

ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES

VOL. 24

NOVIEMBRE 1991

Nº 2

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

34a. REUNION ANUAL

SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE
Y SOCIEDADES AFILIADAS

Sociedad Chilena de Biología de la Reproducción y Desarrollo
Sociedad de Biología Celular de Chile
Sociedad de Bioquímica de Chile
Sociedad de Botánica de Chile
Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas
Sociedad de Farmacología de Chile
Sociedad de Genética de Chile

RESUMENES DE
CONFERENCIAS, SIMPOSIOS Y COMUNICACIONES

27 - 30 de noviembre de 1991
Puyehue, Chile

Sociedad de Biología de Chile

Los
ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES

órgano oficial de la Sociedad de Biología de Chile, están destinados a publicar trabajos originales sobre problemas de las distintas ramas de la Biología y de la Medicina Experimental. Además publicarán trabajos de revisión y el texto de conferencias acerca del estado actual de problemas de interés general en las disciplinas mencionadas. Asimismo, darán cabida a los resúmenes de comunicaciones presentadas en reuniones anuales o especiales de las Secciones de la Sociedad y de las Sociedades afiliadas. Ocasionalmente, *Archivos* publicará, especialmente, los trabajos *in extenso* presentados en simposios realizados en el país.

Director: Dr. *Tito Ureta* (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile).

Subdirector: Dr. *Jorge Babul* (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile).

Asesor Jurídico y Representante Legal: Sr. *Iván Figueroa Moreno* (Agustinas 715, Of. 703, Santiago).

Propietario de Archivos: *Sociedad de Biología de Chile*, personería jurídica Nº 2.521 (4 de junio de 1954), Rol Unico Tributario 70.397.400-7. Domicilio legal: Las Palmeras 3425, Casilla 16164, Santiago 9, Chile.

Toda correspondencia y suscripciones deben dirigirse a la Sociedad de Biología de Chile, Casilla 16164, Santiago 9, Chile.

Correspondence and subscription orders should be addressed to the Sociedad de Biología de Chile, P.O. Box 16164, Santiago 9, Chile.

Vol. 24, 1991, five issues

Price per volume: US\$ 72.00 includes air mail delivery.

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS

ISSN: 0004-0533

BIBLIOTECA
ARCHIVOS
DE
BIOLOGIA Y MEDICINA
EXPERIMENTALES

Vol. 24

Noviembre 1991

Nº 2

Editor

TITO URETA

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias
Universidad de Chile, Santiago

11 DIC 1991

Vice-Editor

JORGE BABUL

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias
Universidad de Chile, Santiago

FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

Editores Asociados

16 ABO 1993

Medicina Experimental:

BRUNO GÜNTHER (Universidad de Concepción).
MANUEL OYARZUN (Universidad de Chile).

Farmacología:

JUAN P. GARCIA-HUIDOBRO (P. Universidad Católica de Chile).

Biología Celular:

NORBEL GALANTI (Universidad de Chile).

Genética:

DANKO BRNCIC (Universidad de Chile).

Reproducción y Desarrollo:

LUIS IZQUIERDO (Universidad de Chile).
HORACIO CROXATTO (P. Universidad Católica de Chile).

Inmunología:

ARTURO FERREIRA (Universidad de Chile).

Bioquímica y Biología Molecular:

CATHERINE CONNELLY (Universidad de Chile).
JAIME EYZAGUIRRE (P. Universidad Católica de Chile).

Biología Vegetal:

LUIS CORCUERA (Universidad de Chile).

Fisiología y Biofísica:

RENATO ALBERTINI (P. Universidad Católica de Chile).
RAMON LATORRE (Universidad de Chile).

Neurobiología:

ESTEBAN RODRIGUEZ (Universidad Austral de Chile).
PATRICIO ZAPATA (P. Universidad Católica de Chile).

Biología Teórica:

FERNANDO LOLAS (Universidad de Chile).

Este número de *Archivos* cuenta con un subsidio del
"Fondo de Publicación de Revistas Científicas"
del Ministerio de Educación Pública de Chile.

ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES

Vol. 24

Noviembre 1991

Nº 2

34a. REUNION ANUAL

SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE Y SOCIEDADES AFILIADAS

Sociedad Chilena de Biología de la Reproducción y Desarrollo
Sociedad de Biología Celular de Chile
Sociedad de Bioquímica de Chile
Sociedad de Botánica de Chile
Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas
Sociedad de Farmacología de Chile
Sociedad de Genética de Chile

	Página
Programa	XIII
RESUMENES	
Conferencias	R 95
Simposios	R 98
Incorporaciones	R 106
Comunicaciones	
Fisiología y Neurobiología	R 109
Biología Celular	R 132
Reproducción y Desarrollo	R 143
Farmacología e Inmunología	R 158
Bioquímica	R 163
Microbiología y Genética	R 183
Botánica, Ecología y Zoología	R 186
 Indice de Autores	 203

**ARCHIVOS
DE
BIOLOGIA Y MEDICINA
EXPERIMENTALES**

Vol. 24

November 1991

No 2

34th ANNUAL MEETING

SOCIETY OF BIOLOGY OF CHILE
AND THE ASSOCIATED SOCIETIES

Chilean Society of Reproduction and Development
Society of Cell Biology of Chile
Society of Biochemistry of Chile
Society of Botany of Chile
Chilean Society of Physiological Sciences
Society of Pharmacology of Chile
Society of Genetics of Chile

	Page
Program	XIII
ABSTRACTS	
Lectures	R 95
Symposia	R 98
Admission presentations	R 106
Communications	
Physiology and Neurobiology	R 109
Cell Biology	R 132
Reproduction and Development	R 143
Pharmacology and Immunology	R 158
Biochemistry	R 163
Microbiology and Genetics	R 183
Botany, Zoology and Ecology	R 186
Authors' Index	203

PROPOSITOS Y CONTENIDOS

La revista ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES es el órgano oficial de la Sociedad de Biología de Chile. Se publicará cada dos meses, con seis números conformando un volumen anual.

Esta revista está destinada a la publicación de trabajos originales sobre problemas de las distintas ramas de la Biología y de la Medicina Experimental. Las publicaciones pueden ser trabajos *in extenso* o comunicaciones cortas.

La revista también publicará trabajos de revisión y los textos completos de conferencias sobre el estado actual de problemas de interés general en las disciplinas mencionadas. Además, se publicarán los resúmenes de las comunicaciones presentadas a la reunión anual o a las reuniones de las secciones de la Sociedad y de las sociedades afiliadas. Por último, y sólo en forma ocasional, los Archivos publicará trabajos *in extenso* presentados en simposios realizados en el país.

Cada manuscrito será examinado críticamente por al menos dos revisores y su aceptación se basará tanto en el contenido científico como en la presentación del trabajo.

El nombre de esta revista se abrevia "Arch. Biol. Med. Exp."

Los títulos de los artículos publicados en esta revista aparecen citados en "Current Contents-Life Sciences".

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

INFORMACION GENERAL

Envíe el original y un duplicado del manuscrito a:

Editor.

Archivos de Biología y Medicina Experimentales.

Casilla 16164.

Santiago 9.

CHILE.

Cada manuscrito debe venir acompañado de una carta firmada por el autor que se hará responsable de la correspondencia relativa a éste. El envío de un manuscrito a esta revista involucra el que no haya sido enviada simultáneamente a otra revista.

Se considerarán para su publicación los manuscritos enviados desde cualquier país, siempre que estén redactados en castellano o en inglés.

El texto completo del manuscrito debe escribirse a espacio doble, en papel tamaño carta (21 x 27 cm), con márgenes de 2,5 cm a ambos lados. Utilice espacio cuádruple sólo antes y después de títulos y subtítulos, pero no entre párrafo y párrafo de una misma sección. Los primeros párrafos de cada sección van sin sangría, pero ésta es necesaria para todos los siguientes. Numere consecutivamente todas

las páginas del manuscrito, empezando por aquella que contiene el título.

Se recomienda a los autores conservar copias del manuscrito y de las ilustraciones, ya que la Oficina Editorial no puede hacerse responsable por pérdida o daño de los trabajos enviados para su publicación.

El texto del manuscrito debe ser tan corto como sea posible. Debe redactarse con la mayor claridad y respetando el uso de las reglas gramaticales.

Abreviaturas y símbolos. Debe usarse el menor número posible de abreviaturas en el texto, definiéndolas la primera vez que se las use. Use sólo las abreviaturas y símbolos aceptados internacionalmente, tanto en el texto, como en las tablas e ilustraciones.

