



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA
CENTRO DE BIOINFORMATICA (CBIB)

BIOINFORMÁTICA

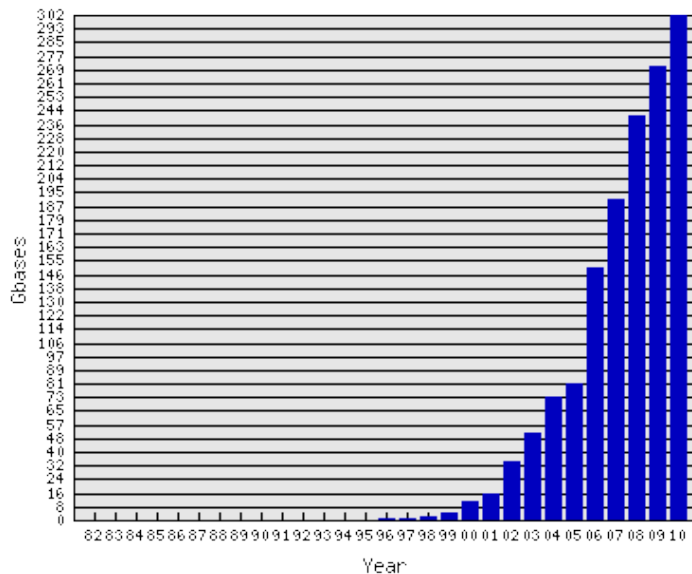
Emiliano Barreto Hernández
ebarretoh@unal.edu.co



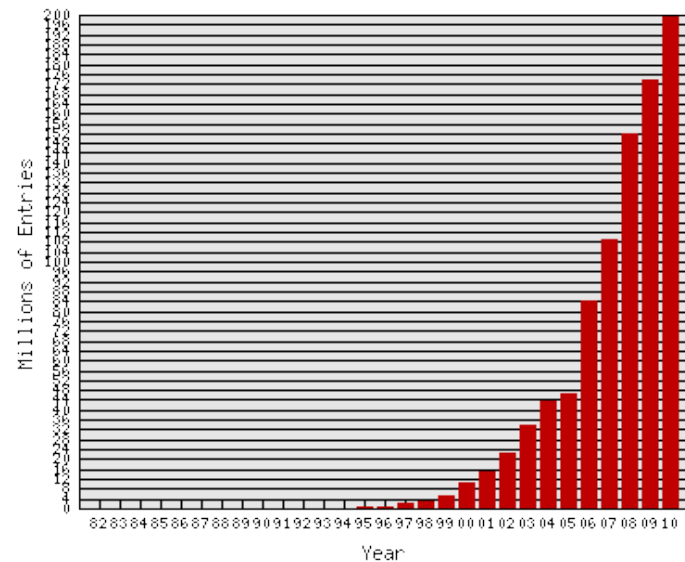
<http://bioinf.ibun.unal.edu.co/servicios/electiva/>

Qué condujo a...

§ Incremento exponencial en el número de datos biológicos y por tanto en el número de entradas en las Bases de datos.



Total nucleotides
(current 301,588,430,608)

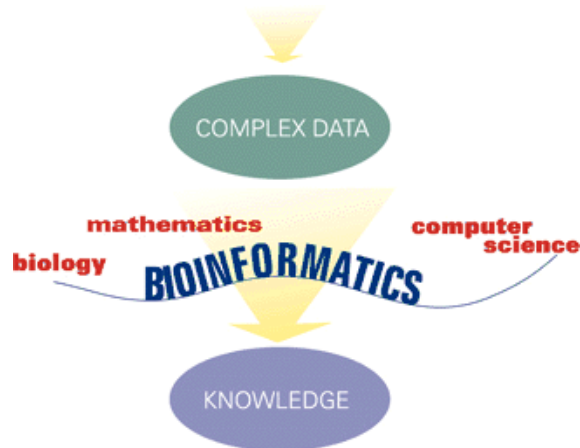


Number of entries
(current 199,575,971)

BIOINFORMÁTICA?

Bioinformática implica el uso de técnicas que incluyen las matemáticas aplicadas, informática, estadística, informática, inteligencia artificial, química y bioquímica para resolver problemas biológicos por lo general en el nivel molecular. brc.iop.kcl.ac.uk/glossary.aspx

"Bioinformática deriva conocimiento del análisis informático de datos biológicos. Estas pueden consistir en la información almacenada en el código genético, de los resultados experimentales de diversas fuentes, de estadísticas de pacientes, y la literatura científica." (Michael Nilges and Jens P. Linge, Unité de Bio-Informatique Structurale, Institut Pasteur,)



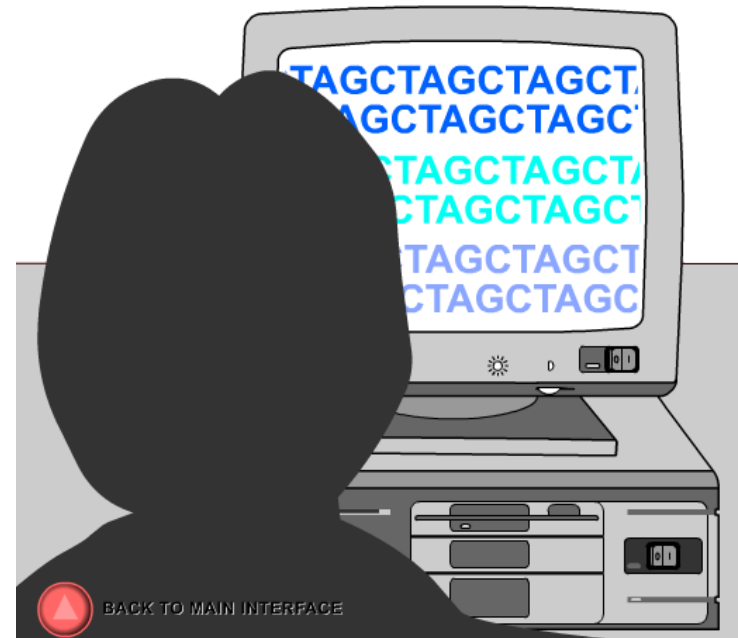
Bioinformática áreas



Bioinformática

CARACTERÍSTICAS:

- INTERDICCIPLINA
- COLABORACIÓN ENTRE GRUPOS
- FORMACIÓN DE REDES
- DESARROLLO PERMANENTE DE HERRAMIENTAS
- DISPONIBLES ONLINE



Avances Históricos

Biología Molecular Vs. Manejo De Datos Biológicos

1953 Watson y Crick proponen la estructura de doble hélice del ADN

1954 Primera secuencia de una proteína (insulina. Sanger) .

1972 Secuencia de ADN

1977 Técnicas rápidas de secuenciación (Gilbert and Sanger)

1980 Inicio proyecto genoma humano

1986 PCR

2000 Secuencia del genoma humano (3×10^9 bp) y otros organismos

1965 Atlas de secuencias de proteínas (Dayhoff)

1970 Primer algoritmo de alineamiento de secuencias (Needleman Wunsch)

1982 EMBL y GenBank (Bases de datos)

1985 FASTP

1986 Swiss-Prot (Base de datos sec. Proteína)

1990 BLAST

1993 ExPASy (1ª www server)

Centros De Investigación Y Servicio En Bioinformática

- SIB - Swiss Institute of Bioinformatics
 - www.isb-sib.ch/
- ExPASy - Expert Protein Analysis System
 - www.expasy.org
- EBI - European Bioinformatics Institute
 - www.ebi.ac.uk
- NCBI - National Center for Biotechnology Information
 - www.ncbi.nlm.nih.gov
- Sanger - The Sanger Institute
 - www.sanger.ac.uk
- DDBJ Dna Data Bank Japan
 - <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>



Explore the EBI:

FIND

Examples: [ROA1_HUMAN](#), [tpi1](#), [Sulston...](#)

[Help & Suggestions](#)

[Support & Feedback](#)

Data Resources & Tools

- [ENA](#)
- [UniProt](#)
- [ArrayExpress](#)
- [Ensembl](#)
- [InterPro](#)
- [PDB](#)
- [Genomes](#)
- [Nucleotide Sequences](#)
- [Protein Sequences](#)
- [Macromolecular Structures](#)
- [Small Molecules](#)
- [Gene Expression](#)
- [Molecular Interactions](#)
- [Reactions & Pathways](#)
- [Protein Families](#)
- [Enzymes](#)
- [Literature](#)
- [Taxonomy](#)
- [Ontologies](#)
- [Patent Resources](#)
- [Sequence Similarity & Analysis](#)
- [Pattern & Motif Searches](#)
- [Structure Analysis](#)
- [Text Mining](#)
- [Downloads](#)
- [Web Services](#)



European Bioinformatics Institute

Latest News



UK funds earmarked for ELIXIR, a major bioscience data infrastructure project

Feb 09, 2011

The [BBSRC](#) and EMBL-EBI welcome news that UK funding has been earmarked for [ELIXIR](#), an infrastructure for biological information that will support life science research and its translation to medicine and the environment, the bio-industries and society. The project, if approved, will allow the construction of ELIXIR's central hub at EMBL-EBI, ensuring the maintenance and expansion of essential biological data resources. ELIXIR works through a network of nodes distributed throughout Europe and coordinated at EMBL-EBI. [Find out more](#) (PDF).

Research Highlights

The human genome's breaking points

Feb 03, 2011

A detailed analysis of data from 185 human genomes sequenced in the course of the 1000 Genomes Project has identified the genetic sequence of an unprecedented 28 000 structural variants (SVs) -- large portions of the human genome which differ from one person to another. The work, published 2 February in the journal *Nature*, could help find the genetic causes of some diseases and also begins to explain why certain parts of the human genome change more than others.... [more](#)

Events

EBI Open Day

15 March 2011 [more](#)

Registration closes 15 February 2011

PSIMEx Workshop: Interaction and Pathways

28 March - 1 April 2011 [more](#)

Registration closes 23rd February 2011.

Programmatic access to biological databases (Java)

9-13 May 2011 [more](#)

Registration closes 9th April 2011

In silico Systems Biology: Network Reconstruction, Analysis and Network-based Modelling

23-26 May 2011 [more](#)

Registration closes 1st March 2011

<http://www.ebi.ac.uk/>



Swiss Institute of
Bioinformatics



Search for

Go

Clear

ExPASy Proteomics Server

[Databases](#) [Tools](#) [Services](#) [Mirrors](#) [About](#) [Contact](#)

You are here: [ExPASy CA](#)

The ExPASy (Expert Protein Analysis System) [proteomics](#) server of the [Swiss Institute of Bioinformatics](#) (SIB) is dedicated to the analysis of protein sequences and structures as well as 2-D PAGE ([Disclaimer](#) / [References](#) / [Linking to ExPASy](#)).

