



FORMULARIO DE PRESENTACIÓN DE PROPUESTA PROGRAMA DE FORMACIÓN PARA LA PARTICIPACIÓN

FOLIO
BASES

115

CÓDIGO
(Uso interno)

NOMBRE DE LA ACTIVIDAD A LA CUAL ESTÁ POSTULANDO

V Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología Vegetal.

ANTECEDENTES PERSONALES DEL POSTULANTE

- o Nombres y Apellidos : Genevieve Merabachvili Catonge

- o Lugar o Institución donde trabaja : Pontificia Universidad Católica,
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Lab. de Bioquímica
- o Cargo o actividad principal : Investigador
- o Tipo de Relación contractual
con la empresa u organismo donde trabaja : Investigador, Jornada
completa
- o Dirección : Alameda 340
- o Comuna : Santiago
- o Ciudad : Santiago
- o Región : Metropolitana
- o Fono : 6862894
- o Fax : 2225515, atención Laboratorio de
Bioquímica
- o E-mail : gmerabac@bio.puc.cl



ENTIDAD PATROCINANTE (En caso que corresponda)

- o Nombre :
- o RUT :
- o Dirección :
- o Comuna :
- o Ciudad :
- o Región :
- o Fono :
- o Fax :
- o E-mail :
- o Web :

TIPO DE ENTIDAD PATROCINANTE

- o Tipo de Entidad :

(Señalar si corresponde a una empresa productiva y/o de procesamiento; organización o agrupación de productores pequeños, o medianos a grandes; asociación gremial de productores pequeños, o medianos a grandes; universidad; instituto de investigación, u otra entidad según punto 1.5 de las Bases Generales)

- o Institución o Entidad : Pública _____ Privada _____

(Marcar con una cruz en el espacio en blanco si la entidad responsable corresponde a una pública o privada)

ANTECEDENTES REPRESENTANTE LEGAL DE LA ENTIDAD PATROCINANTE

- o Nombres y Apellidos :
- o RUT :
- o Cargo o actividad que realiza
Entidad patrocinante :
- o Dirección :
- o Comuna :
- o Ciudad :
- o Región :
- o Fono :
- o Fax :
- o E-mail :



• Firma : _____

FECHA DEL PROGRAMA DE ACTIVIDADES

FECHA DE INICIO
(dd/mm/aaaa)

20/06/2004

FECHA DE TÉRMINO
(dd/mm/aaaa)

26/06/2004

COSTO TOTAL DE LA PROPUESTA

: \$

850.263

FINANCIAMIENTO SOLICITADO A FIA

: \$

608.263

71.5

%





(Indique el objetivo general y específicos de su participación en la Actividad de Formación para la cual solicita financiamiento, relacionando su trabajo con el evento al cual desea asistir)

El trabajo que se busca presentar en este congreso se encuentra dentro del marco del proyecto de genómica de vides que actualmente se está ejecutando en nuestra universidad. En este proyecto se busca estudiar la expresión diferencial de genes en las plantas de vides en respuesta a infecciones virales, específicamente frente a infecciones con GLRaV, utilizando herramientas de genómica funcional como son los microarrays. Este virus, así como varios otros, afectan en forma importante a los cultivos de vides tanto de nuestro país como de otros países, produciendo pérdidas económicas importantes para los productores.

El trabajo para presentar en el congreso se encuentra orientado a estudiar la expresión diferencial de genes de vides que participan en la respuesta generada por estrés oxidativo utilizando microarrays como técnica de análisis. El tratamiento específico de las plantas de vides se hizo con ácido salicílico, ya que este compuesto se relaciona con un aumento en los niveles de agentes oxidantes presentes en las plantas. Además, la activación de algunos mecanismos de defensa de las plantas depende del ácido salicílico. El objetivo específico de este trabajo es poder identificar genes que presenten una expresión diferencial y que tengan relación con los mecanismos de defensa de las plantas, de manera de poder aislarlos y caracterizarlos. Lo que se busca es poder usar estos genes para obtener plantas de vides que sean más resistentes a estos tratamientos como también a ataques de patógenos, como los virus que normalmente las afectan.

La asistencia a este congreso permitiría divulgar el trabajo realizado hasta el momento frente a un público especializado en el campo de la biotecnología, lo que representa una gran oportunidad, ya que en nuestro país los estudios utilizando microarrays como técnica de estudio de expresión de genes recién se están iniciando. Esto dificulta el poder interactuar con personas que conozcan del tema y que puedan aportar en forma importante a este trabajo, no solo en lo teórico sino también en lo práctico como es el análisis de los datos generados en los experimentos.

Nota: En esta o en las otras secciones del documento se pueden agregar cuántas hojas el postulante estime necesario. Al final del Formulario se adjuntan hojas en blanco para anexar.



(Indique los resultados esperados producto de su participación en la Actividad de Formación para la cual solicita financiamiento, señalando los ámbitos específicos en los cuales aplicará los conocimientos y/o contactos adquiridos, tanto en el corto, como en el mediano y largo plazo)

Uno de los principales resultados esperados es el poder interactuar con personas que trabajen en temas relacionados tanto con la genómica funcional como en vides. Esta interacción puede permitir un mejor desarrollo de este proyecto, de manera de poder obtener mejores resultados finales, ya sea a nivel de análisis de resultados como de los estudios posteriores que se generen de ese análisis. Estos resultados pueden estar relacionados con la caracterización de genes de vides que tengan que ver con defensa y con la posibilidad de generar plantas que presenten un mejor mecanismo de defensa frente a patógenos, tanto virales como bacterianos y de hongos.

Respecto a los resultados a mediano y largo plazo, se espera poder dar una mayor difusión del trabajo de investigación que se está desarrollando en nuestro país y que nos permita generar nuevos vínculos con laboratorios extranjeros que estén interesados en estas áreas de investigación. Estos nuevos vínculos pueden abrir la posibilidad de poder realizar pasantías en laboratorios extranjeros como la generación de proyectos conjuntos en áreas de interés para ambos países. Otro objetivo a mediano plazo se refiere a poder divulgar en nuestro país las actividades científicas que se están realizando en otros países y que pueden dar una buena visión del avance científico que está ocurriendo en la región y que permitiría realizar estudios más acabados y de mayor importancia.

