conexión se mantiene durante la sesión de shell, y puede cerrarla utilizando el comando **exit**.

El puerto de conexión por lo general es el 22; sin embargo esto puede ser definido al configurar este servicio en el servidor.

En nuestro caso, la máquina virtual que hospeda la máquina anfitriona escucha las conexiones SSH en el puerto 2224 y lo direcciona internamente al 22.

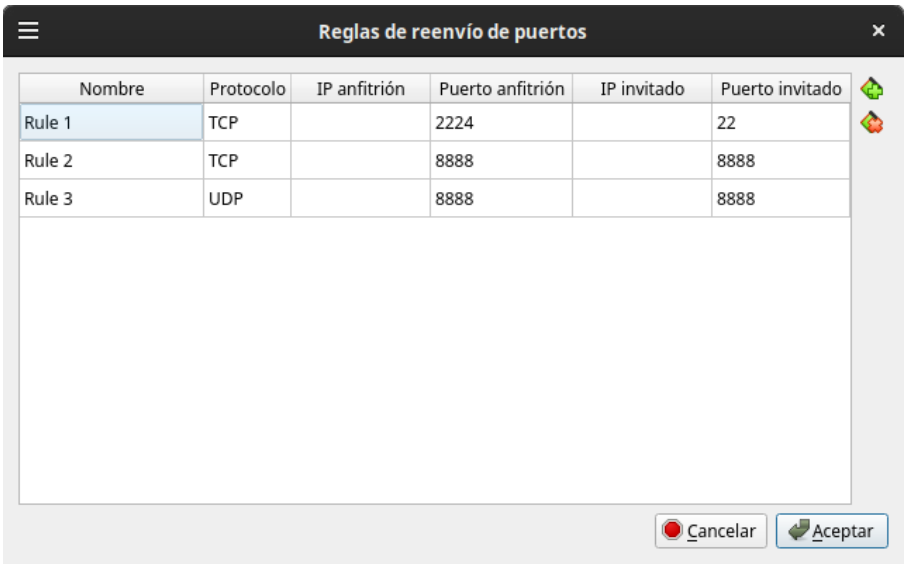


Figura 10: Redireccionamiento en Virtualbox® del puerto 2224 al 22

De manera ilustrativa puede conectarse desde windows usando el programa Putty [https://www.putty.org/] e ingresando los parámetros de conexión como se muestra en la Figura 11. Nótese el usuario localhost y el puerto 2224:

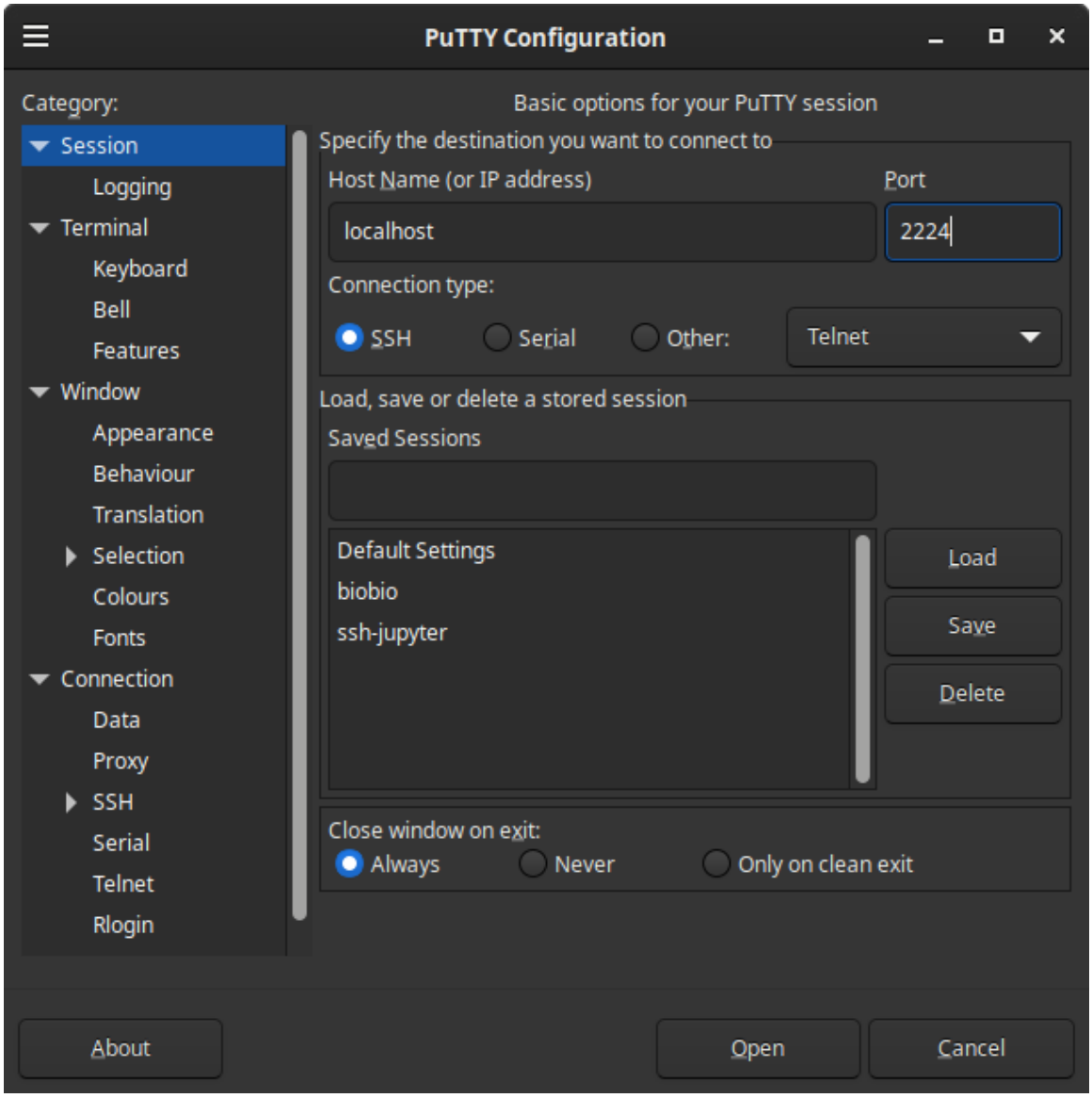


Figura 11: Programa Putty para conexiones remotas

Al ejecutarlo se desplegará la ventana de conexión que solicita el usuario y contraseña