Databases

[UniProtKB](#), [PROSITE](#), [HAMAP](#), [SwissVar](#),
[ViralZone](#), [SWISS-MODEL Repository](#),
[neXtProt](#), [SWISS-2DPAGE](#), [World-2DPAGE](#)
[Repository](#), [MIAPEGelDB](#), [ENZYME](#),
[GlycoSuiteDB](#), [UniPathway](#)
[\[details\]](#) [\[full list\]](#)

Education & services

[Downloads](#), [Protein Spotlight](#),
[Protéines à la «Une»](#), [e-proxemis](#),
[Click2Drug](#), [Bioinformatics core facility for](#)
[Proteomics](#)
[\[full list\]](#)

Tools & Software

[Proteomics tools](#), [Blast](#), [ScanProsite](#),
[Melanie](#), [MSight](#), [Make2D-DB](#), [SWISS-](#)
[MODEL](#), [Swiss-PdbViewer](#), [SwissDock](#),
[SwissParam](#)
[\[full list\]](#)

Documentation

[What's New?](#), [E-mail alerts](#), [UniProtKB](#)
[documentation](#), [How to link to ExPASy](#),
[Advanced search](#)
[\[full list\]](#)

Latest News

ExPASy-beta - February 4, 2011

ExPASy-beta, the first public version of the new ExPASy SIB Bioinformatics Resource Portal is now available online at:

<http://beta.expasy.org>. ExPASy-beta gives you access to scientific databases and software tools in different areas of life sciences including proteomics, genomics, phylogeny, systems biology, population genetics, transcriptomics etc. The wide range of resources is mainly provided by SIB groups and some external institutions.

ExPASy-beta is planned to replace the current ExPASy proteomics server in Spring 2011. You are kindly invited to provide your feedback on this new portal using the following feedback form: <http://beta.expasy.org/feedback>

[\[more news\]](#) [\[SIB news\]](#)

[Swiss Institute of Bioinformatics](#) | [Disclaimer](#) | [Sitemap](#) | [Documentation](#) | [Contact Us](#)

<http://www.expasy.org/>



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Herramientas

[EMBOSS](#) | [BLAST](#) | [BLEE](#) | [SMS](#)
[SEWER](#) | [BACTNAME](#) | [SINCO](#)
[DOTLET](#) | [BLA.id](#)

Puede consultar nuestra página de ayuda para mayor [información](#) acerca de estas herramientas.



EMBnet Colombia

EMBnet Colombia es el nodo Colombiano de la **Red Europea de Biología Molecular** (Embnet), una red mundial de centros en bioinformática con nodos en los 5 continentes. EMBnet Colombia se encuentra a cargo del [Centro de Bioinformática del Instituto de Biotecnología](#) (CBIB) de la Universidad Nacional de Colombia.



Centro de Bioinformática - Instituto de Biotecnología ©2005
Universidad Nacional de Colombia

[SIA](#) | [Bibliotecas](#) | [Directorio](#) | [Archivo](#) | [Comunicados](#) | [Correo](#) | [Calendario](#) | [Agenda UN](#) | [Contratación](#) | [Sistema quejas](#) | [Aviso legal](#)

Ciudad Universitaria - Bogotá D.C.- Colombia
Edificio "Uriel Gutiérrez" Transversal 38 N° 40-01 Conmutador (57)(1) 3165000

un digital

 universia

 GOBIERNO
EN LINEA

<http://bioinf.ibun.unal.edu.co/>

Áreas de Aplicación de la Bioinformáticas

1. Enseñanza



Elaboración de
Tutores y Cursos en
línea en todas las áreas
de la biotecnología

2. Herramientas para el
manejo y análisis de los
datos



A Practical Guide to Bioinformatics

Introduction

Basic tutorial

1. Sequence translation
2. Similarity searches
3. Protein family analysis
4. Sequence alignment

5. Property profiles

6. Fold classification

Advanced tutorial

7. Homology modelling
8. Fold recognition
9. Analysis challenge

Case studies

10. Human genome
11. Inositol Phosphatases
12. ABC transporter phylogeny
13. Sickle cell haemoglobin

Final assessment

- Final quiz
- Feedback

Appendix

- Glossary
- Contributors
- Release notes

Log out

introduction

EMBL introduction

The purpose of this practical is to introduce a range of bioinformatics services, databases and software available on the Web and to illustrate their advantages and disadvantages. The practical consists of three tutorials, each

1. Physicochemical parameters and profiles
2. Transmembrane helix prediction
3. Secondary structure prediction
4. Quiz

translation, similarity searching of protein sequence alignment, protein structure classification and tools for secondary structure prediction. The **Advanced tutorial** builds on these approaches, introducing more advanced techniques of homology modelling and fold recognition. Finally, the **Case studies** provide an opportunity to apply all of these techniques - and new ones - to credible biological problems.

The interface

The interface is structured as follows:

- on the left, a table of contents details the Chapters - the current Chapter is highlighted
- on the right, a header contains the current Chapter title and navigation tabs - clicking on these allows access to the contents as outlined below:

Navigation tab	Content	Present in all Chapters?
aims	A brief outline of the Chapter's goals	y
instructions	A series of Steps describing what you need to do and links to follow, featuring: • Previous and Next buttons to navigate through the Steps • <i>Reflections...</i> to help you think more deeply about the Steps	y
	An introduction to the principles behind	

<http://www.embl.man.ac.uk/>

EMBL-EBI
EB-eye Search
All Databases
Enter Text Here
Go
Reset
Advanced Search
Give us feedback

Databases
Tools
EBI Groups
Training
Industry
About Us
Help
Site Index

- 2Can Home
- What is Bioinformatics?
- Basic Biology
- Genes & Disease
- Bioinformatics Databases
- Bioinformatics Tutorials
- Bioinformatics Resources
- Karyn's Genomes
- Graphics Resource
- E-Videos

- Glossary

- Site Map

EBI > 2Can

2Can Support Portal - Bioinformatics



The bioinformatics educational resource

This site provides short and concise introductions to basic concepts in molecular and cell biology and bioinformatics. The main emphasis is placed on making it as easy as possible for the user to understand which tools and databases are available from the EBI and from sites belonging to its collaborators.

The site content aims to make these services easier and more accessible but also provides links to other sites where similar resources are maintained and well supported.

- [How to use the 2Can Support Portal website](#)

Contributions:

Readers are encouraged to contribute to 2Can Support Portal and may send short pieces, comments and corrections to [EBI Support](#). Please note that we cannot accept copyrighted material of any sort.

Authors/Contributors/Acknowledgments:

Head of Project:
Rodrigo Lopez

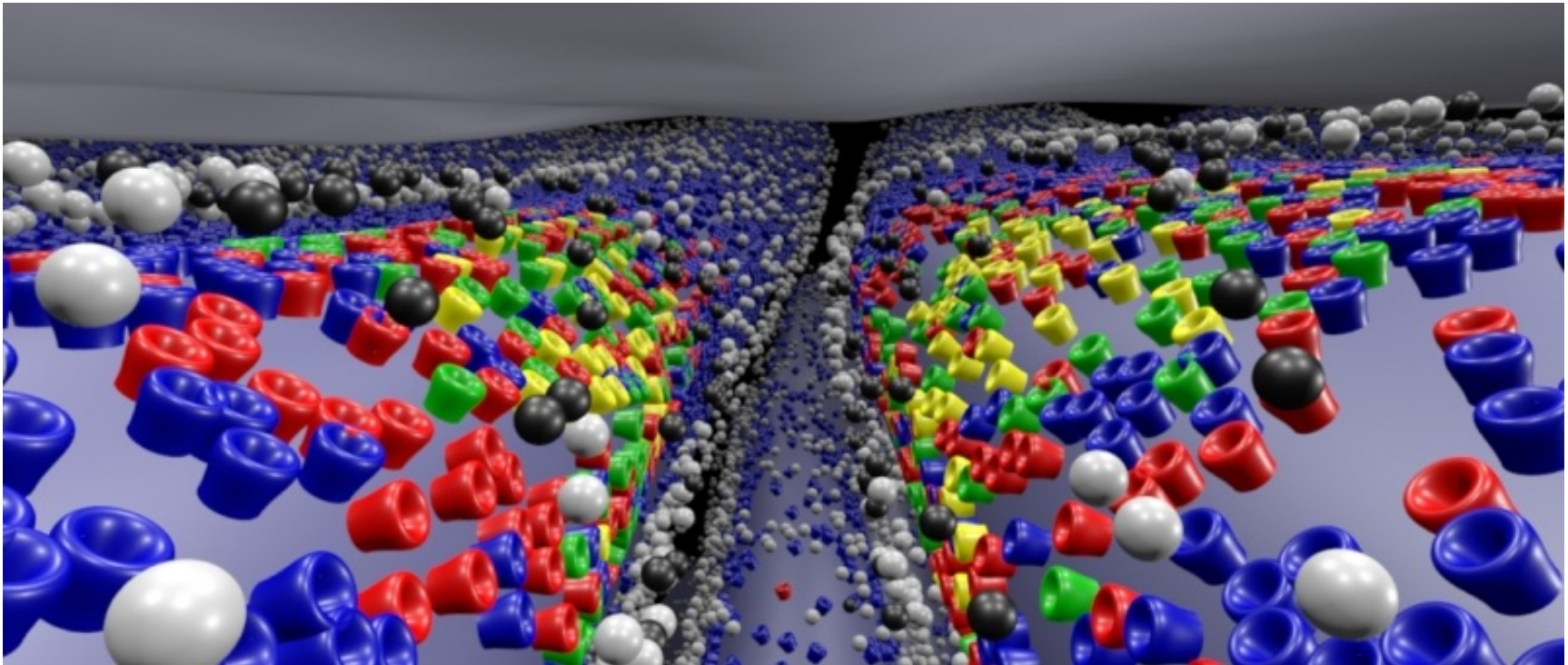
Project Editors/Coordinators:
Asif Kibria, Karyn Duggan* and Stephen Robinson

Main Contributors:
Asif Kibria, Gulam Patel, Karyn Duggan*, Nicola Harte*, Rob Harper*, Rodrigo Lopez, Stephen Robinson, Tamara Kulikova*.

