



Código: INV_8.1 IZSP 02b	Página: 1 de 14
Fecha de Emisión: 03/02/2016	Fecha de Revisión: 15/02/2016
	Nº de Revisión: 1
Elaboró:	Coordinador de Investigación
Aprobó:	Secretario de Investigación y Posgrado

REGISTRO DE PROYECTOS DE INVESTIGACION



REGISTRO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO DE PROYECTO: IDENTIFICACIÓN DE FACTORES PAARACRINOS DEL OVOCITO INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE COMPETENCIA

Responsable: MARÍA EDUVIGES BURROLA BARRAZA Nivel: L () M () D (X)

FECHA DE ACEPTACIÓN	PERIODO DE VIGENCIA		
	Inicio	Término	
<u>21 / 12 / 2011</u>	<u>06 / 12 / 2012</u>	<u>31</u>	<u>12 / 2015</u>

Fuente de Financiamiento	Monto Aprobado
CONACYT – BASICA	\$ 1'399,900.00

Tipo de investigación	Investigación Básica (X)
	Investigación Aplicada ()
	Desarrollo Tecnológico / Experimental ()

LGAC: BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS

COLABORADOR:	DR. FELIPE ALONSO RODRÍGUEZ ALMEIDA
ACTIVIDADES A REALIZAR	Análisis Estadístico
COLABORADOR:	DR. JUAN ALBERTO GRADO AHUIR
ACTIVIDADES A REALIZAR	Fertilización <i>in vitro</i>
COLABORADOR:	DR. EVERARDO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
ACTIVIDADES A REALIZAR	Caracterización de los factores recombinantes
COLABORADOR:	DRA. BLANCA VERÓNICA MORENO BRITO
ACTIVIDADES A REALIZAR	Cultivo celular de las células 293FT Transfección celular de los factores recombinantes

PRODUCTORES PARTICIPANTES:

DESCRIPCIÓN:
Obtener ovocitos in vitro (IVM), por sus siglas en inglés), que sean competentes para fertilizarse, y originar un porcentaje superior al 50% de blastocitos viables, es uno de los principales problemas que existen en el desarrollo in vitro de embriones. En los sistemas bovinos, el 70 - 80% del total de ovocitos aislados se maduran en el proceso in vitro pasando a metafase II, sin embargo, la competencia que éstos obtienen para ser fertilizados es muy limitada, y sólo el 40% llegan a blastocitos que originarán a



un embrión viable. Aunque en los últimos cuatro años, los esfuerzos se han enfocado en crear nuevos protocolos de cultivo basados en factores de crecimientos y hormonas, aún no se ha logrado obtener un sistema que produzca ovocitos IVM competentes, para producir un porcentaje cercano al 80% de blastocitos como se obtiene en los sistemas in vivo. Hasta hace unos años el ovocito se percibía como una célula pasiva, receptiva sólo a las señales y nutrientes provenientes de las células granulosas. En la actualidad varias investigaciones demuestran que el ovocito juega un papel muy importante ya que controla su propio microambiente al promover su competencia. Ello se logra en las últimas fases de la foliculogénesis al estimular la diferenciación, crecimiento y desarrollo de las células granulosas. Durante la etapa antral, el ovocito secreta factores que actúan como señales paracrinas que promueven la diferenciación de las células granulosas hacia células cumulares, la cuales a su vez sintetizan nutrientes, requeridos por el ovocito para alcanzar su competencia. Estudios en ratón, bovino y porcino, demuestran que la acción de las señales paracrinas producidas por el ovocito, promueven de forma estable la estructura celular del complejo ovocito cumulus (COC), al mantener el fenotipo cumular e inhibir el proceso de luteinización. Además participan en el control del ciclo celular, al estimular en las células cumulares la expresión del gen *Ccnd2*, que codifica para la ciclina D2 y activa la mitosis. Tienen un efecto antiapoptótico, pues estimulan la expresión del gen *Bcl-2* en las células cumulares. Por último, bajo el estímulo de la hormona FSH, influyen en la expresión de genes como *HAS2*, *TNFAIP6*, *PTX*, *GREM1*, *Seprine* y *CD44*, entre otros, asociados con el proceso de expansión de las células cumulares, que permiten la organización de proteínas de la matriz extracelular momentos antes de la ovulación. Es claro que los factores secretados por el ovocito participan en el desarrollo de las células cumulares del folicular antral. Sin embargo, las características químicas de tales factores no se conocen del todo. Al respecto, en bovino y ratón se comprobó que las proteínas que codifican los genes *GDF9*, *BMP15* y *FGF8*, actúan como factores paracrinos sobre las células cumulares, al activar la vía metabólica de glucólisis y la síntesis de colesterol. El ovocito controla de forma directa la síntesis de colesterol y piruvato en las células granulosas al controlar su propia expresión de *GDF9*, *BMP15* y *FGF8*. En los sistemas bovinos de IVM de ovocitos, se tienen resultados muy interesantes que demuestran que al agregar al medio de cultivo del COC las proteínas recombinantes *GDF9*, *BMP15*, y *FGF8* aumenta hasta un 60% la producción de blastocitos, comparados con 40% que se obtiene en el cultivo tradicional. Ello indica que el uso de factores paracrinos de forma recombinante, mejora los protocolos de IVM de ovocitos, ya que se mimetiza in vitro el microambiente folicular desarrollado in vivo. Similar a las proteínas *GDF9*, *BMP15* y *FGF8*, existen una gran cantidad de factores paracrinos aún desconocidos, que le permiten al ovocito manipular su microambiente para su propio beneficio. De ahí que es importante identificar y caracterizar los tipos de factores que esta célula secreta; esclarecer cómo es que son reconocidos en las células cumulares; qué tipo de cascadas de señalización desatan; y qué tipo de genes se expresan en las células cumulares bajo este estímulo; para utilizarlos como factores recombinantes en la IVM de ovocitos. En el presente trabajo se pretende identificar factores secretados por el ovocito in vivo, requeridos in vitro para lograr una calidad y competencia idónea, que permita aumentar el porcentaje de blastocitos bovinos.