ORGANIZACION DEL MANUSCRITO

1. PAGINA DE TITULO. Debe contener:

1a. *Título del trabajo.* Debe ser conciso e informativo. No debe incluir fórmulas químicas ni abreviaturas. Debe tenerse en cuenta que el título de un trabajo se usa frecuentemente para la construcción de índices de materias.

1b. *Traducción del título.* Si el trabajo se presenta en castellano, el título debe traducirse al inglés y viceversa.

1c. *Nombres de los autores.* Todos los autores enumerados deberían haber contribuido en forma sustancial y directa al trabajo que dio lugar al manuscrito. Para cada autor, indicar nombre completo o sus iniciales, seguido del apellido paterno completo; puede indicar el apellido materno, si lo utiliza en forma habitual. Puede producirse confusión si un autor se identifica sólo mediante la inicial de su nombre y el apellido, por lo que se recomienda usar el primer nombre completo.

1d. *Institución* en que se realizó el trabajo (laboratorio, departamento, instituto, escuela o facultad, universidad, ciudad, país).

1e. *Titulillo* que se utilizará en la publicación para encabezamiento de las páginas siguientes. No debe exceder de 60 caracteres, incluyendo los espacios.

1f. Autor al que debe dirigirse la *correspondencia*, indicando su dirección postal completa y, si es posible, su teléfono y número de fax.

2. RESUMEN. Debe escribirse en inglés, en página separada. Debe ser breve y presentar en forma clara y concisa el plan, los procedimientos, los resultados más importantes y las conclusiones que se derivan de la investigación realizada. El resumen debe ser comprensible en sí mismo, sin referencia al resto del trabajo. Debe ser entendible para el lector no especializado y, por lo tanto, evitar términos excesivamente técnicos y abreviaturas.

3. TEXTO. Esta parte del manuscrito debe comenzar en página aparte. Debe contener las siguientes secciones, cuyos encabezamientos se escriben centrados, en mayúsculas:

3a. *Introducción.* Debe exponer el propósito de la investigación y su relación con otros trabajos publicados, pero sin convertirse en una revisión exhaustiva de la literatura existente.

3b. *Métodos.* La descripción de los procedimientos utilizados debe ser breve, pero adecuada para permitir la repetición del trabajo por otros investigadores.

En el caso de estudios realizados en sujetos humanos, los autores deben asegurar que su trabajo se conformó con los principios expresados en la Declaración de Helsinki (1964) y establecer que se obtuvo el consentimiento informado de cada sujeto participante, o de sus padres o guardianes en el caso de niños.

En el caso de estudios realizados en animales experimentales, las investigaciones deben conformarse a los Principios Orientadores sobre el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, adoptados por la "American Physiological Society".

Es conveniente indicar la procedencia de los animales utilizados en los experimentos. Deben incluirse (subrayados) los nombres latinos binomiales de los organismos de experimentación, excepto los de los animales comunes de laboratorio. Para los efectos de nomenclatura deberán seguirse las reglas establecidas en el "International Code of Zoological Nomenclature". También deben incluirse los nombres latinos binomiales de todas las especies de plantas y microorganismos que se mencionen, especificando sus variedades y fuentes de obtención. Al referirse a experimentos en genética bacteriana, deben seguirse las recomendaciones propuestas por Demerec y colaboradores (1966, *Genetics* 54: 61-76).

La denominación de las drogas se ajustará al criterio establecido en "Pharmacological Reviews". Al mencionar las enzimas por primera vez, deberán identificarse de acuerdo a lo establecido por la "Enzyme Commission" de la "International Union of Biochemistry".

3c. *Resultados.* En esta sección debe hacerse la descripción de los hallazgos, sin entrar a discutir críticamente su significado. Para la mejor presentación de los resultados, puede dividirse en subsecciones, cuyos encabezamientos se escriben a partir del margen izquierdo, en minúsculas y subrayados. Los datos pueden presentarse en tablas o figuras (véase más abajo), pero sólo cuando sea estrictamente necesario. Muchos hallazgos pueden describirse en palabras, sin necesidad de tablas o figuras.

3d. *Discusión.* Debe ser concisa y referirse a la interpretación de los resultados

presentados, como a las conclusiones que pueden desprenderse de ellos. Cuando se trata de comunicaciones breves, puede ser aconsejable la combinación de Resultados y Discusión en una sola sección.