Scientific Editors:
Nick Goldman, Peter Rice and Rodrigo Lopez

<http://www.ebi.ac.uk/2can/home.html>

MCell - Simulador para fisiología microcelular



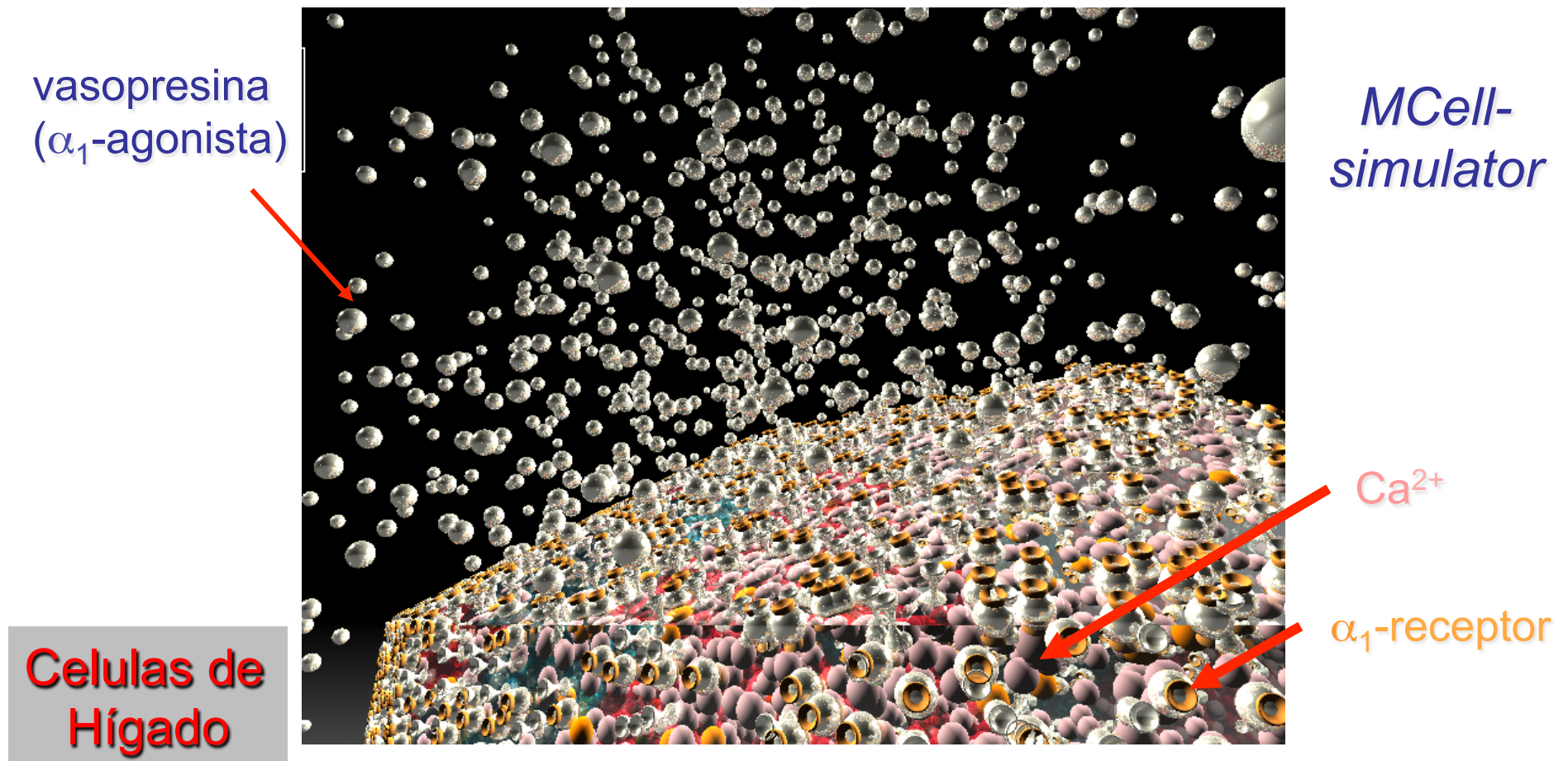
Modelamiento de la transmisión sináptica

Computational Neurobiology Laboratory

Salk Institute, San Diego, USA

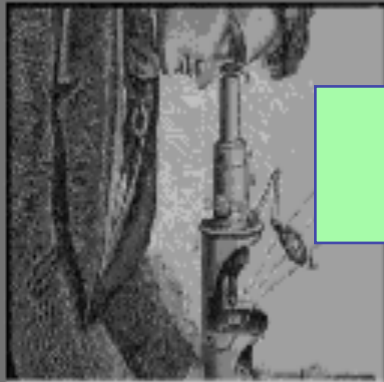
http://www.gdv.uni-hannover.de/~blanke/slides/bioinformatics_SS2001_4.ppt

Simulación 3D Realista de oscilaciones de calcio

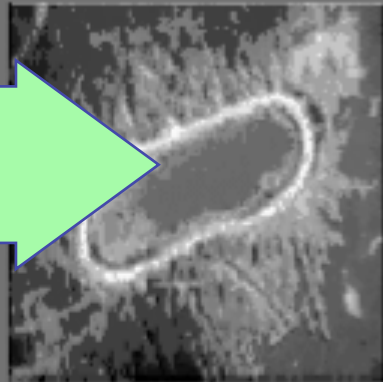


LOS PROCESOS DE FERMENTACION

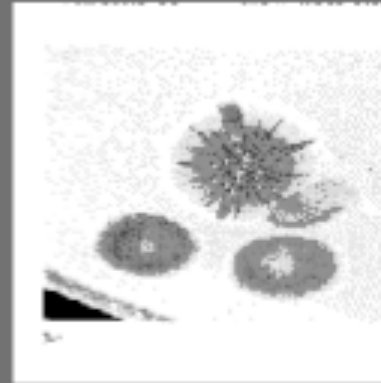
SELECCIONAR UNA LECCIÓN



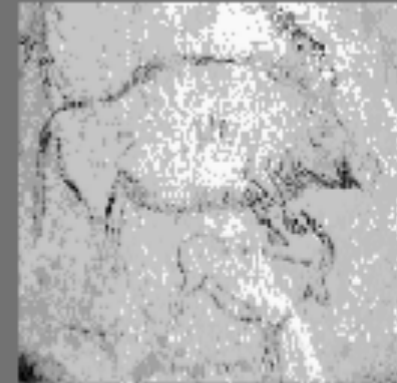
Microbiología



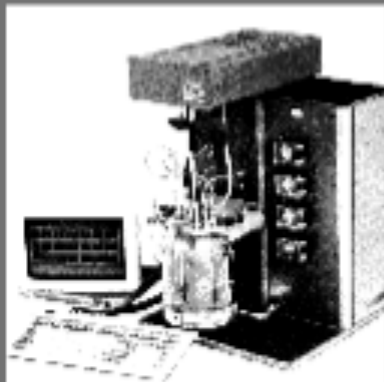
Clasificación organismos



Biotecnología



Historia



Fermentador



Sistemas de fermentación



Productos



REGRESAR AL
MENU PPAL

Salir

Lecciones.....

97/01/26 22:30:36

NÚM

MAYÚS

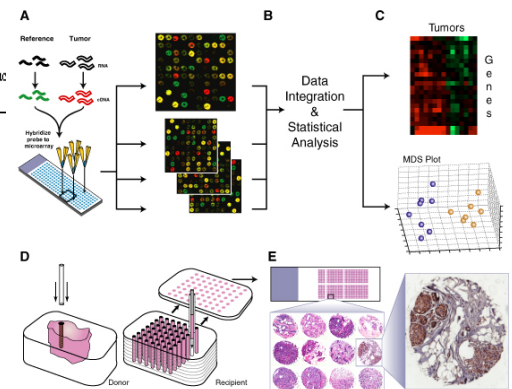
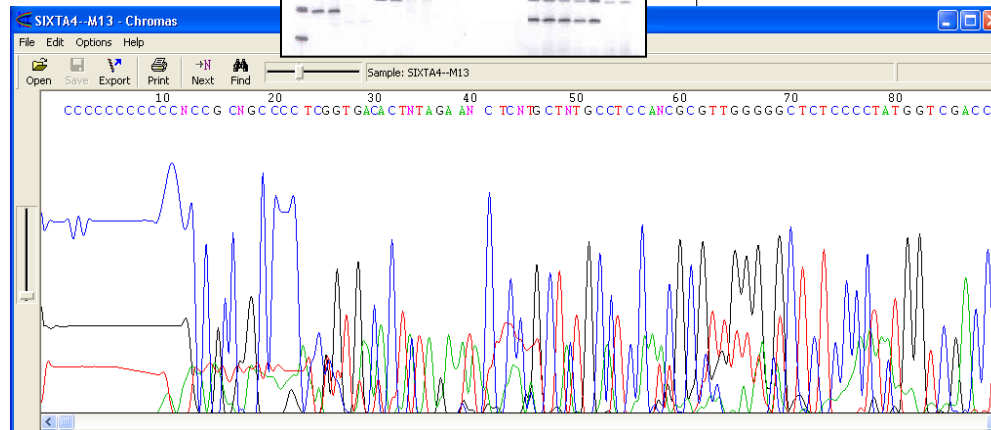
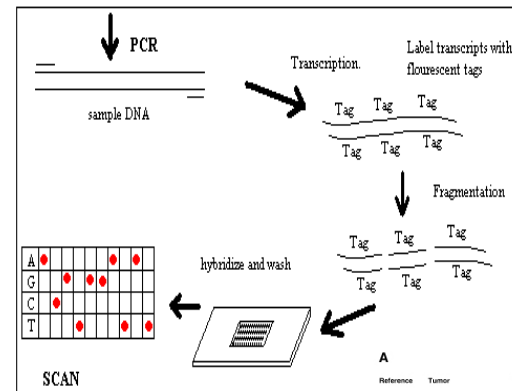
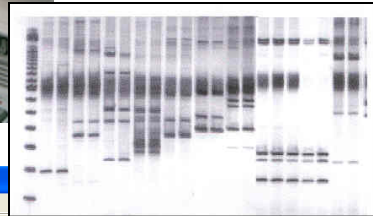
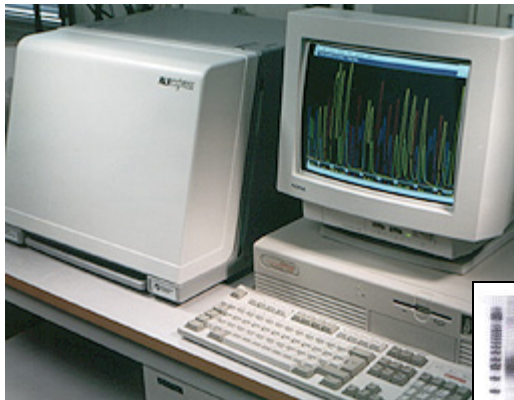