OBJETIVO:

Identificar y caracterizar factores paracrinos secretados por el ovocito, que mejoren la eficiencia del proceso IVM para lograr una competencia ideal que permita aumentar el porcentaje de blastocitos in vitro

TESIS APOYADAS: _____

NOMBRE DEL ALUMNO	NO. DE MATRÍCULA	NOMBRE DE LA TESIS

NOTA: FAVOR DE ANEXAR A ESTE FORMATO EL PROTOCOLO DEL PROYECTO ASÍ COMO COPIA DE LAS CARTAS COMPROMISO CON PRODUCTORES PARTICIPANTES



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

SISTEMA DE FONDOS

IMPRESIÓN DE SOLICITUD

Fondo: I0017

Convocatoria: CB-2011-01

Solicitud: 000000000168981

Modalidad: J3

Estado de Solicitud: Propuesta

Programa Institucional:

Datos Generales de la Propuesta	
Título:	Identificación de factores paracrinos del ovocito involucrados en el proceso de competencia
Registró en otra convocatoria:	S
Convocatoria:	CB-2009-01
Registro Nacional de Instituciones y Empresas:	Si
Número de RENIECyT:	051
Institución:	UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIHUAHUA
Demandas Específicas:	Dato requerido
Fecha de Alta:	28/08/2011 10:46:07
Fecha de Envío:	31/08/2011 03:59:17

Breve Descripción:

Este proyecto fue sometido con anterioridad, en la convocatoria CB-2009-01. De acuerdo al dictamen emitido, el proyecto estaba bien estructurado, con un buen manejo de la información y refiere a un aspecto reciente y relevante de la biología de la reproducción; además de contar con buena infraestructura para realizar Biología Molecular. Sin embargo, hace notar que el proponente no cuenta con publicaciones en el área. En aquel tiempo, dado que tengo poco de haber obtenido el grado de Doctor y de que soy un investigador joven que inicia con una línea de investigación, ciertamente no contaba con publicaciones en el área. Sin embargo, hoy por hoy, ese requisito ha sido ya cumplido, y presento publicaciones que avalan mis conocimientos en el área. Razón por la cual someto de nuevo la propuesta para que sea evaluada. Obtener ovocitos madurados in vitro (IVM, por sus siglas en inglés), que sean competentes para fertilizarse, y originar un porcentaje superior al 50% de blastocitos viables, es uno de los principales problemas que existen en el desarrollo in vitro de embriones. En los sistemas bovinos, el 70-80% del total de ovocitos aislados se maduran en el proceso in vitro pasando a metafase II, sin embargo, la competencia que éstos obtienen para ser fertilizados es muy limitada, y sólo el 40% llegan a blastocitos que originarán a un embrión viable. Aunque en los últimos cuatros años, los esfuerzos se han enfocado en crear nuevos protocolos de cultivo basados en factores de crecimientos y hormonas, aún no se ha logrado obtener un sistema que produzca ovocitos IVM competentes, para producir un porcentaje cercano al 80% de blastocitos como se obtiene en los sistemas in vivo. Hasta hace unos años el ovocito se percibía como una célula pasiva, receptiva sólo a las señales y nutrientes provenientes de las células granulosas. En la actualidad varias investigaciones demuestran que el ovocito juega un papel muy importante ya que controla su propio microambiente al promover su competencia. Ello se logra en las últimas fases de la foliculogénesis al estimular la diferenciación, crecimiento y desarrollo de las células granulosas. Durante la etapa antral, el ovocito secreta factores que actúan como señales paracrinas que promueven la diferenciación de las células granulosas hacia células cumulares, la cuales a su vez sintetizan nutrientes, requeridos por el ovocito para alcanzar su competencia. Estudios en ratón, bovino y porcino, demuestran que la acción de las señales paracrinas producidas por el ovocito, promueven de forma estable la estructura celular del complejo ovocito cumulus (COC), al mantener el fenotipo cumular e inhibir el proceso de luteinización. Además participan en el control del ciclo celular, al estimular en las células cumulares la expresión del gen *Ccdn2*, que codifica para la ciclina D2 y activa la mitosis. Tienen un efecto antiapoptótico, pues estimulan la expresión del gen *Bcl-2* en las células cumulares. Por último, bajo el estímulo de la hormona FSH, influyen en la expresión de genes como *HAS2*, *TNFAIP6*, *PTX*, *GREM1*, *Seprine* y *CD44*, entre otros, asociados con el proceso de expansión de las células cumulares, que permiten la organización de proteínas de la matriz extracelular momentos antes de la ovulación. Es claro que los factores secretados por el ovocito participan en el desarrollo de las células cumulares del folicular antral. Sin embargo, las características químicas de tales factores no se conocen del todo. Al respecto, en bovino y ratón se comprobó que las proteínas que codifican los genes *GDF9*, *BMP15* y *FGF8*, actúan como factores paracrinos sobre las células cumulares, al activar la vía metabólica de glucólisis y la síntesis de colesterol. El ovocito controla de forma directa la síntesis de colesterol y piruvato en las células granulosas al controlar su propia expresión de *GDF9*, *BMP15* y *FGF8*. En los sistemas bovinos de IVM de ovocitos, se tienen resultados muy interesantes que demuestran que al agregar al medio de cultivo del COC las proteínas recombinantes *GDF9*, *BMP15*, y *FGF8* aumenta hasta un 60% la producción de blastocitos, comparados con 40% que se obtiene en el cultivo tradicional. Ello indica que el uso de factores paracrinos de forma recombinante, mejora los protocolos de



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

IVM de ovocitos, ya que se mimetiza in vitro el microambiente folicular desarrollado in vivo. Similar a las proteínas GDF9, BMP15 y FGF8, existen una gran cantidad de factores paracrinós aún desconocidos, que le permiten al ovocito manipular su microambiente para su propio beneficio. De ahí que es importante identificar y caracterizar los tipos de factores que esta célula secreta; esclarecer cómo es que son reconocidos en la células cumulares; qué tipo de cascadas de señalización desatan; y qué tipo de genes se expresan en las células cumulares bajo este estímulo; para utilizarlos como factores recombinantes en la IVM de ovocitos. En el presente trabajo se pretende identificar factores secretados por el ovocito in vivo, requeridos in vitro para lograr una calidad y competencia idónea, que permita aumentar el porcentaje de blastocitos bovinos.