3e. *Agradecimientos*. Indique las instituciones o proyectos que financiaron el trabajo. Agradezca solamente a aquellas personas que han contribuido sustantivamente al trabajo y que hayan autorizado que se las mencione. Los editores pueden solicitar su autorización escrita.

4. REFERENCIAS. La lista de referencias debe comenzar en página aparte. Debe presentarse conforme al orden alfabético de los apellidos paternos de los primeros autores. Si hay más de una referencia del mismo primer autor, entra a considerarse el orden alfabético de los apellidos de los autores siguientes. Si hay más de una referencia del mismo autor (o grupo de autores), se considerará el orden cronológico de dichas publicaciones.

Cada referencia debe incluir: iniciales de los nombres y apellidos paternos completos de todos los autores (separados por comas), año (entre paréntesis), título completo de cada artículo, nombre abreviado de la revista (abreviaturas sin puntos), número del volumen (seguido de dos puntos), páginas iniciales y finales de cada artículo (separadas por una raya). Sólo incluya el número del fascículo (entre paréntesis, después del volumen) en los casos excepcionales de aquellas publicaciones en que cada fascículo de un mismo volumen comienza con una nueva numeración de páginas. En el caso de capítulos de libros, proporcione los nombres del editor y del libro, seguidos de la ciudad y de la imprenta (separados por dos puntos), e incluya las páginas inicial y final.

Ejemplos:

EM JELLINEK (1960) *The Disease Concept of Alcoholism*. New Haven: Hillhouse.

OH LOWRY, NJ ROSEBROUGH, AL FARR, RJ RANDALL (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.

GL MILLER (1959) Protein determina-

tion for large number of samples. *Anal Chem* 31: 964-972.

F SACHS (1986) *Mechanotransducing ion channels*. In: R LATORRE (ed) *Ionic Channels in Cells and Model Systems*. New York: Plenum. pp 181-193.

Para las citas dentro del texto pueden adoptarse dos formatos diferentes: a) mencionando los autores y años de publicación entre paréntesis (Lowry et al., 1951), o como parte de la oración, por ejemplo: "Miller (1959) observó que..."; b) mediante números entre paréntesis (2, 5-8), en cuyo caso cada una de las referencias de la lista alfabética debe ir precedida de un número consecutivo, sin paréntesis.

Todas las citas en el texto deben aparecer en la lista de Referencias. Las referencias deben ser verificadas por los autores, confrontándolas con los documentos originales.

Puede incluir entre las referencias los artículos que hayan sido formalmente aceptados por una revista pero que aún no hayan sido publicados, indicando el nombre de la revista, seguido de "En Prensa" entre paréntesis. La información contenida en manuscritos sometidos a la consideración de una revista pero aún no aceptados, sólo podrán citarse en el texto como "observaciones no publicadas", o "manuscrito en preparación", o "comunicación personal", entre paréntesis, sin que puedan figurar en la lista de referencias. Este tipo de cita en el texto debe ser verificado por el autor, confrontándolo con el documento original y debe contar con la aprobación explícita de las personas mencionadas. Los editores pueden solicitar tales autorizaciones por escrito.

5. TABLAS. Se numerarán en forma consecutiva con números romanos y se presentarán en páginas separadas. Cada tabla debe tener un título breve y detalle experimental suficiente como para ser comprensible sin referencia al texto. Los encabezamientos de las columnas deben expresar claramente sus contenidos y unidades de mediciones. No se incluirán datos que puedan ser deducidos aritméticamente de otros

contenidos en ella. Aquellas condiciones experimentales (número de animales, dosis, concentración de un compuesto, etc.) que son las mismas para todos los experimentos presentados se pueden indicar al pie de la tabla y no en columnas de números iguales en la tabla. No tabule observaciones individuales repetidas y prefiera el empleo de valores promedios y medidas de dispersión (desviación estándar, rango), pero indicando cada vez el número de las observaciones que contribuyen a dichas estadísticas. Deben indicarse los valores de significación derivados de las pruebas de probabilidad que se especifiquen. La localización apropiada de cada tabla puede indicarse en el margen izquierdo del texto.

6. LEYENDAS DE LAS ILUSTRACIONES. Pueden agruparse en una o más páginas separadas. Las figuras se numerarán consecutivamente con números arábigos. Cada figura debe tener un título y una leyenda explicativa, que describa los resultados con suficiente detalle como para que sea comprensible sin referencia al texto.