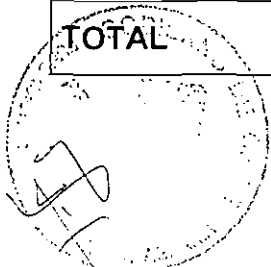
FECHA <i>(Día-mes-año)</i>	ACTIVIDAD	OBJETIVO	LUGAR
20/06/2004	Partida desde el aeropuerto de Santiago/Chile hacia Republica Dominicana	Llegar a Republica dominicana, lugar del congreso	Aerpuero de Santiago, Chile
21/06/2004	Llegada a Republica Dominicana. Desplazamiento hacia el lugar del congreso.	Inscripción, registro y participación en el Congreso REDBIO 2004	Hotel Hilton, Punta de Cana Republica Dominicana
22/06/2004	Congreso REDBIO 2004	Participación en las actividades del congreso	Hotel Hilton, Punta de Cana, Republica Dominicana
23/06/2004	Congreso REDBIO 2004	Participación en las actividades del congreso	Hotel Hilton, Punta Cana, Republica Dominicana
24/06/2004	Congreso REDBIO 2004	Participación en las actividades del congreso	Hotel Hilton, Punta Cana, Republica Dominicana
25/06/2004	Congreso REDBIO 2004 Partida hacia Chile	Participación en las actividades del congreso	Hotel Hilton, Punta Cana, Republica Dominicana
26/06/2004	Arribo a Santiago de Chile	Volver al País al finalizar las actividades del congreso	Aeropuerto de Santiago, Chile



FECHA (Día-mes-año)	TIPO DE ACTIVIDAD.	OBJETIVO	LUGAR	N° y TIPO BENEFICIARIOS	INFORMACIÓN A ENTREGAR
12/07/2004	Presentación del informe Técnico y de gastos realizados durante la participación en el congreso	Dar detalle del congreso	FIA, Santiago	FIA, Santiago	Informe Escrito
27/07/2004	Presentación en PowerPoint del trabajo del congreso	Divulgar el trabajo y parte del congreso	Laboratorio de Bioquímica, PUC	Personas vinculadas con el ambiente científico como profesores, investigadores, alumnos de pre- y postgrado	Presentación en Powerpoint
30/07/2004	Puesta en la página web del proyecto de genómica de videos la presentación hecha en el congreso	Divulgar el trabajo presentado en el congreso	Sitio web proyecto genómica	Abierto a todo público,	Powerpoint

SECCIÓN 6: COSTOS TOTALES Y ESTRUCTURA DE FINANCIAMIENTO DE LA PROPUESTA (EN PESOS)

ÍTEM	COSTO TOTAL	APORTE POSTULANTE	APORTE SOLICITADO A FIA	N° DE COTIZACIÓN (Según Anexo 4)
Pasajes Aéreos Internacionales	382.261		382.261	1
Pasajes Aéreos Nacionales				
Tasas de Embarque	99.297		99.297	1
Seguro de Viaje	29.205		29.205	
Pasajes terrestres internacionales				
Pasajes terrestres nacionales				
Alojamiento	143.000	143.000		2
Viático Alimentación y Movilización	50.000	50.000		
Matrícula o costo de la Actividad de Formación	97.500		97.500	2
Materiales de trabajos y libros	30.000	30.000		
Material de Difusión	15.000	15.000		
Gastos emisión de Garantía	4.000	4.000		
TOTAL	850.263	242.000	608.263	



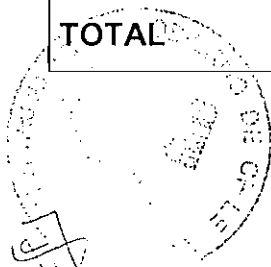
6.1. Procedencia de Aporte de Contraparte (En pesos):

ÍTEM	APORTE FIA	APORTE DIRECTO DEL POSTULANTE	APORTE DE LA ENTIDAD PATROCINANTE (Si corresponde)	APORTE OTRA PROCEDENCIA (Especificar)
Pasajes Aéreos Internacionales	382.261			
Pasajes Aéreos Nacionales				
Tasas de Embarque	99.297			
Seguro de Viaje	29.205			
Pasajes terrestres internacionales				
Pasajes terrestres nacionales				
Alojamiento		143.000		
Viático Alimentación y Movilización		50.000		
Matricula o costo de la Actividad de Formación	97.500			
Materiales de trabajos y libros		30.000		
Material de Difusión		15.000		
Gastos emisión de Garantía		4.000		
TOTAL	608.263	242.000		

6.2. Detalle de Cálculo de Costos (En pesos)

(Cuadro Ejemplo)

ÍTEM DE FINANCIAMIENTO	COSTO UNITARIO	Nº UNIDADES (CANTIDAD)	COSTO TOTAL	Nº COTIZACIÓN RESPECTIVA
Pasajes Aéreos Internacionales	382.261	1	382.261	1
Pasajes Aéreos Nacionales				
Tasas de Embarque	99.297	1	99.297	1
Seguro de Viaje	29.205		29.205	
Pasajes terrestres internacionales				
Pasajes terrestres nacionales				
Alojamiento	35.750	4	143.000	2
Viático Alimentación y Movilización	10.000	5	50.000	
Matrícula o costo de la Actividad de Formación	97.500	1	97.500	2
Materiales de trabajos y libros	30.000	1	30.000	
Material de Difusión	15.000	1	15.000	
Gastos emisión de Garantía	4.000	1	4.000	
TOTAL			850.263	



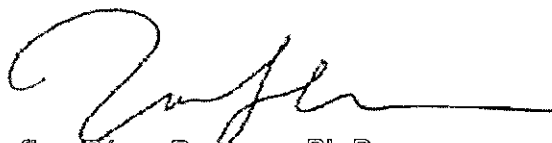
REDBIO 2004

Mayo 11, 2004
Santo Domingo
República Dominicana

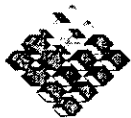
Estimado Genevieve Merabachvili C.:

Muy cortésmente nos dirigimos a usted para informarle que su trabajo titulado: "Estudio de la expresión de genes de defensa a estrés en vides utilizando microarrays de *Arabidopsis thaliana*", recibido en fecha 23-04-2004, fue aceptado para presentarse de manera oral en el taller XVIII titulado: *Biotecnología aplicada a Frutales (II)*. Este taller se celebrará el día 25-06-2004 de 15:40-18:00, las presentaciones tendrán una duración de 15 minutos. Favor de informarnos el formato de su presentación.