Objetivo General:

Identificar y caracterizar factores paracrinós secretados por el ovocito, que mejoren la eficiencia del proceso IVM para lograr una competencia ideal que permita aumentar el porcentaje de blastocitos in vitro

Resultados Esperados:

Publicación de artículos originales en revistas científicas con arbitraje estricto: Se publicarán dos artículos originales en revistas científicas arbitradas e indexadas en el ISI. Graduados de doctorado, maestría y licenciatura: Se graduarán tres alumnos: uno de doctorado, uno maestría y uno de licenciatura. Presentación de trabajos arbitrados en Congresos Científicos de reconocido prestigio: 1. Congreso Nacional de Genética 2013, organizado por la Sociedad Mexicana de Genética, A.C. 2. Congreso Internacional "47rd Annual Meeting of the Society for the Study of Reproducción" en el 2014, organizado por la Society for the Study of Reproduction (SSR). Registro de Patentes: En caso de que las proteínas recombinantes evaluadas, aumenten el porcentaje de blastocitos in vitro, se patentarán por lo menos dos proteínas recombinantes ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI).

Periodo de Ejecución (meses):	36
Palabras Clave:	-Factores Paracrinós -Ovocito -IVM

Responsables de la Propuesta

DATOS DEL RESPONSABLE ADMINISTRATIVO

Nombre:	JAVIER
Apellido Paterno:	MARTINEZ
Apellido Materno:	NEVAREZ
Adscripción:	Dato requerido
Cargo:	Dato requerido
Calle:	SEGOVIA NO. 6402
Número Exterior:	Dato requerido
Número Interior:	Dato requerido
Código Postal:	31207
Colonia:	PUERTA DE HIERRO II
Ciudad:	CHIHUAHUA
Estado:	CHIH
Delegación:	CHIHUAHUA
Teléfono:	614.4340344
Extensión:	Dato requerido
Fax:	Dato requerido
e-mail:	jamarnev@uach.mx

DATOS DEL RESPONSABLE TÉCNICO

Nombre:	MARIA EDUVIGES
Apellido Paterno:	BURROLA
Apellido Materno:	BARRAZA
Calle:	Barriol
Número Exterior:	0
Número Interior:	Dato requerido



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

Código Postal:	31207
Colonia:	CERRADA VISTA REAL
Ciudad:	CHIHUAHUA
Estado:	CHIH
Delegación:	CHIHUAHUA
Teléfono:	614.4340304
Extensión:	119
Fax:	Dato requerido
e-mail:	burrolav@yahoo.com.mx
Pertenece al SNI:	SI
Nivel de SNI:	Candidato
Edad:	35
Grado de estudios:	Doctorado
DATOS DEL RESPONSABLE LEGAL	
Nombre:	JESUS ENRIQUE
Apellido Paterno:	SEANEZ
Apellido Materno:	SAENZ
Calle:	ESCORZA
Número Exterior:	0
Número Interior:	Dato requerido
Código Postal:	31000
Colonia:	CENTRO
Ciudad:	CHIHUAHUA
Estado:	CHIH
Delegación:	CHIHUAHUA
Teléfono:	614.4391516.
Extensión:	Dato requerido
Fax:	Dato requerido
e-mail:	rectoria@uach.mx
Grupo de Trabajo	
Secuencia:	1
Nombre:	Alberto
Apellido Paterno:	Grado
Apellido Materno:	Ahair
Nivel Académico:	Participante Doctorado
Campo de Conocimiento:	310000 - CIENCIAS AGRONOMICAS Y VETERINARIAS
Disciplina:	310400 - CIENCIAS VETERINARIAS
Subdisciplina:	310411 - REPRODUCCION
Especialidad:	Reproducción Animal y Biotecnología
Institución:	Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua
Pertenece al SNI:	SI
Nivel SNI:	Candidato
Producto que generará:	Bajo el estímulo de los factores recombinantes en el medio de cultivo celular, obtendrá ovocitos IVM para fertilizarlos y contabilizar el porcentaje de blastocitos producidos, junto con el análisis de la expresión de genes cumulares.
Información Relevante:	El Dr. Grado tiene amplio conocimiento en el uso y manejo de los sistemas de cultivo para generar embriones in vitro; y en en los protocolos de sincronización en bovinos, así como en el manejo del ultrasonido requerido para aspirar folículos



01/07/13

FONDOS CONACyT - Impresión de Solicitud

Actividades Específicas:	Estará a cargo de todo el protocolo de IVM de ovocitos, así como de la obtención de las células cumulares y del proceso de fertilización in vitro. Participará en la sincronización de los bovinos, y la aspiración de los folículos estimulados con FSH. Generará el modelo estadístico para el análisis de la expresión genética de los genes estimulados por los factores recombinantes en las células cumulares.
Secuencia:	2
Nombre:	Everardo
Apellido Paterno:	González
Apellido Materno:	Rodríguez
Nivel Académico:	Participante Doctorado
Campo de Conocimiento:	310000 - CIENCIAS AGRONOMICAS Y VETERINARIAS
Disciplina:	310900 - CIENCIAS VETERINARIAS
Subdisciplina:	310902 - GENETICA
Especialidad:	Genética Molecular
Institución:	Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua
Pertenece al SNI:	NO
Producto que generará:	La genoteca SSH de ovocitos madurados in vivo.
Información Relevante:	El Dr. Everardo tiene amplia experiencia en el campo de la genética molecular, por lo que su conocimiento sera de suma importancia para obtener la genoteca SSH que contenga los genes de ovocitos madurados in vivo que no se encuentra in vitro
Actividades Específicas:	Participará en el desarrollo de la plataforma de clonación para crear la genoteca SSH y en el análisis de las secuencias obtenidas de dicha genoteca.
Secuencia:	3
Nombre:	Blanca
Apellido Paterno:	Sánchez
Apellido Materno:	Ramírez
Nivel Académico:	Participante Doctorado
Campo de Conocimiento:	240000 - CIENCIAS DE LA VIDA
Disciplina:	240700 - BIOLOGIA CELULAR
Subdisciplina:	240799 - OTROS
Especialidad:	Biología Celular
Institución:	Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua
Pertenece al SNI:	SI
Nivel SNI:	Nivel 1
Producto que generará:	Obtendrá la caracterización por peso molecular de las proteínas recombinantes aisladas
Información Relevante:	Su línea de investigación está relacionada con identificación de receptores placentarios. Toda su experiencia será muy útil para caracterizar las proteínas paracrinas en base al peso molecular y para identificar receptores en células cumulares
Actividades Específicas:	Purificación de las proteínas recombinantes por cromatografía de afinidad e identificación del peso molecular a través de ensayos de western blot
Secuencia:	4
Nombre:	Verónica
Apellido Paterno:	Moreno
Apellido Materno:	Brito
Nivel Académico:	Participante Doctorado
Campo de Conocimiento:	320000 - MEDICINA Y PATOLOGIA HUMANA
Disciplina:	321600 - BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA
Subdisciplina:	0 -
Especialidad:	Dato requerido
Institución:	Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Chihuahua
Pertenece al SNI:	NO
Producto que generará:	En células 293F generará líneas transgénicas que expresen de forma constitutiva factores recombinantes