7. ILUSTRACIONES. Pueden ser dibujos originales o fotografías de muy buena calidad en papel brillante. Los dibujos originales

deberán prepararse con tinta china en papel de buena calidad. Los números y letras deberán dibujarse profesionalmente (normógrafo o tipos transferibles) y deberán ser de tal tamaño que alcancen al menos 1,5 mm de altura después de la reducción fotográfica necesaria para aparecer en una columna de 7 cm de ancho. Identifique cada figura en el margen o dorso con su número, título o titulillo del trabajo y nombres de los autores. Cada copia del manuscrito debe acompañarse con un juego de las figuras. La localización apropiada de cada figura puede indicarse en el margen izquierdo del texto.

8. NOTAS AL PIE DE PAGINAS. Deben evitarse, pero —si resultan estrictamente necesarias— deben presentarse en páginas separadas.

9. ADDENDUM. Deberá escribirse en página separada. No pueden insertarse en el texto resultados obtenidos después de presentar el manuscrito. Asimismo, no se aceptarán cambios sustanciales en las conclusiones que se basen en nuevos resultados de los autores o de otros investigadores. No obstante, tales adiciones podrán agregarse en esta sección, si a juicio de los editores resultan necesarias.

AIMS AND SCOPE

The ARCHIVOS DE BIOLOGIA Y MEDICINA EXPERIMENTALES is the official journal of the Society of Biology of Chile. It is published bimonthly, six issues constituting one volume per year.

This journal is intended for the publication of original contributions in the different fields of Biology and Experimental Medicine. Such contributions may be presented either as full-length papers or short communications.

Review articles and the text of conferences reporting on the current status of problems of general interest to these fields will be also published. In addition, the abstracts of communications presented to the annual or special meetings of the Society and of its Affiliated Societies will also be published. Occasionally, the journal will publish full papers presented at symposia held in Chile.

Manuscripts will be refereed critically by at least two reviewers. Their acceptance will be based on scientific content and presentation of the material.

The name of this journal should be abbreviated as Arch. Biol. Med. Exp.

Titles of articles published in this journal are indexed by Current Contents-Life Sciences.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

GENERAL INFORMATION

The original and one copy of the manuscript should be sent to:

Editor.

Archivos de Biología y Medicina Experimentales.

Casilla 16164.

Santiago 9.

CHILE.

Each manuscript should be accompanied by a covering letter from the author who will be responsible for correspondence regarding the manuscript. The submission of a manuscript to this journal implies that it is not being submitted for publication elsewhere.

Manuscripts from any country will be considered for publication, but they must be written either in Spanish or in English.

All parts of the manuscript should be typewritten with double spacing, on 21 x 27 cm bond paper, with 2.5 cm margins on both sides. Use extra spaces only before and after headings and subheadings, but not between paragraphs of the same section. The first paragraphs of each section should not be indented, but the remaining paragraphs must be indented. All pages should be numbered consecutively, beginning with the title page.

Authors are advised to keep copies of typescripts and illustrations, since the

Editorial Office cannot accept responsibility for damage or loss of papers submitted.

Care should be taken in the clarity, conciseness, and use of correct grammar. Neologisms and non-standard technical terms should be avoided.

Abbreviations and symbols. They may be used only sparingly in the Text, in which case they must be defined when first mentioned. Use only standard abbreviations and symbols along the Text, Tables and Illustrations.

PARTS OF THE MANUSCRIPT

1. TITLE PAGE. It must contain:

1a. *Title of the paper.* It should be concise but informative, considering that it is frequently used for subject indexing. It should not include abbreviations nor chemical formulae.

1b. *Translation of the title.* To English if the paper is written in Spanish, and vice-versa. If you are not familiar with Spanish, please leave an empty space and the Editorial office will provide for the translation.

1c. *Authors' names.* All listed authors are expected to have participated substantially and directly in the study reported in the manuscript. For each author, give first name in full or initial, initial of middle name and last name in full.

1d. *Institution(s)* where the work was carried out (Laboratory, Department, Institute, School or Faculty, University, City, State, Country).

1e. *Running head*, of no more than 60 characters including spaces.

1f. Author to whom *correspondence* should be sent, indicating complete mailing address, and phone and FAX numbers, if available.

2. **ABSTRACT.** It should be written in English and typed on one separate page. It should state clearly and concisely the purpose of the investigation, basic procedures, main findings, and the principal conclusions. The abstract should be intelligible to one who has not read the Text. Avoid the use of highly specialized terms and abbreviations.