Agradeciendo su participación en este evento le saluda



Rufino Pérez Brennan, Ph.D
Presidente Comité Organizador REDBIO 2004



ANEXO 1
CURRICULUM VITAE DEL POSTULANTE

Genevieve Merabachvili Calonge

Experiencia

2003- 2004 Dr. Loreto Holuigue B. Laboratorio de Bioquímica. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile

Desarrollo de Tesis de Doctorado

-Estudio de genómica funcional de vides: análisis de la expresión de genes inducidos por ácido salicílico"

1999-2001 Dr. Nibaldo Inestrosa C. Laboratorio de Neurobiología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Católica de Chile.

Ayudante de investigación en los siguientes proyectos

- Determinación del efecto del amiloide en la expresión de AP-1 mediante gels de retardo. FONDAPE-Biomedicina, Facultad de Cs. Biológicas, PUC

- Determinación de la expresión de la proteína precursora de amiloide en Degu mediante RT-PCR. FONDECYT- Dr. Ariel Reyes, Unidad de Neurobiología Molecular, PUC

- Medición de la expresión de CGRP en miotubos de rata mediante RT-PCR semicuantitativo. FONDECYT- Dr. Rebeca Aldunate, Unidad de Neurobiología, PUC.

- Efecto del Cobre en la expresión de la proteína prion mediante Northern blot. Proyecto cobre-CIMM

1997-1999 Dr. Patricio Hinrichsen R. Laboratorio de Biotecnología. Instituto de investigación Agropecuarias, (INIA) CRI La Platina, Santiago, Chile.

Tesis de Magíster en el proyecto

-Identificación de marcadores genéticos de importancia económica en camélidos. Fundación para la innovación agraria (FIA)

1996 Dr. Federico Leighton. Laboratorio de Citología Bioquímica y Lípidos. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. Santiago

Unidad de Investigación

-Estudio del efecto de antioxidantes en células Hela mediante ensayos de EMSA.

Educación

2001- Doctorado en Ciencias Biológicas. Mención en Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile.

1997-1999 Magister en Bioquímica. Pontificia Universidad Católica de Chile.

1992-1997 Licenciatura en Bioquímica. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Otros

Asistencia a Congresos.

2º Taller de Bioinformática, Avances en Bioinformática. 16 y 17 de Octubre del 2003. Facultad de Cs. Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago.

"Estudio de la expresión de genes de defensa a estrés en vides utilizando microarrays de *Arabidopsis thaliana*." Merabachvili, G. Somerville, S., Holuigue, L.

XVII Reunión Anual de Sociedad de Biología Celular de Chile. 9-13 de Octubre de 2003, Pucón, Chile.

"Péptido β -amiloide similar al humano determina la patología de Alzheimer en el roedor *Octodon degus*" Chacón M., Reyes, A., Villalón, A., Merabachvili, G., Aldunate, R., Bozinovic, F. Aboitz, F., Inestrosa, N.

XXVI Reunión Anual de la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile. 23-26 de Septiembre del 2003. Villa Alemana, Chile
"Estudio de la expresión de genes de defensa a estrés en vides utilizando microarrays de *Arabidopsis thaliana*." Merabachvili, G. Somerville, S., Holuigue, L.

XLII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile. 14-17 de Noviembre del 2000, Pucón, Chile.

"CGRP aumenta la expresión de las formas moleculares de acetilcolinesterasa mediante un mecanismo que no depende de la región promotora del gen de la subunidad catalítica" Aldunate, R., Merabachvili, G., Inestrosa, N.

Seminario "Manejo sustentable de la Vicuña y el Guanaco" 18-19 de Noviembre de 1998, Santiago, Chile.

"Uso de marcadores moleculares para estudios de filiación y de diversidad genética de camélidos" Merabachvili, G., Obreque, V., Mancilla, R., García-Huidobro, J., Zapata, B., Bonacic, C., Cothran, E.G, Hinrichsen, P

IV Congreso Nacional de Biotecnología. 30 de septiembre al 3 de Octubre de 1998, Talca, Chile.

"Identificación de marcadores moleculares para estudio genómico de camelidos sudamericanos" Merabachvili, G., Obreque, V., Mancilla, R., García-Huidobro, J., Hinrichsen, P.

XXXI Reunión anual de Sociedad Genética de Chile. 20-23 de Octubre de 1998, La Serena, Chile.

"Diversidad genética de camélidos sudamericanos determinada mediante marcadores moleculares" Merabachvili, G., Obreque, V., Mancilla, R., García-Huidobro, J., Hinrichsen, P.

XXVI International Conference on Animal Genetics. 9-18 de Agosto de 1998, Auckland, Australia.

"Genetic differences among South American camelids as determined by anonymous polymorphic markers" Merabachvili, G., Hinrichsen, P., Cothran, E.G., Mancilla, R., García-Huidobro, J.

XXX Reunión Anual de Sociedad de Genética de Chile. 7-10 de octubre de 1997, Puerto Varas, Chile.

"Diferencias genéticas entre especies de camélidos sudamericanos determinadas mediante RAPD" Merabachvili, G., Hnrichsen, P., Cothran, E.G., Mancilla, R., García-Huidobro, J.

Estadías en el extranjero

Abril-Junio 2003 Dr. S. Somerville. Department of Plant Biology,
Carnegie Institution of Washington. Stanford, California. USA.

Desarrollo de microarrays de *Arabidopsis thaliana* para el estudio de la
expresión genica de vides tratadas con ácido salicílico

Abril 1999 Dr. Sato. National Research Institute of Vegetables,
Ornamental Plants and Tea (NIVOT)

Análisis de *Lycopersicon chilensis* utilizando marcadores moleculares tipo
RAPD



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE

Certifico que conforme con la reglamentación de la universidad,

con fecha 25 DE AGOSTO DE 1997

según consta del expediente correspondiente, se otorgó el GRADO

ACADEMICO DE LICENCIADA EN BIOQUIMICA .-

a Doña GENEVIEVE ANGELIQUE MERABACHVILI CALONGE

Fue aprobado CON UN VOTO DE DISTINCION

MIGUEL VIVEROS VERGARA
PRO-SECRETARIO GENERAL
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE

Santiago, 18 de JUNIO de 19 98



**XXVI REUNION ANUAL
SOCIEDAD DE BIOQUIMICA
Y BIOLOGIA MOLECULAR DE
CHILE**

**23 - 26 de Septiembre de 2003
Valle Dorado
*CHILE***

ACTIVIDADES MMPásicas y TIMPs EN FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL DE PACIENTES CON PERIODONTITIS. (MMPase activities and TIMPs in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis) Pozo1,2 P., Gamonal3 J., Melej4 C., Chávez2 P., Collados1 L., Kettlun1 AM., Valenzuela1 MA. 1Depto Bioquímica y Biología Molecular, Fac Cs Quím y Farmacéuticas, U Chile; 2Centro de Biotecnología y Biología Molecular, U Antofagasta; 3Depto Odontología Conservadora, Fac Odontología, U Chile; 4Depto Odontología, Fac Cs Salud, U Antofagasta.