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

Información Relevante:	Amplio dominio el área de transgénesis celular in vitro. Su experiencia será de gran utilidad para transfectar los genes de los factores recombinantes en las células 293FT, para después producir estos factores como proteínas recombinante
Actividades Específicas:	Participará en el establecimiento de la línea celular 293F para realizar las transfecciones transitorias de los factores recombinantes a través de lipofectamina.
Secuencia:	5
Nombre:	Dato requerido
Apellido Paterno:	Dato requerido
Apellido Materno:	Dato requerido
Nivel Académico:	Participante Licenciatura
Campo de Conocimiento:	310000 - CIENCIAS AGRONOMICAS Y VETERINARIAS
Disciplina:	310400 - CIENCIAS VETERINARIAS
Subdisciplina:	310416 - ZOOTECNIA GENERAL
Especialidad:	Dato requerido
Institución:	Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua
Pertenece al SNI:	Dato requerido
Producto que generará:	1 Tesis de Licenciatura
Información Relevante:	El alumno se encontrará cursando la carrera de Ing. Zootecnista y Sistemas de Producción en la Facultad de Zootecnia y Ecología. Habrá cursado el 75% de los créditos requeridos para obtener el grado de Ingeniero, con un promedio mínimo de 8.0
Actividades Específicas:	Su trabajo de investigación estará centrado, en realizar el análisis en diferentes tejidos, hígado, riñón, corazón, ovario, etc., de la expresión genética de por lo menos cinco genes aislados de la genoteca. Realizará extracción de RNA total de tejido, síntesis de cDNA y RT-PCR por tiempo real.
Secuencia:	6
Nombre:	Bertha
Apellido Paterno:	Pereda
Apellido Materno:	Espinoza
Nivel Académico:	Estudiante de Maestría
Campo de Conocimiento:	310000 - CIENCIAS AGRONOMICAS Y VETERINARIAS
Disciplina:	310400 - CIENCIAS VETERINARIAS
Subdisciplina:	310411 - REPRODUCCION
Especialidad:	Dato requerido
Institución:	Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH
Pertenece al SNI:	NO
Producto que generará:	1.Tesis de Maestría. 2. Presentación de sus resultados en el congreso Nacional de Genética. 3. Publicación de un artículo indexado en el ISI.
Información Relevante:	La alumna pertenece al programa de maestría en ciencias en Reproducción Animal con área de mayor de genética molecular, de la Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH.
Actividades Específicas:	Participará en la maduración in vitro de los ovocitos, colaborará en la construcción de la genoteca sustractiva, analizará la expresión genética en diferentes tejidos de por lo menos 10 genes y analizará secuencias obtenidas de la genoteca. Aplicará protocolos de cultivo celular, extracción de RNA, síntesis de cDNA, manejo de Software CLC bio.
Secuencia:	7
Nombre:	Dato requerido
Apellido Paterno:	Dato requerido
Apellido Materno:	Dato requerido
Nivel Académico:	Participante Doctorado
Campo de Conocimiento:	310000 - CIENCIAS AGRONOMICAS Y VETERINARIAS
Disciplina:	310400 - CIENCIAS VETERINARIAS
Subdisciplina:	310411 - REPRODUCCION
Especialidad:	Dato requerido
Institución:	Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH



01/07/13

FONDOS CONACyT - Impresión de Solicitud

Pertenece al SNI:	Dato requerido
Producto que generará:	1.Tesis Doctoral. 2. Presentación de sus resultados en el congreso "46rd Annual Meeting of the Society of Reproduction". 3.Publicación de dos artículos indexados en el ISI.
Información Relevante:	El estudiante de Doctorado pertenecerá al programa de doctorado de Reproducción Animal con área mayor en Reproducción y Genética Animal, de la Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH.
Actividades Específicas:	Realizará los protocolos de maduración in vivo de los ovocitos, sincronización y aspiración folicular. Generará la genoteca por hibridación sustractiva por supresión (SHH). Analizará secuencias de la genoteca. Subclonará genes candidatos en vector de expresión acoplado a hisdinas. Purificará por al menos 5 proteínas recombinantes. Evaluará la acción de las proteínas recombinantes, como estímulo para la expresión de genes cumurales. Evaluará la acción de las proteínas recombinantes en la producción de blastocitos in vitro.
Permisos	
¿Experimenta con animales?	S
¿Experimenta con humanos?	N
¿Experimenta con materiales radioactivos?	N
¿Cuenta con los requisitos básicos de bioseguridad?	S
Cronograma de Actividades	
Presupuesto Solicitado	
Número de Etapa:	001
Descripción:	Etapa I
Duración (meses):	12
Descripción de la Etapa:	IDENTIFICACIÓN DE GENES CANDIDATOS QUE CODIFIQUEN PARA FACTORES PARACRINOS DE OVOCITOS MADURADOS IN VIVO. Los factores paracrinicos se identificarán mediante genómica molecular con la construcción de una genoteca que contenga sólo los genes expresados en ovocitos madurados in vivo y que no están presentes en los madurados in vitro. Para ello se utilizará una hibridación sustractiva por supresión de cDNAs provenientes de ovocitos madurados in vivo contra los madurados in vitro. Dichos genes se secuenciarán y se caracterizará su expresión a partir de diversos tejidos, para elegir aquellos específicos del ovocito y producir proteínas recombinantes.
Descripción de la Meta:	Obtener una genoteca representativa de los genes que estan expresados en la maduración in vivo y que no están presentes en IVM. Por menos mandar 400 clonas a secuenciar y realizar su análisis con el software bioinformático CLC Bio
Descripción de la Actividad:	Para obtener ovocitos madurados in vivo, se sincronizarán vacas con hormonas GnRH y FSH, y los folículos se aspirarán utilizando un ultrasonido. El líquido aspirado se transportará al laboratorio donde se elegirán Complejos Ovocitos Cumulus (COC), y de estos a su vez se extraerá RNA total. Para generar ovocitos madurados in vivo, se utilizarán ovarios de vacas sacrificadas en el rastro, de los cuales se obtendrán complejos ovocitos cumulus para obtener ovocitos que serán madurados in vitro(IVM). Una vez madurados, se les extraerá RNA total. La genoteca se realizará por medios de hibridación sustractiva por supresión (SHH). El cDNA de ovocitos madurados in vivo se utilizará como testigo, y como problema el cDNA de ovocitos IVM. Ambos cDNAs se hibradarán y los cDNAs que queden sin hibridar se clonarán por medio del "kit super Smat PCR cDNA syntesis" (Clontech). Las clonas resultantes se secuenciarán y se analizarán con el software bioinformático CLC Bio. Una vez que se tengan genes candidatos, se diseñarán oligonucleótidos específicos y se evaluará su expresión en distintos tejidos (pulmón, corazón, testículo, ovario, bazo, etc) y en células cumulares y ovocitos. Se eligiran aquellos que