3. **TEXT.** This part of the manuscript should begin on a new page. The body of the paper should contain the following sections, whose headings must be centered and typed in capitals:

3a. *Introduction.* This section must state the purpose of the article, providing only strict pertinent references, and not reviewing the subject extensively.

3b. *Methods.* The description should be brief, but describing the procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results.

For studies involving human subjects, the authors must assure that their work was conducted in conformance with the principles embodied in the Declaration of Helsinki, and they must include a statement that the experiments were performed with the knowledge and consent of each subject, or of the parent or guardian when the subject was a child.

For studies involving experimental animals, the investigations must conform to the Guiding Principles in the Care and Use of Laboratory Animals, endorsed by the American Physiological Society.

It is convenient to mention the source of the animals used for experiments. Latin binomial names of organisms should be included underlined, except for those of common laboratory animals. The rules established in the International Code of Zoological Nomenclature must be followed.

Also, Latin binomial names of plants and micro-organisms should be included specifying the varieties and sources. For experiments concerning bacterial genetics, the recommendations of Demerec *et al.* (Genetics. 54: 61-76, 1966) should be followed.

Drugs denomination must be according to the criteria established in Pharmacological Reviews. Enzymes should be identified when first mentioned in accord with the Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry.

3c. *Results.* In this section findings should be described without discussion of their significance. Subsections may be used for better organization in the presentation of results; their subheadings must be typed starting from left margin, in lower case and underlined. Data may be presented in Tables or Illustrations (see below) only when strictly necessary. Do not repeat in the Text all the data appearing in the Tables or Illustrations.

3d. *Discussion.* It should be concise, emphasizing the new and important aspects of the study, and the conclusions that follow from them. It may be advantageous to combine Results and Discussion in one section in the case of Short Communications.

3e. *Acknowledgements.* Indicate grant support. Acknowledge only those persons who have made substantive contributions to the study, and who should approve their mentioning. The Editors may ask for their written authorization.

4. **REFERENCES.** The list of references should begin on a new page, arranged in alphabetical order of the first author's last name. If there is more than one reference of the same author(s), such references must be listed chronologically, with earliest publications first.

Each reference should include: initials and last names of all authors (separated by commas), year (within parentheses), complete title of each article, abbreviated name of the journal (without periods), volume number (followed by colon), and both first and last pages of each article (separated by dash). In the case of book chapters,

give the names of the editor and the book, city and publisher (separated by colon).

Examples:

EM JELLINEK (1960) *The Disease Concept of Alcoholism*. New Haven: Hillhouse.

OH LOWRY, NJ ROSEBROUGH, AL FARR, RJ RANDALL (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.

GL MILLER (1959) Protein determination for large number of samples. *Anal Chem* 31: 964-972.

F SACHS (1986) Mechanotransducing ion channels. In: R LATORRE (ed) *Ionic Channels in Cells and Model Systems*. New York: Plenum. pp 181-193.

Two different formats of citations within the Text can be adopted:

a) by giving the authors' last names and year of publication in parentheses (Lowry *et al.*, 1951), or as part of the sentence, e.g.: Miller (1959) reported that...

b) by numbers in parentheses within the Text (e.g., 2, 5-8), in which case each entry of the alphabetical list of References must be preceded by a consecutive number, without parentheses.

All citations in the Text should appear in the list of References. The References must be verified by the author(s) against the original documents.

Include among the References the manuscripts accepted but not yet published, indicating the name of the Journal followed by "In Press" within parentheses. Information from manuscripts submitted but not yet accepted should be cited only in the Text as "unpublished observations", or "manuscript in preparation", or "personal communication", within parentheses. This type of citation must be verified by the author against the original document and must be approved by the persons concerned. The Editors may ask for their written authorization.

5. TABLES. They should be numbered consecutively with Roman numerals, and each one must be typed on a separate page. Each Table must bear a brief title and sufficient experimental detail to make it intelligible without reference to the Text. The headings of the columns must clearly

express their contents and units of measurements. Data that may be arithmetically derived from information therein contained should not be included. Also, data that remain the same shall not be repeated on each line of the table, but should appear as footnotes under each table. Mean values and dispersion measures (standard deviation, range) should be preferred to individual observations, but always indicating the number of individuals contributing to the statistics. The significance values derived from specified probability tests must be indicated. The preferred location of each table may be indicated in the left margin of the Text.