La periodontitis implica la destrucción de matriz extracelular (MEC) producida por periodontopatógenos, encontrándose en el fluido crevicular gingival (FCG) un aumento de citoquinas y de metaloproteinasas (MMPs). Las MMPs son secretadas hacia el FCG por los fibroblastos gingivales (MMP-2) y neutrófilo (MMP-8 y MMP-9). En condiciones fisiológicas estas MMPs se encuentran asociadas a sus inhibidores tisulares (TIMPs).

Los propósitos del presente trabajo fueron: 1) determinar actividades MMPásicas utilizando dos métodos: zimografía y fluorimétrico. El primero detecta la actividad gelatinolítica puesto que los geles de SDS/PAGE (en condiciones no reductoras) se polimerizan en presencia de gelatina lo que permite detectar las actividades de MMP-2 y MMP-9. El segundo mide la actividad MMPásica total utilizando un péptido fluorogénico que al ser hidrolizado aumenta su fluorescencia. 2) Además determinar las distintas formas de MMP-8 (immunowestern blot) y niveles relativos de TIMP-1 y -2 mediante análisis inmunológico.

Se encontró una mejor correlación entre la severidad de la enfermedad (profundidad de sitio) y la actividad MMPásica seguida por el método fluorimétrico, que con las mediciones de MMP-9 por zimografía. En los sitios de mayor severidad se encontró presente las formas de MMP-8 activadas (menor PM) y finalmente, TIMP-1 se encontró disminuido en los sitios de mayor profundidad, no variando los otros TIMPs.

Financiado por Proyecto Fondecyt 102 0100.

CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIO TRANSCRIPCIONAL DE PC-FET3, UN GEN DE *Phanerochaete chrysosporium* QUE CODIFICA PARA UNA OXIDASA MULTICOBRE INVOLUCRADA EN LA HOMEOSTASIS INTRACELULAR DE HIERRO. (Characterization and transcriptional study of *Pc-fe3*, a *Phanerochaete chrysosporium* gene encoding for a multicopper oxidase involved in intracellular iron homeostasis). Canessa P., Lamondo L. F. y Vicuña R. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile and Millenium Institute for Fundamental and Applied Biology.

El hierro es un elemento traza esencial, que en altos niveles se vuelve tóxico para la célula, de manera que mecanismos eficientes y controlados que regulen su captación, son fundamentales. En levaduras y otros ascomicetes se ha descrito la presencia de Fet3, una oxidasa multicobre unida a membrana que posee una fuerte actividad ferroxidasa. Fet3 cumple un papel esencial oxidando Fe(II) a Fe(III) para su subsecuente entrada a la célula a través de la permeasa Ftr1. Previamente hemos descrito en *P. chrysosporium* la existencia de Mco1, una oxidasa multicobre extracelular con una fuerte actividad ferroxidasa. Aunque Mco1 presenta características similares a las Fet3s, carece del dominio de transmembrana característico de este grupo. Con el fin de descartar la posibilidad que Mco1 codifique para el ortólogo de Fet3, buscamos en el genoma de *P. chrysosporium* la presencia de dicho gen, clonándose y secuenciándose *Pc-fe3*. Éste codifica para una proteína de 628 aa con una homología a otras Fet3s cercana al 40%. Al igual que todos los miembros de dicha familia, presenta un dominio de transmembrana localizado en el extremo C-terminal. *Pc-fe3* se encuentra a solo 0.8 kb del ortólogo del gen *ftr1*, cuyo cDNA fue también caracterizado. Estudios transcripcionales muestran que, al igual que lo descrito en otros sistemas, la expresión de *Pc-fe3* es fuertemente regulada por hierro. Esta constituye la primera descripción de secuencias para *fe3* y *ftr1* en basidiomicetes. Estudios actuales están concentrados en la caracterización fisiológica de *Pc-Fet3* así como a su interrelación transcripcional con *Pc-ftr1*. Este trabajo fue financiado por MIFAB y FONDECYT 2000076 y 1030495.

APOPTOSIS Y FERTILIDAD DE QUISTES HIDATÍDICOS DE *Echinococcus granulosus* (Apoptosis and fertility of *Echinococcus granulosus* hydatid cysts). Paredes, R., Jiménez, V. y Galanti, N. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La hidatidosis es una zoonosis causada por el estado larval (quiste hidatídico) de *Echinococcus granulosus* en hospederos intermediarios. Afecta a herbívoros y al hombre. Los quistes hidatídicos presentan una capa germinal interna que puede formar protoescolices, estado del parásito infectivo para hospederos definitivos, usualmente el perro (quistes fértiles). En algunos hospederos intermediarios, se encuentran quistes con capa germinal que no producen protoescolices (infértiles). No se conoce el mecanismo que induce la infertilidad de los quistes hidatídicos.

Por fraccionamiento subcelular y Western blot se ha detectado IgGs del hospedero en el núcleo de células de la capa germinal de los quistes. Mediante TUNEL, además de la observación de núcleos picnóticos y de cuerpos apoptóticos, se ha encontrado que la capa germinal de quistes infértiles presenta mayor número de células en apoptosis que la de quistes fértiles. Las células en apoptosis de quistes infértiles se encuentran distribuidas en parches.

Adicionalmente, se ha encontrado presencia de caspasa 3 activa en la capa germinal de quistes infértiles; esta forma de la enzima no se encuentra en capa germinal de quistes fértiles.

Se propone que en hospederos portadores de quistes infértiles se encuentra presente una subfamilia de IgGs con la propiedad de ingresar al núcleo de las células de la capa germinal de los quistes hidatídicos e inducir infertilidad por activación de apoptosis.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT N° 1010817 y SIDA/SAREC Network.

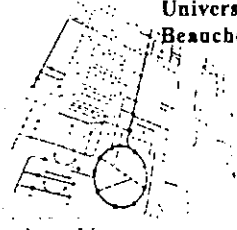
ESTUDIO DE LA EXPRESION DE GENES DE DEFENSA A ESTRES EN VIDES UTILIZANDO MICROARRAYS DE *Arabidopsis thaliana* (Stress defense gene expression in grapevines using *Arabidopsis thaliana* microarrays) Merabachvili G., Somerville S. y Holuique L. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. & Carnegie Institution of Washington, Department of Plant Biology, Stanford, California.