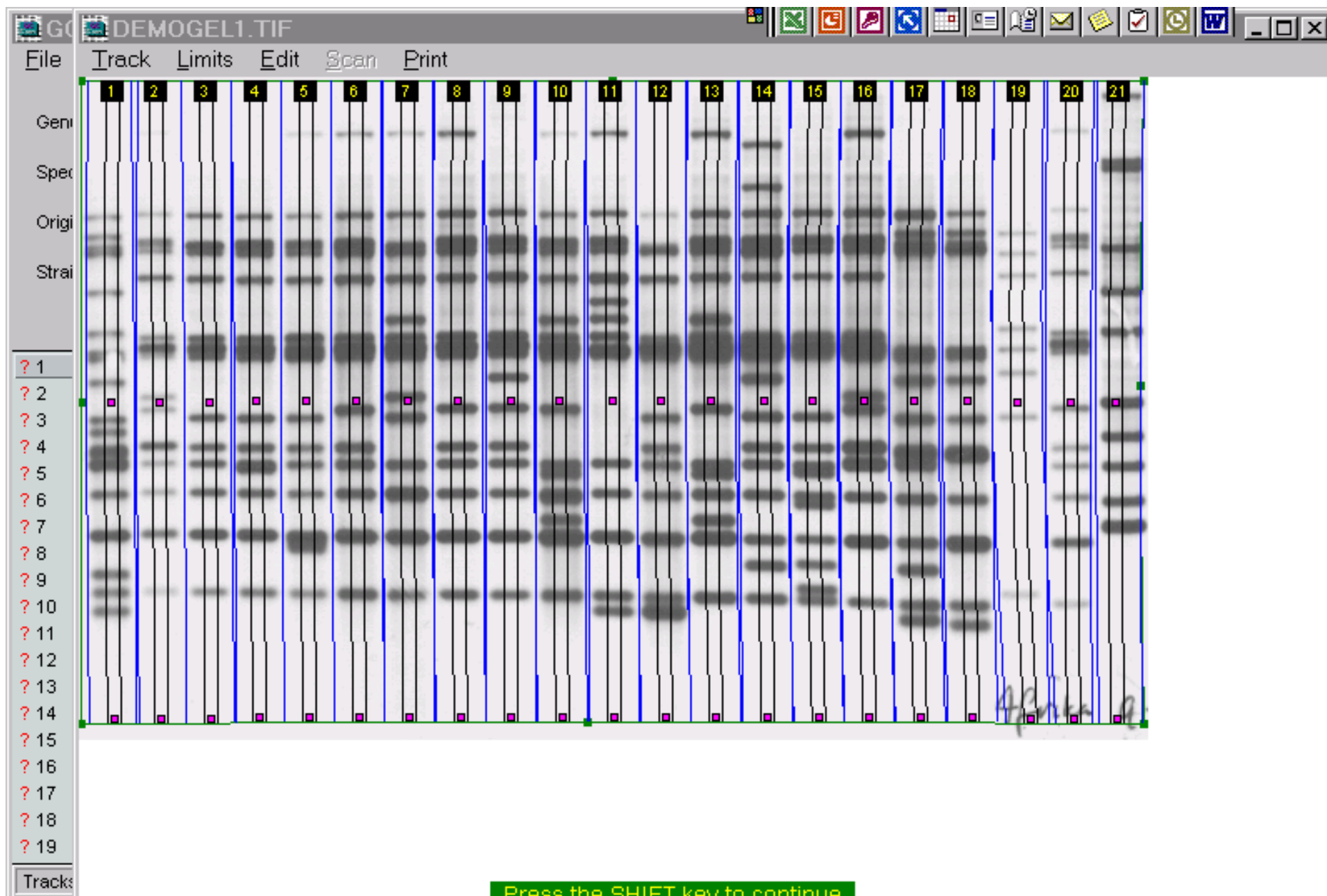
Herramientas para el Manejo y análisis de datos

1. **Captura**
2. Herramientas para análisis de datos moleculares biológicos



... para Captura y análisis preliminar de datos de secuencia y patrones de bandas



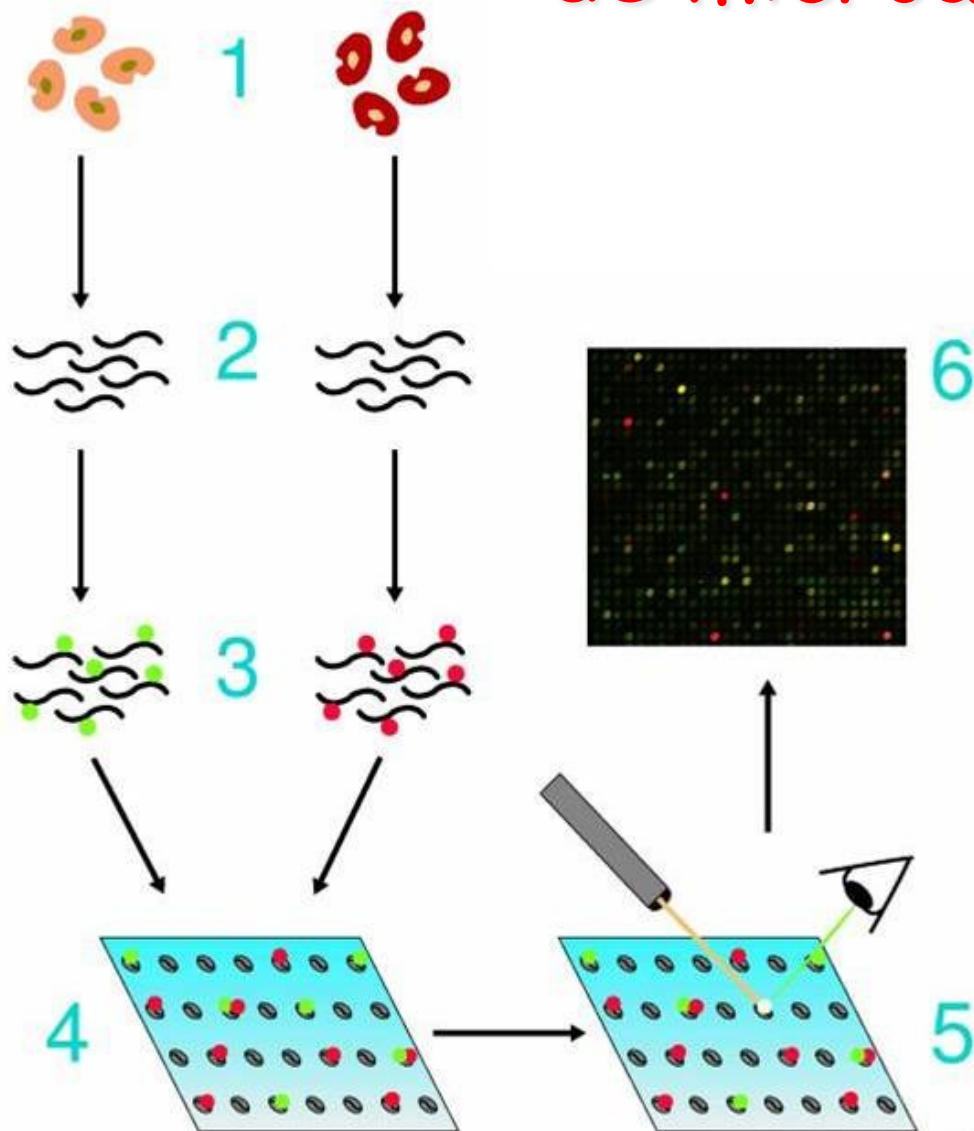


• When all tracks are marked properly, the "Scan" command will extract the densitometric data from the TIFF image.

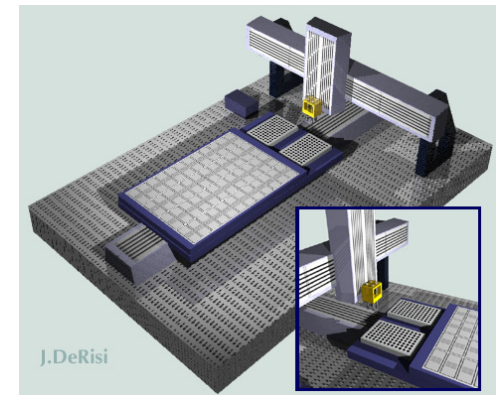
• We will now move the image window aside to edit the information in the list of tracks.