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

	sólo tengan expresión en ovocito.
Productos de la Etapa:	Genoteca de genes expresados en ovocitos madurados in vivos, requeridos para la maduración in vitro. Aislamiento de genes candidatos a participar como factores paracrinicos recombinantes en la IVM de ovocitos.
Número de Etapa:	002
Descripción:	Etapa II
Duración (meses):	12
Descripción de la Etapa:	OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE FACTORES PARACRINOS RECOMBINANTES. Los genes específicos de ovocitos, que se obtuvieron por medio del análisis de la genoteca, corresponde a genes que son expresados cuando el ovocito madura in vivo, pero que no están expresados en durante la maduración in vitro. De forma que estos genes serán candidatos a participar en el proceso de competencia del ovocito, y por lo tanto hacen falta estén presente en la maduración in vitro. Para demostrar que estos genes candidatos se requieren estos procesos, es necesario obtenerlos de forma recombinante. Obtenida la secuencia del gen, se subclonará en un vector de expresión que tenga acoplado una cola de histidina y se transfectará en células 293F. Al momento en que el gen se exprese, lo hará con seis residuos extras hacia su carboxilo terminal. Ello servira para poder purificarlos del medio celular, utilizando una membrana de niquel que captará a las histidinas.
Descripción de la Meta:	Purificar factores recombinantes de un sistema de transfección transitoria en células 293F, para evaluar su acción como señal paracrina en ovocitos IVM.
Descripción de la Actividad:	Una vez con los genes candidatos expresados de manera exclusiva en el ovocito, se clonarán en un vector de expresión acoplado a histidina. Este vector se transfectará en células 293F mediante lipofectamina de forma transitoria. Las células 293F transfectadas serán capaces de producir las factores recombinantes cuyo extremo carboxilo tendrá seis residuos de histidinas que servirán para purificarlas del medio celular, a través de cromatografía de afinidad utilizando una resina de niquel. Una vez purificadas, se procederá a realizar ensayos de Western blot utilizando un anticuerpo anti hisdinas. Con esto se podrá saber el peso molecular del factor purificado.
Productos de la Etapa:	1. Factores recombinantes purificados y caracterizados en peso molecular. 2. Formación de recurso humano: Titulación de un alumno de licenciatura. 3. Presentación de los resultados del análisis de la genoteca en el Congreso Nacional de Genética.
Número de Etapa:	003
Descripción:	Etapa III
Duración (meses):	12
Descripción de la Etapa:	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS FACTORES PARACRINOS RECOMBINANTES SOBRE CÉLULAS CUMULARES Y OVOCITOS IVM. Para determinar si los factores paracrinicos recombinantes purificados, participan como señales paracrinicas sobre la maduración del ovocito, es necesario evaluar si pueden activar la expresión de genes específicos de las células cumulares. Además, para evaluar su efecto sobre la maduración del ovocito, deberán adicionarse en el medio y se tendrá que evaluar su efecto como suplemento del mediocultivo en el porcentaje de blastocitos obtenidos
Descripción de la Meta:	Evaluar el efecto de los factores paracrinicos recombinantes sobre células cumulares y ovocitos madurados in vitro, para aumentar el porcentaje a 70% de blastocitos obtenidos in vitro por medio del suplemento del medio de cultivo con factores recombinantes
Descripción de la Actividad:	Para evaluar la acción de los factores recombinantes sobre la células cumulares. Los complejos ovocito cúmulus se pondra en medio de cultivo de maduración suplementado con diferentes concentraciones de los factores recombinantes. Luego, las células cumulares se aislarán y se someterán a extracción de RNA total. Una vez sintetizado el cDNA se procederá a amplificar los genes HAS2, INHBA, EGFR, GREM1, BTC, CD44, TNFAIP6, PTGS2, Ccnd2 y Serpine, que son específicos de células cumulares y cuya expresión esta relacionada con la maduración del ovocito. Para medir la acción de los factores recombinantes. Se maduran in vitro ovocitos, en medio de cultivo de maduración suplementado con diferentes concentraciones de los factores de recombinación. Después, estos ovocitos se fertilizarán y se evaluara el porcentaje de producción de blastocitos
Productos de la Etapa:	1. Análisis de la expresión de genes cumulares relacionados con la maduración del ovocito. 2. Identificación de factores recombinantes como suplementos en la producción de blastocitos. 3. Aumento en la producción del 70% de blastocitos obtenidos. 4. Desarrollo de patentes de los factores recombinantes que aunmente el porcentaje de blastocitos. 5. Formación de recurso humano: Titulación de un alumno de maestría y uno de doctorado 6. Publicación de dos artículos científicos indexados en el ISI. 7. Presentación de los resultados en un congreso Internacional