En diversas especies vegetales se ha descrito que el ácido salicílico (SA) es esencial para la activación de mecanismos de defensa a estrés, como la infección por patógenos. Gran parte de los estudios realizados para determinar el papel del SA en defensa se han realizado en plantas de tabaco y de *Arabidopsis thaliana*. En estas especies se ha descrito que el SA activa la transcripción de un grupo de genes de defensa, entre ellos genes con función destoxicante y antimicrobiana. Dentro del proyecto de genómica de vides que se está desarrollando en nuestro laboratorio, se busca identificar genes importantes para la defensa a estrés en esta especie. Para ello se desarrollaron ensayos de hibridación heteróloga de cDNA de vides contra micromatrices de *A. thaliana*. Se obtuvieron muestras de tejido foliar de plantas de *Vitis vinifera* var. *Camenère* tratadas por distintos tiempos con SA y agua como control. Se obtuvo cDNA de estas muestras y se hibridaron con micromatrices que contenían una colección de 15.500 cDNAs de *A. thaliana*. Los resultados obtenidos hasta la fecha nos han permitido determinar que en plantas de vides tratadas con SA se activa la expresión de genes relacionados con defensa a estrés.



2° Taller de Bioinformática: Avances en Chile

Jueves 16 y Viernes 17 de Octubre, 2003
Auditorio Gorbea
Fac. Ciencias Físicas y Matemáticas,
Universidad de Chile
Beauchef 850, Santiago



Comité Organizador

Dr. Juan Asenjo (Instituto Milenio, CBB, U. de Chile)

Dr. Ricardo Baeza-Yates (Núcleo Milenio, CIW, U. de Chile)

Dr. Mauricio González (INTA, U. de Chile)

Dr. Hernán Silva (Facultad de Ciencias, U. de Chile)

CYTED

email: genoma@uchile.cl

teléfono: 2-6787428

fax: 2-2717580

Análisis Weibster, Fermelo, Equihua

Estudio de la expresión de genes de defensa a estrés en vides utilizando microarrays de *Arabidopsis thaliana*.

Merabachvili, G., Somerville, S.[&], Holuigue, L.

Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. [&]Carnegie Institution of Washington, Department of Plant Biology, Stanford, California.

En diversas especies vegetales se ha descrito que el ácido salicílico (SA) es esencial para la activación de mecanismos de defensa a estrés, como la infección por patógenos. Gran parte de los estudios realizados para determinar el papel del SA en defensa se han realizado en plantas de tabaco y de *Arabidopsis thaliana*. En estas especies se ha descrito que el SA activa la transcripción de un grupo de genes de defensa, entre ellos genes con función destoxicante y antimicrobiana. Dentro del proyecto de genómica de vides que se está desarrollando en nuestro laboratorio, se busca identificar genes importantes para la defensa a estrés en esta especie. Para ello se desarrollaron ensayos de hibridación heteróloga de cDNA de vides contra micromatrices de *A. thaliana*. Se obtuvieron muestras de tejido foliar de plantas de *Vitis vinifera* var. Carmenère tratadas por distintos tiempos con SA y agua como control. Se obtuvo cDNA de estas muestras y se hibridaron con micromatrices que contenían una colección de 15.500 cDNAs de *A. thaliana*. Los resultados obtenidos hasta la fecha nos han permitido determinar que en plantas de vides tratadas con SA se activa la expresión de genes relacionados con defensa a estrés.

Mecanismos de defensa a estrés en plantas

Las plantas han logrado desarrollar complejos mecanismos de defensa que les permiten resistir condiciones ambientales estresantes como por ejemplo el ataque de patógenos, la irradiación por luz UV y exceso de ozono. Estos mecanismos de defensa involucran la participación de una serie de genes cuya expresión determina la supervivencia de la planta. Estas condiciones de estrés ambiental producen a nivel celular un desequilibrio en el estado redox, conocido como estrés oxidativo. Este desequilibrio ocurre fundamentalmente debido a un aumento importante en la producción de *especies reactivas de oxígeno* (ROS) (Grant y Loake, 2000)

El papel fundamental del ácido salicílico (SA) en el estrés celular ha sido caracterizado en mayor profundidad en la reacción de defensa inducida por patógenos (Durrer y cols., 1997). En esta reacción, el reconocimiento del patógeno por la planta gatilla la muerte de las células adyacentes al sitio de infección, lo que impide el movimiento del patógeno al resto de la planta y evita el desarrollo de la enfermedad (reacción hipersensible, HR). En la HR se producen altas concentraciones de SA, el que junto a las ROS, óxido nítrico y hormonas como jasmonato y etileno, son responsables de desencadenar la muerte celular (Grant y Loake, 2000). Además de esta respuesta local, se produce una respuesta sistémica que prepara a la planta para combatir un ataque posterior por el mismo u otro patógeno. Tal respuesta es conocida como *resistencia sistémica adquirida* (SAR) y se caracteriza por la expresión concertada de proteínas relacionadas con patogénesis (PR) y de genes con actividad antioxidante y destoxicante (Maleck y cols, 2000). Las proteínas PR tienen una acción directa contra el patógeno como por ejemplo quitinasas y glucanasas que destruyen la pared celular de hongos y bacterias.

El ácido salicílico y la activación de genes de defensa a estrés

Se ha descrito que en la reacción sistémica, el SA es crucial para activar la transcripción tanto de genes antimicrobianos como de genes antioxidantes y destoxicantes (Durrer y cols, 1997). Los genes que se activan por SA se pueden separar, de acuerdo a su cinética, en genes tempranos y en genes tardíos. Los genes tempranos, como glutatión-S-transferasa (*GST*) y

glucosil transferasa (*GT*), se inducen entre los 30 minutos y las 4 horas después del tratamiento con SA, mientras que los genes tardíos, como *PR-1*, se expresan a partir de las 24 h de tratamiento.