... para Captura y análisis de datos de microarreglos

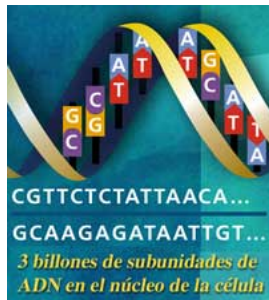


Copyright © 1998-9 by Jeremy Buhler



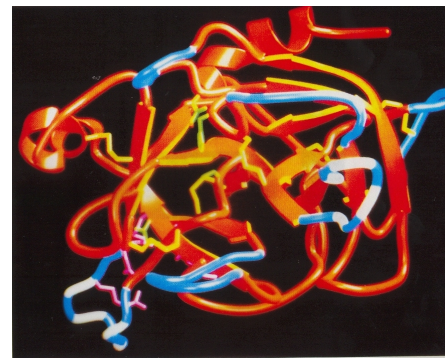


... para Almacenamiento... BASES DE DATOS



- Secuencias (DNA, proteínas) -> DB primarias
- Genómicas (MIM, GDB)
- Dominios/familias proteicas -> DB secundarias
- Mutación/polimorfismo
- Proteómica (2D gel, ECO2DBASE)
- 3D estructura -> DB de estructuras
- Metabolismo (EcoCyc, KEGG)
- Bibliografía (MEDLINE)

PROTEIN DATA BANK



SWISS-PROT

Protein knowledgebase

TrEMBL

Computer-annotated supplement to SWISS-PROT

<http://www.expasy.ch/sprot/>

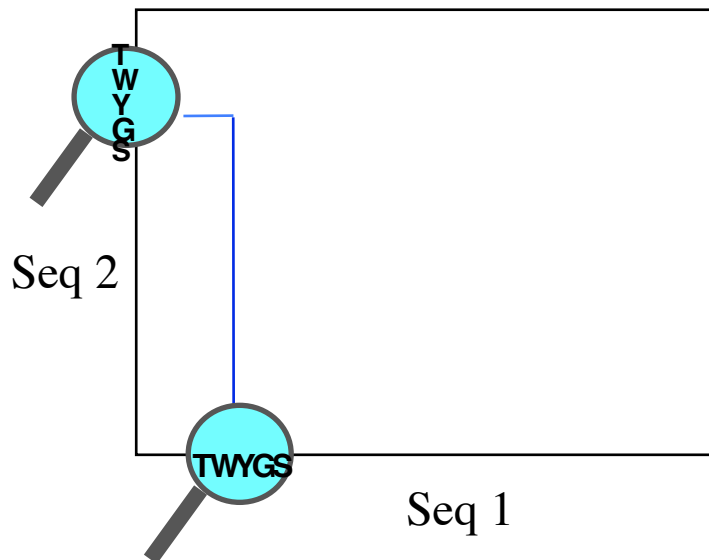
[illegible]

... para Comparación de secuencias

ALINEAMIENTO PAREADO

- Métodos gráficos : *Dotplot*
- Local : Algoritmo de Smith - Waterman
- Global: Algoritmo de Needleman y Wunsch

Evidenciar relaciones de similaridad entre las dos secuencias



Local: HBA_HUMAN vs HBB_HUMAN
Score: 293.50

```
HBA_HUMAN  2  LSPADKTNVKAAWGKVGAGHAGEYGAEEALERMFLSFPTTKTYFPHF 46
               |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
HBB_HUMAN  3  LTPEEKSAVTALWGKV..NVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESF 45

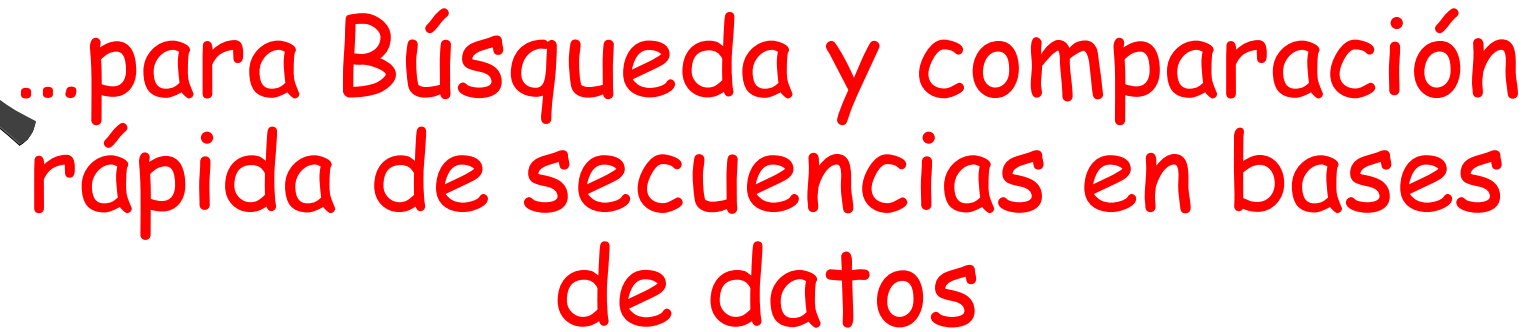
HBA_HUMAN  47  .DLS.....HGSAQVKGHGKKVADALTNAVAHVDDMPNALSALSD 85
               |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
HBB_HUMAN  46  GDLSTPDVAVMGPNPKVKAHGKKVLGAFSDGLAHLNKLKGTFFATLSE 90

HBA_HUMAN  86  LHAHKLRVDPVNFKLLSHCLLVTLAAHLPAEFTPAVHASLDKFLA 130
               ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||  ||
HBB_HUMAN  91  LHCDKLHVDPENFRLLGNVLCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVVA 135

HBA_HUMAN  131 SVSTVLTSKY 140
               ||  ||  ||
HBB_HUMAN  136 GVANALAHKY 145
```

%id = 45.99
Overall %id = 43.15

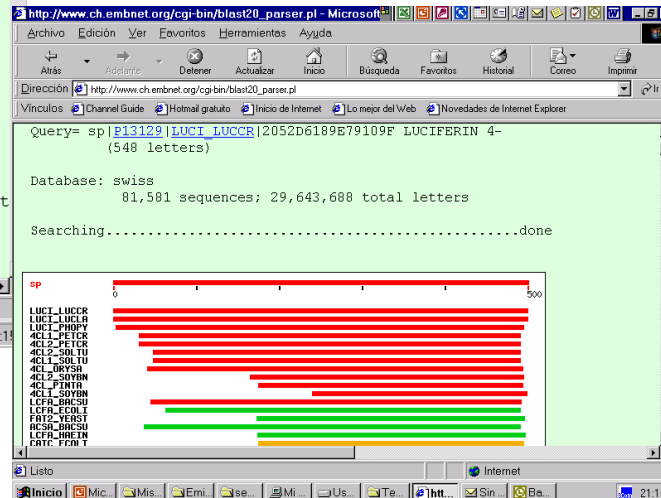
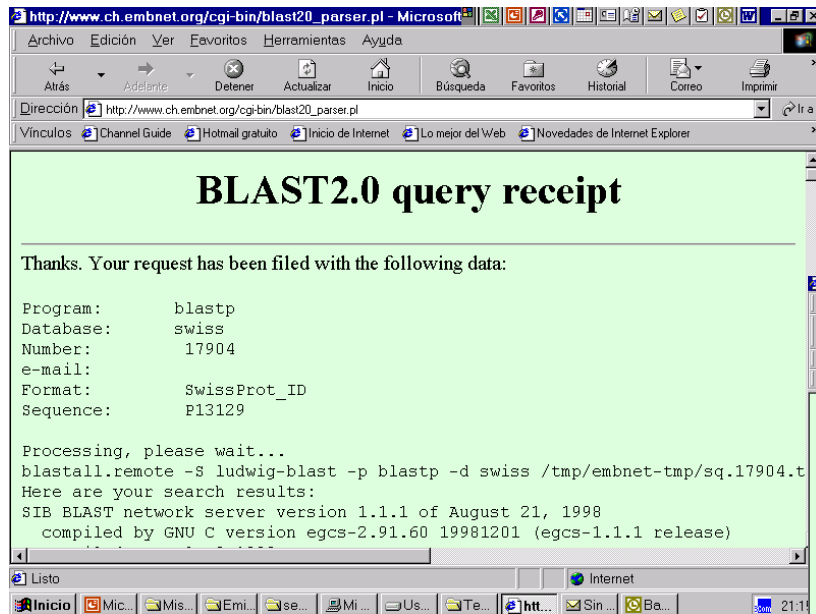
%similarity = 64.23
Overall %similarity = 60.27



MÉTODOS APROXIMADOS / HEURÍSTICOS

fastA(Pearson y Lipman, 1988)

BLAST (Altschul et al., 1990)

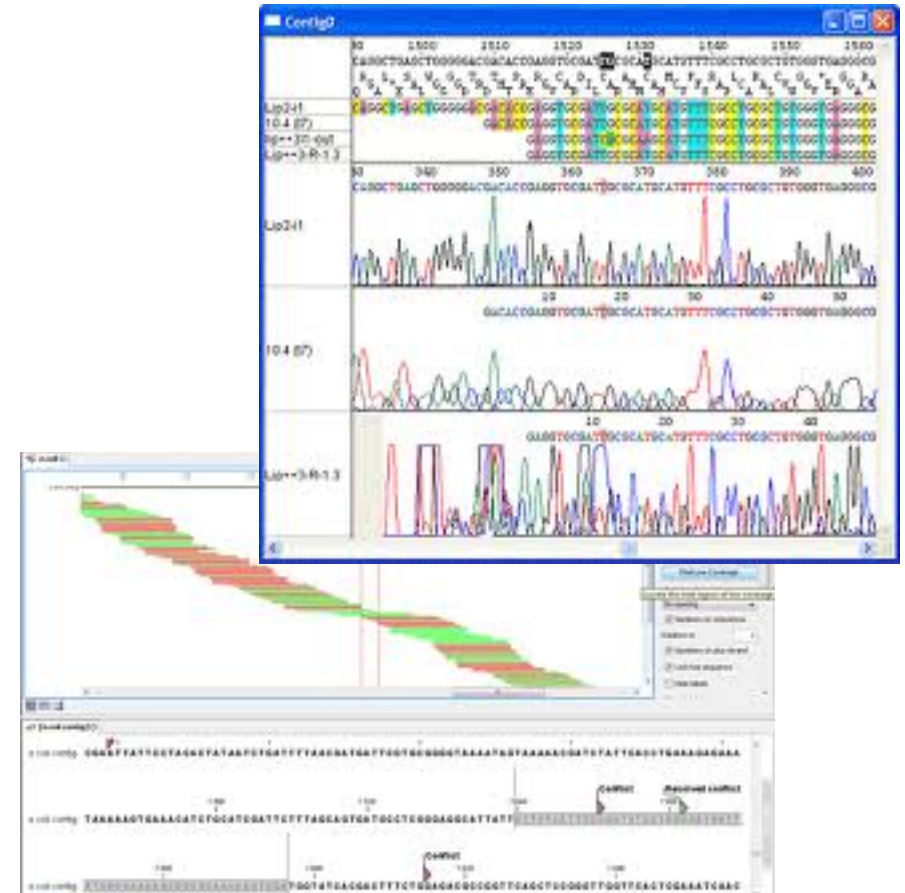
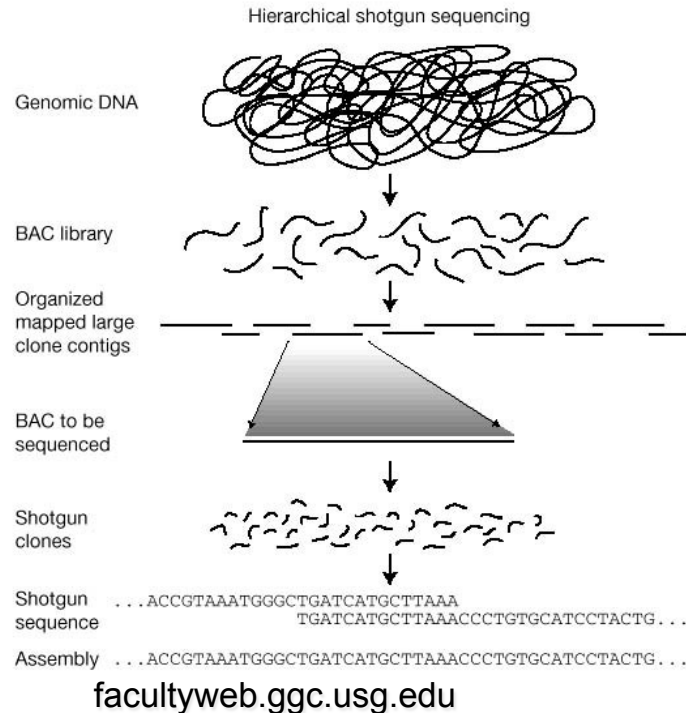


ALINEAMIENTOS MÚLTIPLES



... para Ensamblaje de secuencias de DNA

A partir de fragmentos de 30 a 800 pares de bases que se deben sobrelapar y en los que se detectan errores del proceso de secuenciación y secuencias repetidas, entre otras.