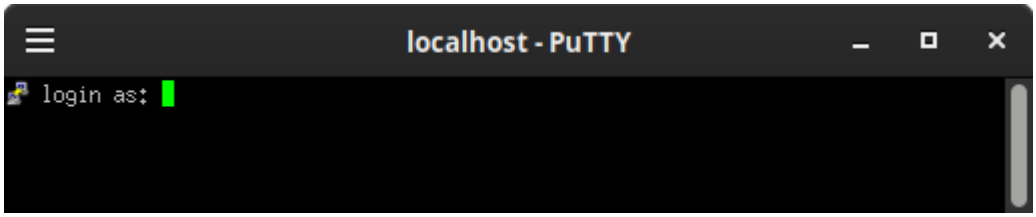


Figura 12: Ventana de conexión remota del programa Putty

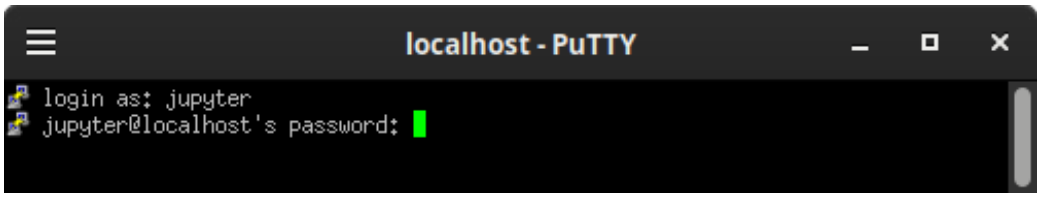


Figura 13: Ventana de conexión remota con los datos ingresados

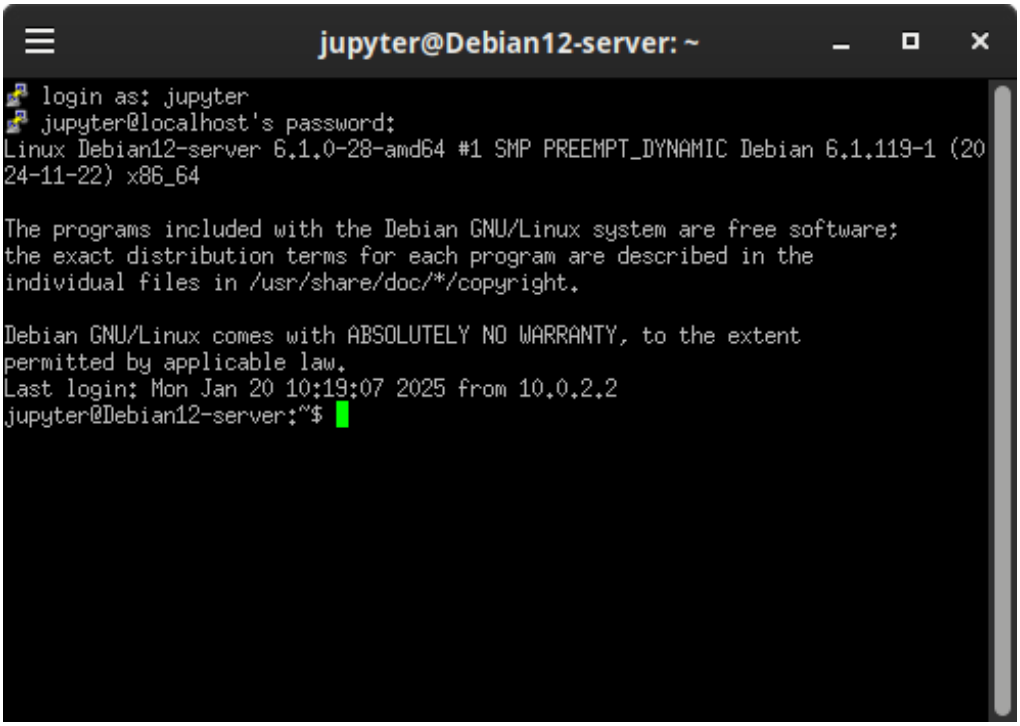


Figura 14: Ventana remota del servidor accedido a través de Putty

En resumen, las conexiones remotas con SSH permiten a los usuarios conectarse a servidores remotos y ejecutar comandos en el servidor de forma segura. Conocer cómo se establecen estas conexiones es fundamental para cualquier usuario que trabaje en entornos de línea de comandos.

Resumen

En este documento hemos explorado diversas herramientas y técnicas para el manejo eficiente de archivos de secuencias biológicas desde la línea de comandos. Se han abordado comandos avanzados para la manipulación de archivos de gran tamaño en formatos ampliamente utilizados en bioinformática, como FASTA, FASTQ y GFF, además del uso de herramientas como head, tail y split para facilitar la gestión de estos datos. Asimismo, se presentaron ejercicios prácticos enfocados en la extracción y procesamiento de subregiones de secuencias biológicas, permitiendo aplicar los conceptos aprendidos en escenarios reales.

También se ha profundizado en el uso de estructuras de programación en BASH aplicadas a la bioinformática, destacando el uso de estructuras de control como IF, FOR y WHILE para la automatización de tareas. Se han presentado ejemplos prácticos de su implementación en el análisis de archivos de secuencias biológicas, así como la aplicación de bucles para procesar múltiples archivos de ADN o ARN de manera eficiente. Finalmente, se ha abordado la automatización de tareas repetitivas, facilitando el análisis masivo de secuencias y optimizando los flujos de trabajo bioinformáticos.

Adicionalmente, se ha cubierto el proceso de conexión remota a servidores mediante el uso del protocolo SSH, proporcionando las bases para acceder de manera segura a sistemas remotos, ejecutar comandos y gestionar archivos de secuencias biológicas desde entornos de computación de alto rendimiento.

PUCE Virtual

La excelencia no se improvisa

síguenos

MBC - 12 - 241