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

Desglose Financiero Propuesta

Presupuesto Solicitado

Etapa	Periodo	Tipo de Aportación	Tipo de Gasto	Rubro	Importe
001	001	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Materiales de uso directo	\$ 213,000.00
<p>Justificación: Para obtener ovocitos madurados in vivo, se superovularán vacas con hormonas GnRH y FSH por un periodo de cuatro meses. Para esto, se necesitará la compra de las hormonas antes mencionadas, así como la compra de alimento balanceado para el mantenimiento de los animales. Así mismo, al momento de realizar la aspiración de los folículos maduros, es necesario material desechable como guantes, cubrebocas, agujas para aspiración. En el proceso de maduración in vitro de ovocitos se requerirán medios y reactivos para IVM (Medio CDM, FAF-BSA, FSH, EGF, cistemina, entre otros). También se necesitarán la compra de CO2 para la incubadoras En la extracción de RNA y síntesis de cDNA se va a requerir: kit de extracción de RNA "picopure", "kit super smart PCR cDNA sythesis", columnas Cromasping 1000, "kit nucleo trap PCR kit", etc. Para la construcción de la genoteca, se requiere comprar la plataforma: "PCR select subtration kit" y el "Topo TA Cloning" En todos estos procedimientos será necesario utilizar una gran cantidad de puntillas, microtubos, guantes, cubrebocas, pipetas serológicas estériles, cajas de cultivo celular, cajas petri, microfiltros, unidades de filtración, matraces, frascos de vidrio, probetas, etc.</p>					
001	001	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Software Especializado	\$ 80,000.00
<p>Justificación: Ya que uno de los resultados entregables es la Patente de los factores recombinantes, que aumente el porcentaje de blastocitos in vitro, requerimos utilizar el Software bioinformático CLC Bio. Este software nos permitirá analizar las secuencias de los genes candidatos, de forma segura y confiable, sin exponernos al robo de las mismas, como podría suceder al utilizar softwares públicos.</p>					
001	001	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Apoyo formación Rec. Humanos	\$ 13,800.00
<p>Justificación: Se solicita el pago de beca para un alumno de licenciatura, quien esté cursando la carrera de Ing. Zootecnista en Sistemas de Producción en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la UACH. El alumno realizará tesis de licenciatura. Su trabajo estará enfocado al análisis en diversos tejidos, hígado, riñón, corazón, páncreas, ovario, etc., de la expresión genética de 5 genes candidatos, para expresar factores paracrinos secretados por el ovocito. El monto del pago estará de acuerdo a lo estipulado en el Manual para la Administración de Proyectos (CONACYT). Se pagarán dos salarios mínimos del D.F., es decir \$3450.00 al mes.</p>					
001	001	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Seres vivos	\$ 35,000.00
<p>Justificación: Los ovocitos madurados serán obtenidos de vacas vivas superovuladas. Tomando en cuenta que en cada superovulación por animal se pueden obtener de 5 ovocitos. En un mes se pueden realizar tres superovulaciones. Por lo tanto, se obtendrán 15 ovocitos/animal/mes. Para el desarrollo de la genoteca se necesitarán 200 ovocitos. Así que se requerirán 5 animales, los cuales se superovularan durante un periodo de cuatro meses. Ello implicará la compra de dichos animales y su mantenimiento en las unidades pecuarias de la Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH</p>					
001	001	SOLICITADAS AL FONDO	INVERSION	Equipo de laboratorio	\$ 520,000.00
<p>Justificación: La incubadora con agitación se precisa para los cultivos bacterianos de las clonas obtenidas en la genoteca. Ya que son mucha las clonas que se procesarán (aproximadamente 600), se necesitará de un sistema rápido y controlado. La microcentrifuga refrigerada se necesitará en los protocolos de extracción de RNA total, para centrifugar a velocidades muy altas (16,000 rpm) en una temperatura de 4 grados centígrados. Debido al número de clonas que se manejarán, se requerirá de cámaras de electroforesis que permitan evaluar el DNA plasmídico que se obtenga de las diversas clonas. Las cámaras también se necesitarán en los experimentos que se realizarán para evaluar la expresión de los genes específicos de las células cumulares. En congruencia con lo anterior, dado que es mucho el material que almacenará cuatro y menos veinte grados centígrados, se necesitará de un congelador y un refrigerador. Si bien, el laboratorio cuenta con el microscopio invertido Axiovert 40 CFL, no cuenta con los accesorios adecuados para manipular de forma adecuada las cajas de cultivo celular.</p>					
001	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Serv. externos esp. a 3ros Nac	\$ 60,000.00
<p>Justificación: Ya que no se cuenta con el equipo, ni el personal calificado, se requerirá mandar secuenciar el DNA plasmídico de las clonas procedentes de la genoteca. Aproximadamente 200 clonas se mandarán a secuenciar en el segundo periodo de la Etapa I, es decir, en los meses de octubre-diciembre del 2012</p>					
001	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Apoyo formación Rec. Humanos	\$ 13,800.00
<p>Justificación: Se solicita el pago de beca para un alumno de licenciatura, quien esté cursando la carrera de Ing. Zootecnista en Sistemas de Producción en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la UACH. El alumno realizará tesis de licenciatura. Su trabajo estará enfocado al análisis en diversos tejidos, hígado, riñón, corazón, páncreas, ovario, etc., de la expresión genética de 5 genes candidatos, para expresar factores paracrinos secretados por el ovocito. El monto del pago estará de acuerdo a lo estipulado en el Manual para la Administración de Proyectos (CONACYT). Se pagarán dos salarios mínimos del D.F., es decir \$3450.00 al mes</p>					
001	003	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Serv. externos esp. a 3ros Nac	\$ 60,000.00
<p>Justificación: Ya que no contamos con el equipo, ni el personal calificado, requerimos mandar secuenciar el DNA plasmídico de las clonas procedentes de la genoteca. Aproximadamente 300 clonas se mandaran a secuenciar en el tercer periodo de la</p>					