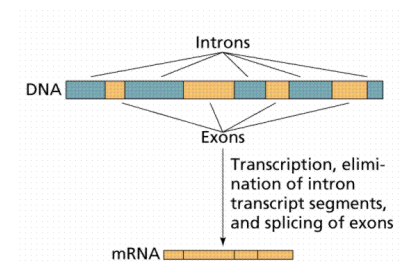
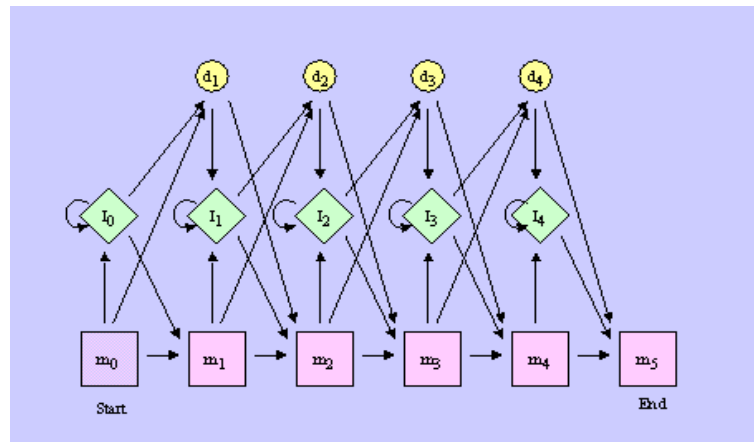
INDISPENSABLES EN
LOS PROYECTOS de
secuenciación!!!



ALINEAMIENTOS MÚLTIPLES

... para Detección de secuencias codificantes

Como genes, intrones, exones, motivos, patrones en general.



Modelos de Markov (HMM) para encontrar genes en ADN eucariótico

(<http://www.cs.jhu.edu/labs/compbio/veil.html>);

MORGAN (<http://www.cs.jhu.edu/labs/compbio/morgan.html>);

CDSB (<http://bioinfo.weizmann.ac.il/mb/BIE/cdsb.hlp.txt>);

FGEN (<http://bioinfo.weizmann.ac.il/mb/BIE/fgene.hlp.txt>);

GENSCAN (<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>)

ALINEAMIENTOS MÚLTIPLES

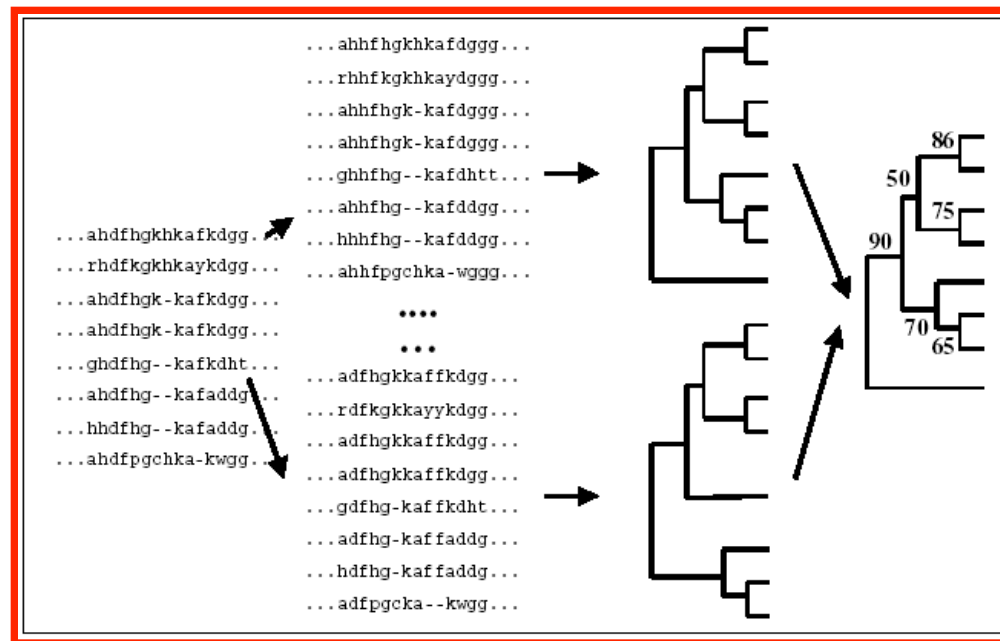


... para Análisis Filogenéticos

Evolución molecular de familias de proteínas

Creación de árboles taxonómicos

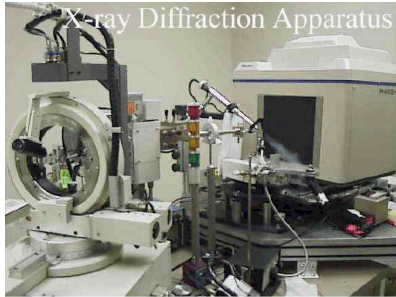
Reconstrucción evolutiva de rutas metabólicas.



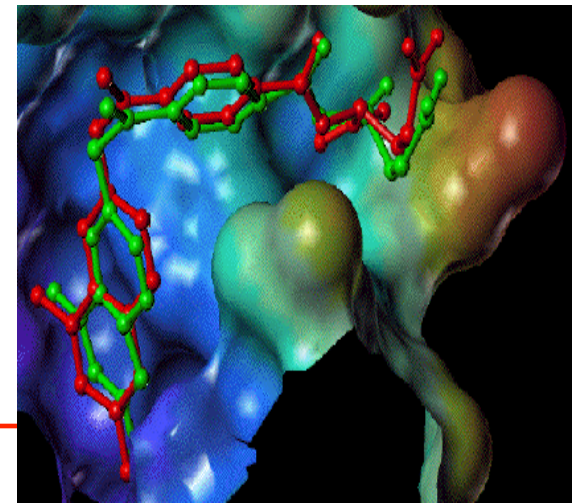


ALINEAMIENTOS MÚLTIPLES

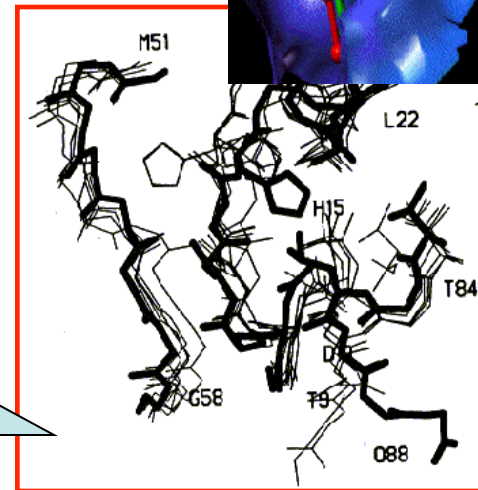
... para Predicción de Estructuras 3D



→ CRISTALOGRAFIA DE RAYOS-X
ESPECTROSCOPIA NMR
CRIO-EM



- **Secuencia nueva:**
MLDTNMKTQLKAYLEKLTKPVELIATLDDSAKSAEIKELL...
- **Predicción de estructura secundaria:**
LDTNMKTQLKAYLEKLTKPVELIATLDDSAKSAEIKELL...
HHHHHCCCCCHHHHHHHHHHCCCCBBBBBBBCBBBB
- **Predicción de estructura 3D: *Ab-initio***
 1. Predicción de estructura secundaria PHD
 2. Modelación homóloga **SWISS-MODEL**
 3. Distancia geométrica

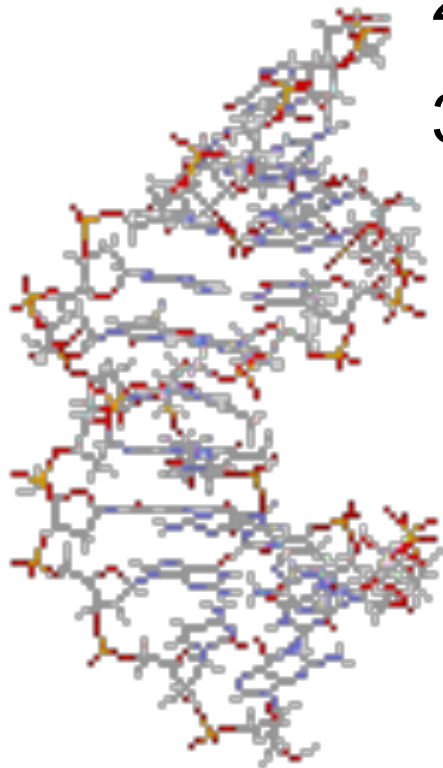
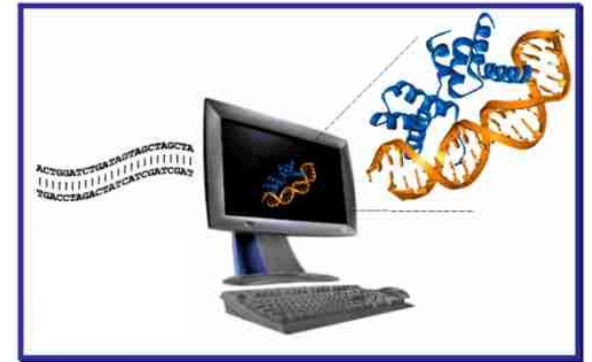