La activación de la transcripción de estos genes por SA obedece a la presencia de secuencias reguladoras en sus promotores capaces de responder a esta hormona. En este contexto se ha identificado un elemento de respuesta a SA denominado *as-1*, el que se encuentra presente en los promotores de genes de proteínas como *PR1*, *GST1* y *GST6*. Además de la secuencia *as-1*, existen otras secuencias como la *w-box* que está presente en los genes tardíos que responden a SA, por ejemplo *PR-1* y que tal vez pueda dar cuenta de la cinética de activación de estos genes. La secuencia *as-1* es reconocida por factores de transcripción del tipo TGA que poseen dominios básicos y bZIP (Pontier y cols, 2001), mientras que las *w-box* son reconocidas por factores tipo WRKY que poseen la secuencia aminoacídica WRKYGQK (Eulgem y cols, 2000).

En nuestro laboratorio nos hemos enfocado en el estudio de la vía de transducción de señales del SA que provoca la activación de genes antioxidantes y destoxicantes (como *GST*), especialmente aquellos que se activan en forma temprana. Como modelo de estudio se han utilizado plantas de tabaco y de *Arabidopsis thaliana*.

Arabidopsis thaliana como modelo para estudios de genómica funcional.

Una de las especies vegetales más usada como modelo de estudio es *Arabidopsis thaliana*, cuyo genoma ha sido totalmente secuenciado (The *Arabidopsis* Genome Initiative, 2000), teniendo la comunidad científica libre acceso a toda la información recopilada (www.arabidopsis.org/cgi-bin/patmatch/nph-patmatch.pl). Además, con la puesta en marcha del proyecto de genómica funcional, se han desarrollado micromatrices de DNA y bancos de mutantes de inserción, herramientas que permiten el análisis funcional de genes (*Arabidopsis* Functional Genomics Consortium, <http://afgc.stanford.edu>). Las micromatrices tienen como principal aplicación el comparar los niveles de expresión de una población de genes bajo dos condiciones o en dos tejidos distintos. Las micromatrices han sido utilizadas en el análisis comparativo de la expresión de genes frente a diversos estímulos (Chen, 2002, Maleck 2000, Raymond, 2001, Schenk, 2000). En estos experimentos, se comparan los niveles de expresión de un gran número de genes en las células tratadas versus las células controles, de manera de identificar aquellos genes que se activan o reprimen por el estímulo en estudio. Además, es posible obtener una secuencia de temporalidad de la inducción y represión en la transcripción después de un evento determinado como una respuesta de defensa gatillada por un agente infeccioso o una molécula de señalización. (www.gene-chips.com). Debido a la gran cantidad de genes estudiados simultáneamente, y a la cantidad de experimentos y réplicas, es posible identificar grupos de genes que pueden estar potencialmente involucrados en un mismo proceso biológico y cuya expresión se encuentra controlada por los mismos factores de transcripción.

Estudio de genómica funcional en vides

A pesar de que las vides son un cultivo de gran relevancia económica, existen escasos estudios sobre esta especie utilizando herramientas moleculares. Esto puede deberse a su heterocigosidad, su largo período de desarrollo y principalmente al desconocimiento de su genoma. Recientemente, se publicó el primer trabajo realizado en vides donde se aislaron ESTs de hojas y frutos. En este trabajo se secuenciaron cerca de 5000 EST encontrándose que el 72% presentaba homología con proteínas conocidas de plantas y que un 16% no presentaba homología con proteínas conocidas (Ablett, 2000). Además, también se encontró que existía una diferencia importante en la expresión de genes según el tejido analizado, ya que sólo un 12% de los EST se encontraban presentes tanto en hojas como en frutos.

En el proyecto de genómica de vides que se desarrolla en nuestro laboratorio, se busca identificar genes importantes para la defensa a estrés en esta especie. Para ello se desarrollaron ensayos de hibridación heteróloga de cDNA de vides contra micromatrices de *Arabidopsis*

thaliana. Este tipo de hibridaciones fueron realizadas anteriormente por Horvath y cols (2001), donde se pudo determinar que entre un 50% y un 70% de los genes presentes en *Arabidopsis* presentaban homología con los de avena y álamo respectivamente. Estos resultados apoyan la utilización de micromatrices de *Arabidopsis* como una buena herramienta para estudios de genómica funcional en otras especies de plantas.

Metodología

Tratamiento con SA y extracción de RNA.

Se utilizaron hojas de vides cultivares Carmenère y Cabernet Sauvignon que fueron infiltradas con SA 1mM por 3 minutos y luego se dejaron incubando en solución de SA por tiempos de 2,5 y 24 hrs. Los controles de los tratamientos se hicieron igual pero en agua. Las hojas tratadas se congelaron con Nitrógeno líquido y se guardaron a -80°C hasta la obtención del RNA. Para aislar el RNA de vid, se utilizó el protocolo de MacKenzie y cols. (1997) que se aplica para plantas leñosas como la vid. Con este protocolo, se hace la extracción de RNA utilizando el kit Plant RNeasy de Qiagen con un buffer modificado para la primera extracción. La cantidad de RNA obtenido se cuantificó por medio de espectrometría.

Preparación del cDNA de vides.

La síntesis y marcación del cDNA se hizo según el protocolo desarrollado por *Arabidopsis Functional Genomics Consortium* (AFGC, <http://afgc.stanford.edu>). En este protocolo, el primer paso consiste en sintetizar la primera hebra de cDNA, luego se hace la marcación y síntesis de la segunda hebra de DNA, en donde con el fluoróforo Cy3 se marcaron las muestras control, mientras que con Cy5 se marcaron las muestras tratadas con SA.

Hibridación y análisis de las micromatrices

Los cDNA de vides control y tratamiento con SA se hibridaron sobre las micromatrices de *Arabidopsis thaliana* que contenían 15.500 cDNA, según el protocolo de AFGC. Las imágenes de las micromatrices hibridadas fueron analizadas usando el programa GenePix Pro 4.0. Los análisis de expresión de los distintos genes de vides se hicieron usando la base de datos de microarrays de Stanford (SMD, <http://genome-www5.stanford.edu/MicroArray/SMD/index.shtml>).