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

Etapa I, es decir, en los meses de octubre-diciembre del 2012					
001	003	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Apoyo formación Rec. Humanos	\$ 13,800.00
Justificación: Se solicita el pago de beca para un alumno de licenciatura, quien esté cursando la carrera de Ing. Zootecnista en Sistemas de Producción en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la UACH. El alumno realizará tesis de licenciatura. Su trabajo estará enfocado al análisis en diversos tejidos, hígado, riñón, corazón, páncreas, ovario, etc., de la expresión genética de 5 genes candidatos, para expresar factores paracrinicos secretados por el ovocito. El monto del pago estará de acuerdo a lo estipulado en el Manual para la Administración de Proyectos (CONACYT). Se pagarán dos salarios mínimos del D.F., es decir \$3450.00 al mes					
002	001	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Materiales de uso directo	\$ 93,000.00
Justificación: Durante el primer periodo de la Etapa II, se subclonarán los genes candidatos a ser factores paracrinicos. Para lo cual se requerirá de un sistema de clonación en un vector de expresión acoplado a residuos de histidina. Una vez que se clone al gen candidato en el vector de transfección, se necesitará transfectarlo en las células 293F, para cual se requerirán medios de cultivo celular DMEM, lipofectamina, aminoácidos, ácido piruvico, penicilina-estreptomicina, etc. Durante todo el proceso de cultivo celular requerimos comprar CO2 y O2 para las incubadoras, material desechable como puntillas, microtubos, guantes, cubrebocas, cajas de cultivo celular, pipetas serológicas, unidades de filtración, etc.					
002	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Materiales de uso directo	\$ 45,000.00
Justificación: Durante el segundo periodo de la Etapa II, una vez que las células 293F este expresando y traduciendo en factor recombinante, se necesitará un sistema de purificación por cromatografía de afinidad ("Probond purification system"), el cual consistirá en una resina de níquel que tendrá afinidad por las histidinas que estarán acoplados hacia el extremo carboxilo terminal de la proteínas recombinantes. Para determinar el peso molecular de las proteínas recombinantes purificadas se realizarán ensayos de western blot para lo cual se necesitará de: acrilamida, ácido bórico, marcadores de peso molecular para proteínas, papel de nitrocelulosa, placas autoradiográficas, etc.					
002	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Materiales de uso directo	\$ 7,000.00
Justificación: En el tercer periodo de la Etapa III, se tiene contemplado la compra de CO2 que se necesitará para mantener los cultivos celulares					
002	003	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Cuotas de inscripción	\$ 3,500.00
Justificación: Como parte de los resultados entregables, se tiene contemplado la presentación de los resultados en el Congreso Nacional de Genética Este congreso se realiza anualmente en el País durante el mes de octubre. El rubro propone la cuota de inscripción para el responsable técnico del proyecto y para un alumno tesista					
002	003	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Pasajes	\$ 15,000.00
Justificación: Como parte de los resultados entregables, se tiene contemplada la presentación de los resultados en el Congreso Nacional de Genética. Este congreso se realiza anualmente en el mes de Octubre y el rubro propone el pasaje aéreo para el responsable técnico del proyecto y para un alumno tesista					
002	003	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Viáticos	\$ 9,000.00
Justificación: Como parte de los resultados entregables, se tiene contemplado la presentación de los resultados en el Congreso Nacional de Genética. Este congreso se realiza anualmente en el mes de Octubre y el rubro propone los viáticos de hospedaje y alimentación para el responsable técnico del proyecto y para un alumno tesista					
003	001	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Materiales de uso directo	\$ 126,000.00
Justificación: En el primer periodo de la Etapa III, se aislarán las células cumulares para extracción de RNA total y síntesis de cDNA. Para este proceso se necesitará de medios de cultivo para maduración, así como material desechable como puntillas, guantes, cubrebocas, cajas de cultivo celular, etc. Una vez que se tenga el cDNA, se evaluará la expresión de genes específicos de células cumulares, lo cuales participan en la maduración del ovocito. Para tal efecto se requerirá comprar reactivos para RT-PCR tiempo real. También se evaluará, a diferentes concentraciones el efecto de los factores recombinantes, en el medio de maduración in vitro de los ovocitos. Una vez maduros, se procederá a fertilizarlos y se evaluará el porcentaje de blastocitos producidos. Para este procedimiento se necesitará de medios de cultivo para fertilización in vitro: medio F-CDM, aceite mineral, pajillas, hormona FSH, estradiol, EGF, cisteamina, etc.					
003	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Registro de patentes	\$ 40,000.00
Justificación: En caso de que las proteínas recombinantes evaluadas, aumenten el porcentaje de blastocitos in vitro. Se patentarán por lo menos dos proteínas recombinantes ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI).					
003	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Cuotas de inscripción	\$ 18,000.00
Justificación: Como parte de los resultados entregables, se tiene contemplado la presentación de los resultados en el congreso internacional "47rd Annual Meeting of the Society for the Study of Reproducción en el 2013, organizado por la Society for the Study of Reproducción (SSR) de forma anual en el mes de agosto. El rubro propone la cuota de inscripción para el responsable técnico del proyecto y para un alumno tesista					
003	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Pasajes	\$ 20,000.00
Justificación: Como parte de los resultados entregables, se tiene contemplado la presentación de los resultados en el congreso internacional "47rd Annual Meeting of the Society for the Study of Reproducción en el 2013, organizado por la Society for the Study of Reproducción (SSR) de forma anual en el mes de agosto. El rubro propone los pasajes aéreos para el responsable técnico del proyecto y para un alumno tesista					
003	002	SOLICITADAS AL FONDO	CORRIENTE	Viáticos	\$ 14,000.00
Justificación: Como parte de los resultados entregables, se tiene contemplado la presentación de los resultados en el congreso internacional "47rd Annual Meeting of the Society for the Study of Reproducción en el 2013, organizado por la Society for the Study of Reproducción (SSR) de forma anual en el mes de agosto. El rubro propone el pago de hospedaje y alimentación					

file://localhost/Users/vicky/Dropbox/Proyecto Conacyt-basica/FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud.html