MODELAMIENTO MOLECULAR DE LA ESTRUCTURA TERCIARIA DE PROTEINAS

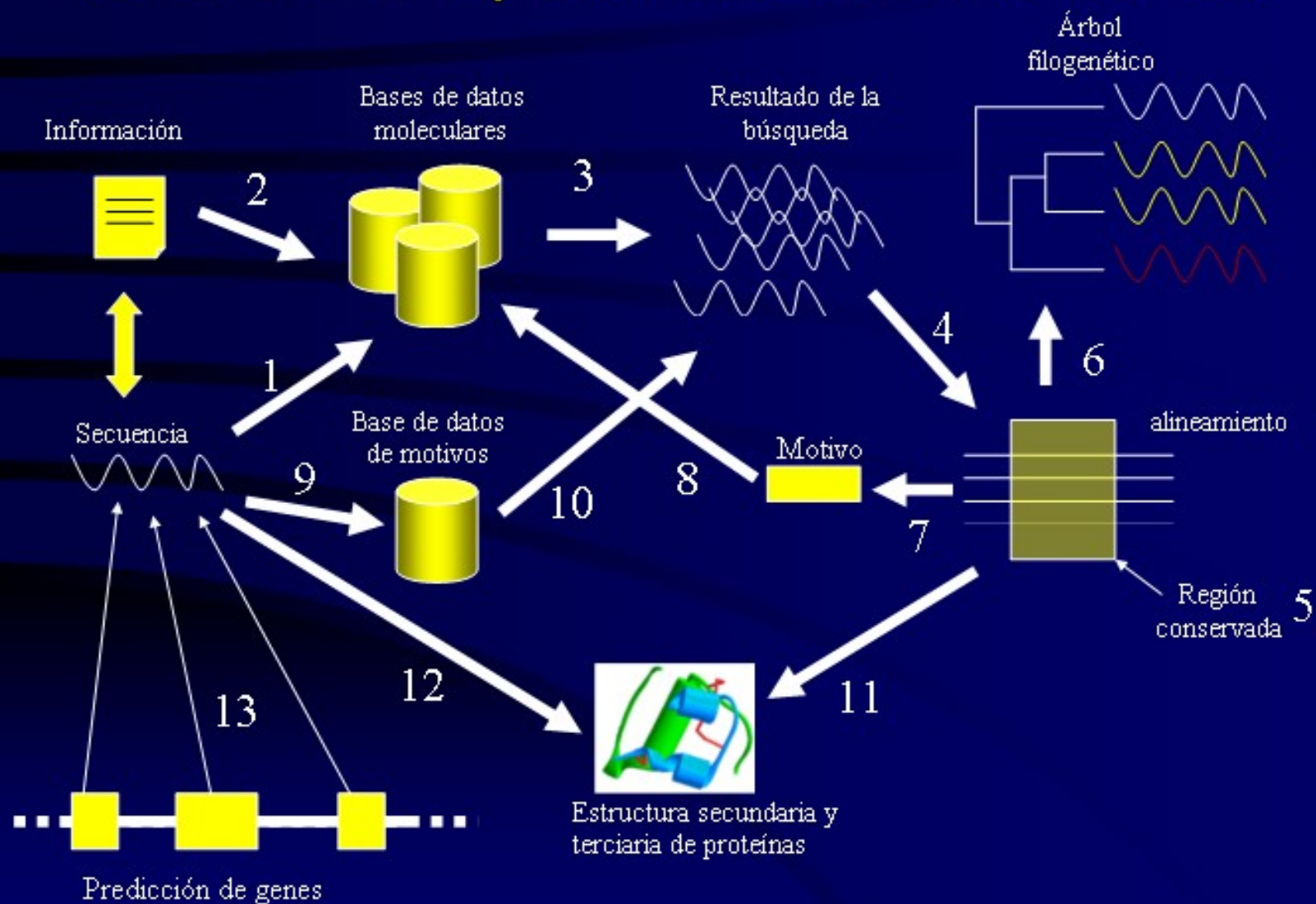


...Modelación y Simulación

1. Escalonamiento
2. Diseño de fármacos
3. Modelación estructural de ácidos nucleicos y proteínas.



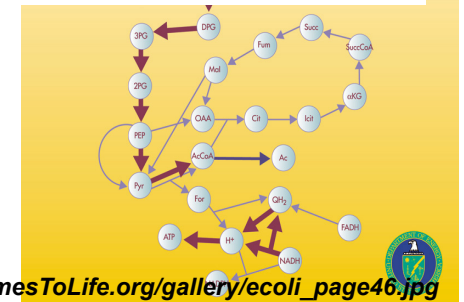
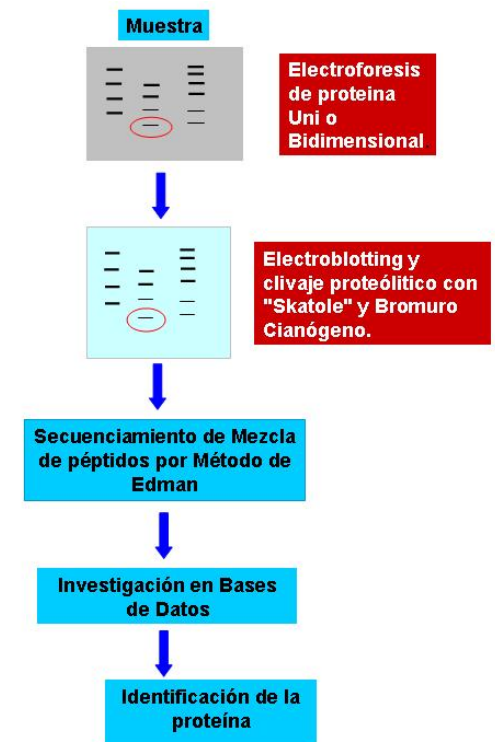
Bioinformática y análisis de secuencias clásico



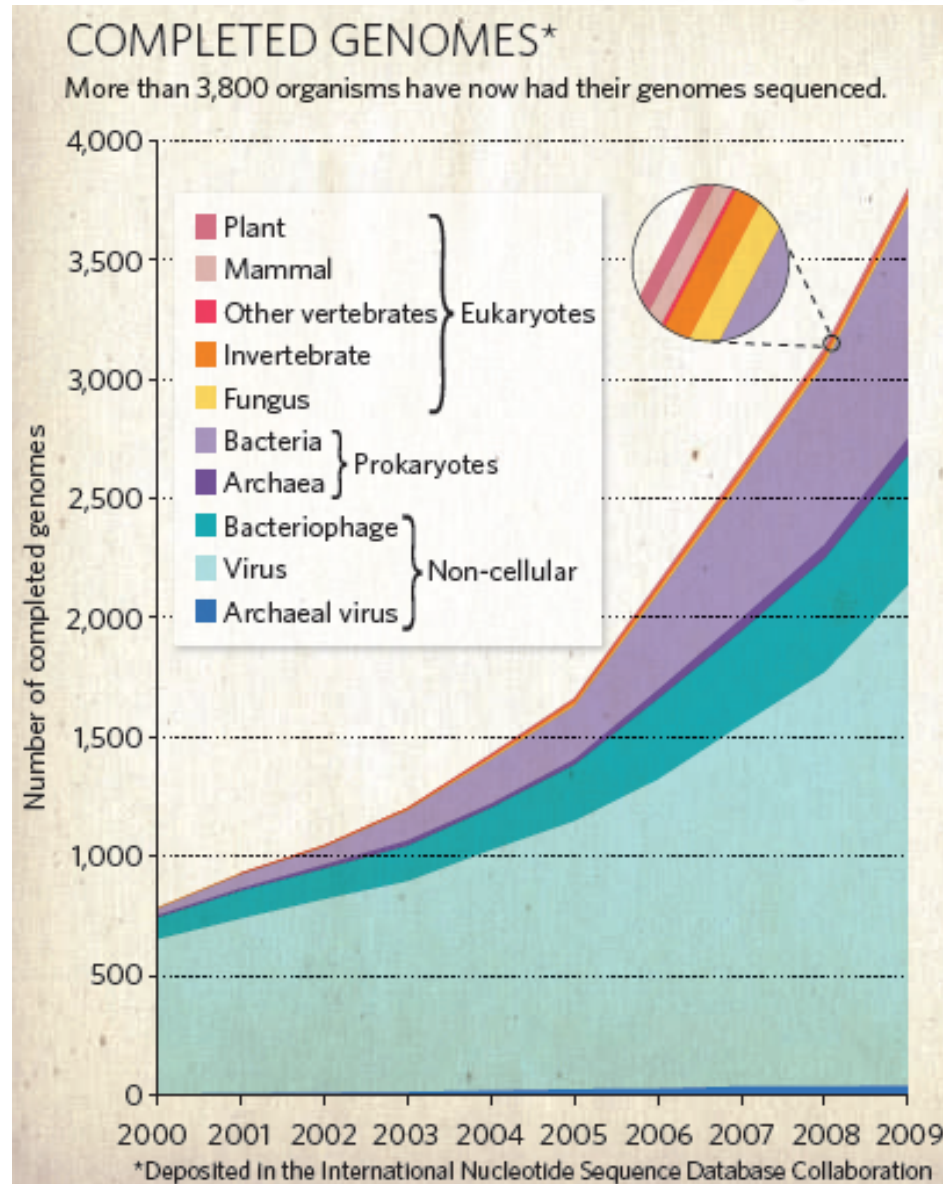
.....Genómica, Proteómica, metabolómica

Nivel de análisis	Definición	Método de análisis
GENOMA	Conjunto completo de genes de un organismo o sus organelas	Secuenciación sistemática del ADN
TRANSCRIPTOMA	Conjunto completo de moléculas de ARN mensajero presentes en una célula, tejido u órgano.	Hibridización. SAGE (serial analysis of gene expresion)
PROTEOMA	Total de moléculas proteicas presentes en una célula, tejido u órgano.	Electroforesis bi-dimensional.
METABOLOMA	Conjunto completo de metabolitos (intermediarios de bajo peso molecular) en una célula, tejido u órgano.	Espectroscopía con luz infrarroja. Espetrometría de masa. Espectrometría con resonancia nuclear magnética.
OMIC ?????		