Resultados

Antes de hacer la hibridación del RNA de vides control como tratado con SA 1mM con la micromatriz de *Arabidopsis*, es necesario realizar una serie de controles entre cada paso. El primer control es verificar la calidad del RNA extraído de vides, para esto se hace una reacción de transcripción reversa agregando junto con los dNTP's uno de los dos fluoróforos marcados. Con esto lo que se hace es correr un gel de agarosa con el producto de transcripción, el que se visualiza en Phosphoimager con el canal de fluorescencia correspondiente. Cuando el RNA es de buena calidad se espera encontrar una banda importante que contiene el fluoróforo incorporado. Luego de este paso, el segundo control se hace cuando ya se han marcado los RNA de vides con ambos fluoróforos. En nuestro caso, se usó el Cy3 para los RNA de las plantas controles y Cy5 para los RNA tratados con SA 1mM. Este paso tiene dos partes, uno es determinar el grado de incorporación del fluoróforo mediante absorbancia, y el otro es por visualización directa del cDNA en un gel de agarosa. Para determinar la incorporación del fluoróforo por espectrofotometría, se mide la absorbancia del cDNA a tres longitudes de onda, 260nm para cDNA, 550nm para Cy3 y 650nm para Cy5, y se saca una proporción para cada uno. Mientras mayor es el número que se obtiene, más efectiva fue la incorporación del fluoróforo en la hebra de cDNA. El segundo paso es igual al que se realiza al verificar la calidad del RNA extraído. Se

carga parte del cDNA en un gel de agarosa y se visualiza en un phosphoimager en ambos canales de fluorescencia.

Finalmente se hace la hibridación de ambos cDNA sobre la micromatriz de *Arabidopsis* y se obtiene la imagen de la hibridación utilizando un escáner con el láser respectivo para cada fluoróforo. Una vez que se obtiene la imagen es necesario verificar la calidad de los distintos puntos de hibridación o spots. Esto se hace utilizando el programa GenePix Pro, donde se eliminaron los spots saturados y los que no entregaban suficiente información o sólo eran falsas hibridaciones. Una vez que se hizo este paso, se obtuvieron los datos crudos de las micromatrices. Todos estos datos, tanto las imágenes obtenidas como los datos crudos de las micromatrices, fueron cargadas en la base de datos de microarrays de Stanford (SMD), donde se hicieron los análisis de expresión y se seleccionaron los genes que tenían un valor mayor al \log_2 R/G normalizado a 1,3. Utilizando este cutoff y partiendo de los 15500 EST de la slides se obtuvieron alrededor de 200 genes que presentaban diferencias de expresión, siendo la mayoría de ellos genes que se encontraban sobreexpresados respecto al control. Algunos de los genes encontrados y que estaban sobreexpresados son proteínas kinasas, putativas glutamil hidrolasas, putativos factores myb, putativos factores de unión a DNA, glutamato sintetasa, glutatión sintetasa, putativos factores tipo WRKY, EREB4, ACC oxidasa, participando muchos de ellos en respuesta a estrés en plantas. De los genes reprimidos encontrados la gran mayoría corresponde a genes putativos que todavía no tienen una función asignada.

Si comparamos estudios realizados anteriormente para *Arabidopsis thaliana* con distintos estímulos como estrés oxidativo e infecciones con patógenos o virus, encontramos que varios de los genes reportados se encuentran sobreexpresados también en vides, lo que estaría indicando que nuestro sistema de hibridación es eficiente y permite diferenciar correctamente genes propios de nuestro sistema estudiado. De todas formas, uno de los pasos siguientes es verificar esta información mediante ensayos de northern blot usando sondas específicas de vides de los genes previamente encontrados por micromatrices de *Arabidopsis*.

Conclusiones

Una de las conclusiones más importantes de este trabajo es que la hibridación heteróloga entre RNA de vides y micromatrices de *Arabidopsis* fue exitosa.

De los análisis de expresión de los genes de vides encontramos alrededor de 200 que presentaban un valor de \log_2 R/G mayor a 1.3. Dentro de los genes determinados la mayoría de ellos eran genes de vides que se sobreexpresaban por los tratamientos con SA y que tenían relación con respuesta a estrés en plantas.

Finalmente, de los genes que se sobreexpresaban, muchos de ellos ya se encontraban previamente reportados en estudios realizados en *Arabidopsis thaliana*, lo que respaldaría que este tipo de técnica permite estudiar diversas especies vegetales y que la información obtenida hasta este momento es válida.

Referencias.

- Ablett, E., Seaton, G., Scott, K., Shelton, D., Graham, M., Baverstock, P., Lee, S., Henry, R. (2000). Analysis of grape ESTs: global gene expression patterns in leaf and berry. *Plant Sci.*, 159:87-95.
- Chen, W., Provart, N., Glazebrook, J., Katagiri, F., Chang, H.S., Eulgem, T., Mauch, F., Luan, S., Zou, G., Whitham, S., Budworth, P., Tao, Y., Xie, Z., Chen, X., Lam, S., Kreps, J., Harper, J., Si-Ammour, A., Mauch-Mani, B., Heintze, M., Kobayashi, K., Hohn, T., Dangl, J., Wang, X., Zhu, T. (2002) Expression profile matrix of *Arabidopsis* transcription factor genes suggests their putative functions in response to environmental stresses. *Plant Cell*, 14:559-574.
- Durrer, J., Shah, J., Klessig, D.F. (1997) Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Sci.*, 2:266-274
- Eulgem, T., Rushton, P., Robatzek, S. and Somssich, I. (2000) The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci.*, 5: 199-206.
- Grant, J.J., Loake, G.J. (2000) Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiol.*, 124:21-29.
- Horvath, D., Schaffer, R., Wisman, E. (2001) Use of *Arabidopsis* microarrays for study of gene expression in other plant system. In 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, Madison, Wisconsin, 23-27 June, 2001.



ANEXO 2:
PAUTA DE ANTECEDENTES RESUMIDA DE POSTULANTE



Antecedentes Personales

Nombre Completo	Genevieve Merabachvili Calonge		
Rut			
Número de Pasaporte			
Fecha de Nacimiento			
Nacionalidad	Chilena		
Dirección Particular			
Fono Particular			
Fax Particular			
E-mail	gmerabac@bio.puc.cl		
Género	Masculino	<input type="checkbox"/>	Femenino <input checked="" type="checkbox"/>
Banco y Número de cuenta corriente para depósito de fondos correspondientes			
Nombre y Teléfono de la persona a quien avisar en caso de emergencia	Jose Miguel Torres		



Completar ambas secciones o sólo una de ellas, según corresponda

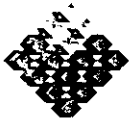
Actividad Profesional y/o Comercial (Actual)

Nombre de la Institución o Empresa a la que pertenece, RUT, tipo de Institución (pública o privada) dirección, fono, fax, e-mail, web, etc.	Pontificai Universida Catolica, RUT: 81.698.900-0 Institucion Publica, Alameda 340, F: 6862663, Fax: 2225515.
Cargo	Investigador, Jornada Completa.
Antigüedad	4 años
Resumen de las labores y responsabilidades a su cargo	Análisis de la expresión génica en vides tratadas con ácido salicílico utilizando microarrays. Se busca identificar genes que se activen con estrés oxidativo y que tengan relación con mecanismos de defensa en plantas
Otros antecedentes de interés	Este trabajo se inicia durante una estadía entre Abril y Junio del 2003 en el Carnegie Institution of Washington, en el laboratorio de la Dra Sauna Somerville, en la Universidad de Stanford, California, USA. En esta estadía se realizaron los experimentos de microarrays donde se aprendió la técnica y se comenzaron los primeros análisis estadísticos de los datos obtenidos. Parte de este trabajo se presento en Octubre del año pasado en el 2° taller de Bioinformática de Chile, así como en la XXVI Reunión Anual de la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile en Septiembre.