9/12



01/07/13

FONDOS CONACYT - Impresión de Solicitud

para el responsable técnico del proyecto y para un alumno tesista		
FONDO	CONCURRENTE	OTRAS
Gasto Corriente: \$ 879,900.00 Gasto Inversión: \$ 520,000.00 Total: \$ 1,399,900.00	Gasto Corriente: \$ Gasto Inversión: \$ Total: \$	Gasto Corriente: \$ Gasto Inversión: \$ Total: \$

Desglose de Infraestructura

Unidad de Medida	Descripción	Cantidad	Valor Unitario	Subtotal
PIEZA	Carro Movil para marcos M de 130x85 mm para microscopio Axiovert 40 CFL	1	25000	25000
PIEZA	Marco de sujeción M para cajas petri de 88 mm diametro, para microscopio Axiovert 40 CFL	1	7000	7000
PIEZA	Microcentrifuga refrigerada. Con una velocidad de hasta 30,130 g, con rango de temperatura de -11 grados a 40 grados centigrados, al rotor le caben 30 microtubos de 1.5 ml. Mantiene la temperatura en todo el proceso de centrifugación.	1	160000	160000
PIEZA	Ultrasonido Aloka SSD-500V, es un equipo portátil de 22 libras de peso, tiene un sector convexo/escáner lineal que produce imágenes de 256 tonos grises. Mide distancia/profundidad, área, perímetro, velocidad, frecuencia cardíaca, proporción y ángulo. Inc	1	150000	150000
PIEZA	Congelador de 18 pies cúbicos, con enfriamiento de aire forzado. Rango de temperatura de -16 a -22 grados centigrados con cuatro parrillas ajustables. Medidas 0.72 x 0.62x1.88 mCongelador	1	25000	25000
PIEZA	Refrigerador de 18 pies cúbicos, con temperatura programable de 2 a 24 grados centigrados, con parrillas ajustables. Capacidad de 66 x 57 x 171 cm.	1	20000	20000
PIEZA	Cámaras de electroforesis horizontal. Dimensión del gel 14L X 12W cm. Capacidad para cargar 20 muestras en 800 ml de buffer de corrida.	4	7500	30000
PIEZA	Incubadora con agitación orbital. Rango de temperatura 0.5 a -38 grados centigrados, con una velocidad de 10 a 300 rpm, programa digital para programar el tiempo de 6 min-99h.	1	90000	90000
PIEZA	Marco de sujeción M para multicajas, para microscopio Axiovert 40 CFL	1	6000	6000
PIEZA	Marco de sujeción M para cajas de cultivo celular de 36mm de diametro, para microscopio Axiovert 40 CFL	1	7000	7000
			Total Etapa: \$	520,000.00

Documentos Anexos

Clave Anexo:	
ANX00001	
Descripción:	
Carta Institucional	
Descripción Archivo:	
Carta Institucional	
Archivo Anexo:	
I0017_000000000168981_18_31_2011carta_institucional.jpg	
Clave Anexo:	
ANX00002	
Descripción:	
Otros	



01/07/13

FONDOS CONACyT - Impresión de Solicitud

Descripción Archivo:	Carta Colaboracion Everardo Gonzalez
Archivo Anexo:	I0017_000000000168981_88_31_2011Carta_Everardo_Gonzalez.jpeg
Clave Anexo:	ANX00002
Descripción:	Otros
Descripción Archivo:	Carta colaboracion Alberto Grado
Archivo Anexo:	I0017_000000000168981_98_31_2011Carta_Alberto_Grado.jpeg
Clave Anexo:	ANX00002
Descripción:	Otros
Descripción Archivo:	carta colaboracion Veronica Moreno
Archivo Anexo:	I0017_000000000168981_108_31_2011Carta_Veronica_Moreno.jpg
Clave Anexo:	ANX00002
Descripción:	Otros
Descripción Archivo:	carta colaboracion Blanca Sanchez
Archivo Anexo:	I0017_000000000168981_118_31_2011Carta_Blanca_Sanchez.pdf
Clave Anexo:	ANX00002
Descripción:	Otros
Descripción Archivo:	Permiso comite Bioetica
Archivo Anexo:	I0017_000000000168981_128_31_2011Permiso_Bioetica.jpeg
Clave Anexo:	ANX00003
Descripción:	Protocolo
Descripción Archivo:	Protocolo
Archivo Anexo:	I0017_000000000168981_28_31_2011Proyecto_BASICIA_2011.pdf
Clave Anexo:	ANX00004
Descripción:	Curriculum Vitae
Descripción Archivo:	Everardo Gonzalez
Archivo Anexo:	I0017_000000000168981_38_31_2011CV_Everardo_Gonzalez.pdf
Clave Anexo:	ANX00004



01/07/13

FONDOS CONACyT - Impresión de Solicitud

Descripción:	
Curriculum Vitae	
Descripción Archivo:	
Veronica Moreno Brito	
Archivo Anexo:	
I0017_000000000168981_48_31_2011CV_Veronica_Moreno.pdf	
Clave Anexo:	
ANX00004	
Descripción:	
Curriculum Vitae	
Descripción Archivo:	
Blanca Sanchez	
Archivo Anexo:	
I0017_000000000168981_58_31_2011Blanca_Sanchez.pdf	
Clave Anexo:	
ANX00004	
Descripción:	
Curriculum Vitae	
Descripción Archivo:	
Alberto Grado	
Archivo Anexo:	
I0017_000000000168981_68_31_2011CV_Alberto_Grado.pdf	
Clave Anexo:	
ANX00004	
Descripción:	
Curriculum Vitae	
Descripción Archivo:	
Eduviges Burrola	
Archivo Anexo:	
I0017_000000000168981_78_31_2011CV_Eduviges_Burrola.pdf	

CON FUNDAMENTO EN EL ARTÍCULO 14, FRACCIÓN VI, ARTÍCULO 18, FRACCIONES I Y II, Y ARTÍCULO 21 DE LA LEY FEDERAL DE TRANSPARENCIA Y ACCESO A LA INFORMACIÓN PÚBLICA GUBERNAMENTAL, EL TIEMPO DE RESERVA DE LA PRESENTE INFORMACIÓN, QUE ES DE CARÁCTER CONFIDENCIAL, ES DE 10 AÑOS.