Adaptado de Stephen O. Proteomics: Guilt-by-association goes global. Nature 2000. vol 403, 601-603

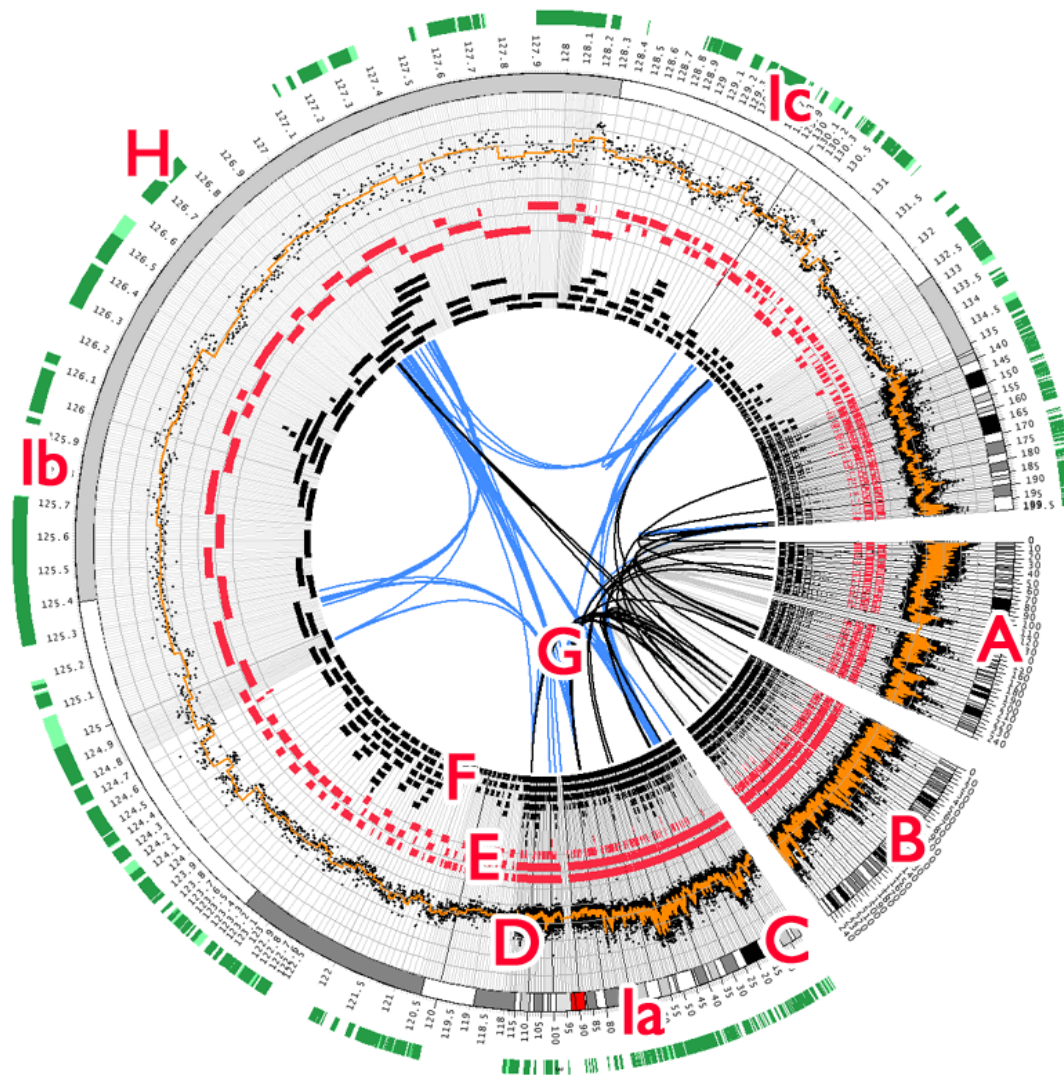


Genómica



J. Craig Venter. 2010
April. Multiple personal
genomes await.
Nature. 464. 676-677

Genómica

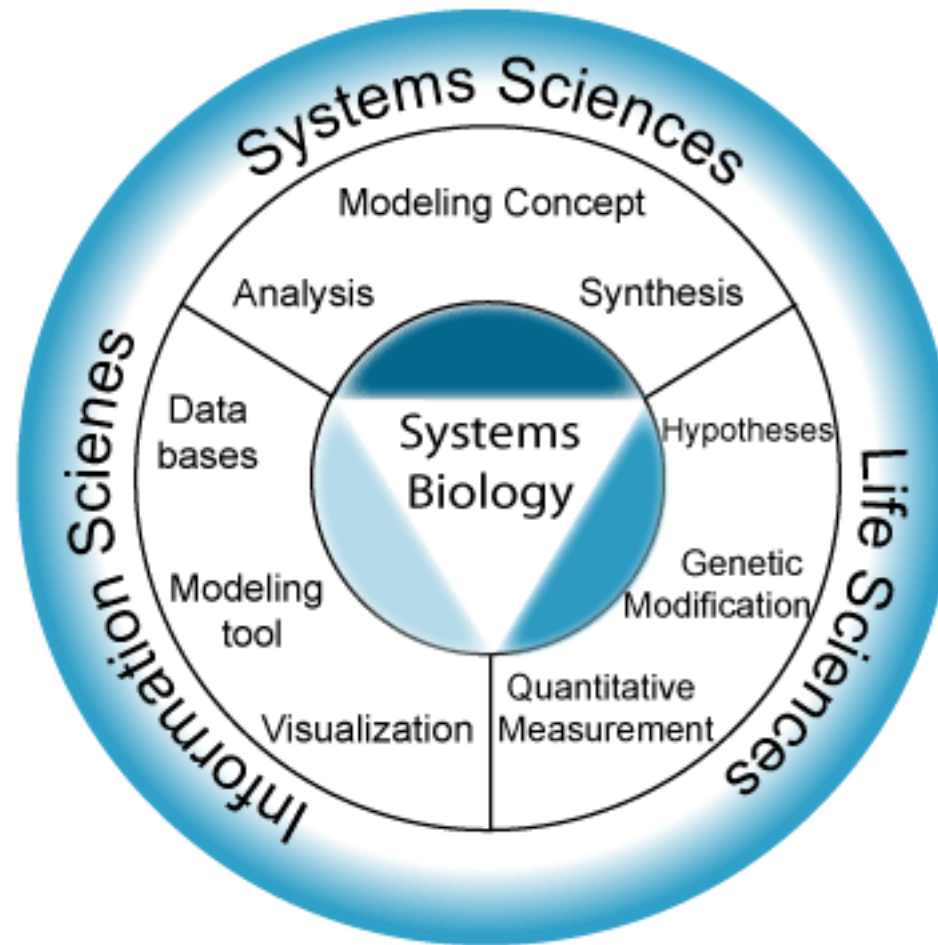


Bioinformática: Era post-genómica

- ✗ Rápido diseño y desarrollo de teorías, métodos y plataformas bioinformáticas**
- ✗ Utilizados en análisis de datos procedentes de: Proteómica, Metabolómica, Biología estructural, biología evolutiva, biología sintética.....**

BIOLOGÍA DE SISTEMAS

BIOLOGÍA DE SISTEMAS







CENTRO DE BIOINFORMÁTICA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - SEDE BOGOTÁ
CBIB @ UNAL

Quines somos

Grupo Interdisciplinario creado en 1998
Clasificación A de Colciencias.

Responsable del Nodo Colombiano de la Red
Europea de Biología Molecular EMBnet desde
2002

Miembro de la Red Iberoamericana de
Bioinformática desde 2004



CBIB @ UNAL

Objetivos:

Desarrollo de la bioinformática como área de investigación, docencia y extensión .

Desarrollo de herramientas bioinformáticas para el manejo y análisis de datos biológicos.

Implementación, entrenamiento y
Soporte en el uso de herramientas
bioinformáticas .

CBIB @ UNAL



ALIANZAS !!!



1988 Europa, ahora es una red mundial
31 nodos nacionales, 11 nodos especiales



- Educación, Entrenamiento
- Desarrollo de Software (EMBOSS, SRS)
- Recursos de Computo (bases de datos, sitios web, servicios)
- Ayuda y soporte técnico
- Publicaciones

Red Iberoamericana de Bioinformática



España y 10 Países
latinoamericanos



CBIB @ UNAL

Investigadores

Emiliano Barreto Hernández. IBUN. Líder del Grupo

María Teresa Reguero Reza. IBUN

José Ramón Mantilla Anaya. IBUN

John Douglas Linch. Instituto de Ciencias Naturales. Facultad de Ciencias

Fabio Ancízar Aristizábal Gutiérrez. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias

Laurent Falquet. Instituto Suizo de Bioinformática

Estudiantes

Pregrado 2. Biología, Farmacia

Maestría 8. Genética, Microbiología

Doctorado 2.

Producción académica

Artículos internacionales 2. Artículos nacionales 7.

Software registrado 5.





CBIB @ UNAL

Áreas de Investigación

Salud

Desarrollo de modelos de integración y análisis para la moleculares y clínicos.

Proyectos:

BLA_ID: Modelo de conocimiento para la detección, comparación, búsqueda y análisis de secuencias codificantes de resistencia a antibióticos β -lactámicos (http://bioinf.ibun.unal.edu.co/bla_id/)

SÍNDROME DE FATIGA CRONICA: Identificación genes, SNPs y rutas metabólicas a partir de datos de microarreglos, SNPs y clínicos útiles en el diagnostico del SFC.

CÁNCER DE PANCREAS: minería de datos para la búsqueda de relaciones metabólicas entre genes diferencialmente expresados cáncer de páncreas. (<http://bioinf.ibun.unal.edu.co/cbib/pancreas.php>)

BLANCOS PROTÉICOS EN MALARIA: identificación de posibles blancos proteicos útiles en el desarrollo de vacunas,



CBIB @ UNAL Áreas de Investigación

Nuevas herramientas

Desarrollo de nuevas herramientas bioinformáticas adaptadas a las necesidades de las nuevas tecnologías de alto rendimiento de producción de datos biológicos..

SRSfed: Implementación de una versión piloto de un Sequence Retrieve System basado en servicios de bases de datos distribuidos entre diferentes países de America y Europa. (<http://srs.ibun.unal.edu.co/>)

BLAME: Blast Made Easy, sistema para la creación, visualización y análisis de resultados Blast. (<http://bioinf.ibun.unal.edu.co/blame/>)



MUCHAS GRACIAS!!!!