Actividad como agricultor (Actual)



Tipo de Agricultor (pequeño, mediano o grande)	
Nombre de la propiedad en la cual trabaja	
Cargo (dueño, administrador, etc.)	
Superficie Total y Superficie Regada	
Ubicación (detallada)	
Rubros a los que se dedica (incluir desde cuando se trabaja en cada rubro y niveles de producción en el rubro de interés)	
Resumen de sus actividades	
Nombre de la(s) Organización(es) a las que pertenece (campesinas, gremiales o empresariales) RUT de la organización y cargo, si lo ocupa.	
Descripción de la principal fuente de ingreso	



<p>Últimos cursos o actividades de formación en las que ha participado</p>	
--	--



ANEXO 3
**CARTA COMPROMISO DE PARTICIPACIÓN Y
APORTES DEL POSTULANTE**

Santiago, 13 de Mayo del 2004

Estimados Sres. FIA:

Mi nombre es Genevieve Merabachvili C. y les escribo esta carta en la cual me comprometo a mi participación en el **V Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología Vegetal**, que se realizará los días 21 y 25 de Junio en Republica Dominicana y que tiene como principal fin el poder difundir los avances científicos realizados en esta región.

Además, me comprometo a cumplir con los requisitos referidos en las bases de este concurso respecto a la difusión de las actividades realizadas durante el congreso, como también a aportar el dinero faltante para la participación en este congreso y que no sea aportado por esta institución.

Se despide atentamente,

Genevieve Merabachvili C.



ANEXO 4 COTIZACIONES



De: "Francisca Aguayo" <faguayo@cocha.com>  [Añadir a Libreta de contactos](#)

A: "Genevieve Merabachvili" <gmerabac@bio.puc.cl>

Asunto: Re: cotizacion de pasajes

Fecha: Wed, 12 May 2004 12:54:25 -0400

Hola:

Te mando la tarifa mas barata a Santo Domingo.

Boca Chica esta a 20 minutos del aeropuerto de Santo Domingo.

-Pasaje aereo Santiago/Panama/Santo Domingo/Panama/Santiago
con Copa Airlines en clase economica:

Usd 579 ida y vuelta en clase economica, minimo de estadia 5 dias,
maximo de 30 dias, no endosable, multa por cambios de
fecha y no permite devolucion.

+ tasas de embarque, seguridad y agencia.

Usd 107 tasas de embarque y seguridad + Usd 20 tasa de agencia.

Estas tarifas estan sujetas a cambios y disponibilidad.

Saludos
Francisca Aguayo
Cocha.



Costos Tentativos

El país tiene una de las mejores plataformas turísticas y de convenciones de toda Latinoamérica. En los últimos años, casi cada semana se celebran eventos regionales, muchos de ellos sin ningún vínculo con el país. Una de las razones es el increíble ambiente tanto en términos de clima, hospitalidad, calidad de servicio, seguridad y otras características de tipo logísticos. La otra razón, y tal vez la más importante, es el costo. Con el sistema de "todo-incluido" se ofrecen paquetes que incluyen alojamiento, comida, entretenimiento, playas e instalaciones de reuniones a precios sumamente bajos.

Para esta ocasión, para REDBIO 2004, el Hotel Hamaca Coral by Hilton, nos está ofreciendo increíbles paquetes para la reunión. Diferentes paquetes se han preparado para el alojamiento, alimentación, registro, actividades recreativas y en particular un paquete especial para acompañantes.

Tarifa y Costo de Alojamiento por Persona en el Hotel Costa Caribe Coral by Hilton

	Sencilla (1 Persona por Habitación/Día)	Doble (1 Persona por Habitación/Día)	Triple (1 Persona por Habitación/Día)
Adultos	75 US	65 US	55 US
Menor (2 a 12 Años)	-	30 US	30 US

Registro REDBIO 2004	150 US	Antes del 30 de Abril 2004
	175 US	Después del 30 de Abril 2004

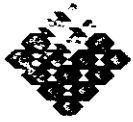
Después del 21 de mayo no se aceptarán más registros

**NOTA: EL HOTEL SEDE ES EL HAMACA CORAL BY HILTON -
(RESERVACIÓN COMPLETA - NO CUPO 3 DE MAYO 2004)**





ANEXO 5
**CARTAS DE COMPROMISO DE APORTES DE LA ENTIDAD
PATROCINANTE O DE TERCEROS**



ANEXO 6
PAGARÉ CON VENCIMIENTO A LA
VISTA FORMATO EJEMPLO
(Se presenta sólo si la propuesta es aprobada)



Propuesta:

PAGARE

\$.....Vencimiento "A LA VISTA" .

Pagaré a la "FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA" "FIA" o a quien sus derechos represente, "A LA VISTA" la suma de \$ (.....) (en letras) .

El pago lo efectuaré en Santiago, en el domicilio del FIA, Avda. Santa María 2120, Providencia, Santiago; antes de las 12 horas del día siguiente en que venza el requerimiento de pago.

Se deja constancia que esta obligación tiene el carácter de indivisible y su pago podrá ser exigido a mis herederos y/o legítimos sucesores.

Libero expresamente al tenedor del presente instrumento de la obligación de protesto. Si este se efectúa, me obligo a pagar los gastos e impuestos de esta diligencia.

Santiago, _____

Firma del aceptante o suscriptor

Nombre del Aceptante: _____

Domicilio: _____ RUT: _____

Nombre del Representante Legal: _____

Domicilio: _____ RUT: _____

"FIRMÓ ANTE MI":

.....

..... NOTARIO PÚBLICO

Este documento está afecto al Impuesto de Timbres y Estampillas que fija el Art. 15 N°2 del Decreto-Ley N°347.