6. LEGENDS FOR ILLUSTRATIONS. They must be typed on separated pages. Figures should be numbered consecutively with Arabic numerals. Each figure must bear a title and an explanatory legend describing the results in sufficient detail as to be comprehensible without reference to the Text.

7. ILLUSTRATIONS. They may be supplied as original drawings or as glossy black-and-white photographic prints. Diagrams and graphs should be drawn with Indian ink on stout paper. Numbers and lettering labeling must be professionally drawn (normograph or lettering set) and should be large enough to allow for at least 1.5 mm high after photographic reduction for a 7 cm column width. Figures should be marked on the reverse side with the number, running title of the paper and author's names. Each copy of the manuscript must include a set of figures. The preferred location of each figure may be indicated in the left margin of the Text.

8. FOOTNOTES. They should be avoided, but—if necessary—they must be typed on separated pages.

9. ADDENDUM. It should be typed on a separate page. It is not allowed to include results obtained after the submission of the manuscript, neither substantial changes in the conclusions based in new evidence presented by the authors or other investigators. Nevertheless, new information could be included as an addendum, only if the Editors estimated it as necessary.

**SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE
Y SOCIEDADES AFILIADAS**

**Sociedad Chilena de Biología de la Reproducción y Desarrollo
Sociedad de Biología Celular de Chile
Sociedad de Bioquímica de Chile
Sociedad de Botánica de Chile
Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas
Sociedad de Farmacología de Chile
Sociedad de Genética de Chile**

34a. REUNION ANUAL

Puyehue, Chile

27 al 30 de noviembre de 1991

**ESTE CONGRESO HA SIDO POSIBLE GRACIAS A LA
GENEROSA CONTRIBUCION DE LAS
SIGUIENTES INSTITUCIONES**

**ALFABETA IMPRESORES
ALFONSO WOLFF
CONICYT
DARWIN MERINO
FACULTAD DE CIENCIAS UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA UNIVERSIDAD DE CHILE
FUNDACION CHILENA PARA LA
BIOLOGIA CELULAR
HAENEL S.A.
INSTITUTO PROFESIONAL DE OSORNO
IVENS & CIA. LTDA.
JOYERIA H. STERN
MERCK QUIMICA CHILENA
OFICINA NACIONAL DE RETORNO
ORGANIZACION INTERNACIONAL PARA
LAS MIGRACIONES
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
UNIVERSIDAD DE CHILE
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
UNIVERSIDAD DE TALCA
W. REICHMANN Y CIA. LTDA.**

PROGRAMA

34ª. REUNION ANUAL

Miércoles 27 de noviembre

09:00 – 12:45 Inscripciones

15:00 – 17:30 INCORPORACIONES I.

SALA 1

Mesa: **Carlos Jerez**
Jorge Belmar

González, J.A.; Yoshida, N. (Grupo de Parasitología, Universidad de Antofagasta). El antígeno de 90 kDa de formas metacíclicas de *Trypanosoma cruzi*. (Patrocinio: B. Gómez-Silva).

Bitrán, M. (Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). El efecto inhibitorio del neuropéptido Y (NPY) sobre la neurotransmisión del conducto deferente (Cd) es modulado por la edad y el estado hormonal de la rata. (Patrocinio: J.P. Huidobro-Toro).

Andrés, M.E.; Bustos, G. (Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). El ácido glutámico estimula la liberación del ácido gamma-amino butírico, en el cuerpo estriado. Estudio *in vivo* mediante la técnica de microdiálisis. (Patrocinio: G. Bustos).

Farías, G.A.; Vial, C.; Maccioni, R.B. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro Int. del Cáncer y Biología del Desarrollo (ICC)). Interacciones macromoleculares específicas entre Tau y el sistema de los microtúbulos. (Patrocinio: R. Maccioni).

Pulgar, V.; Jedlicki, E. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Secuenciación y análisis estructural de los genes que codifican para Ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO) de *Thiobacillus ferrooxidans*. (Patrocinio: O. Orellana).

15:00 – 17:30 INCORPORACIONES II.

SALA 2

Mesa: **Gloria Montenegro**
Eduardo del Solar

Labra, A. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Determinantes de variables térmicas y energéticas en reptiles congénicos: importancia del nivel de análisis. (Patrocinio: M. Rosenmann).

Novoa, F.F.; Rosenmann, M. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Metabolismo máximo, hipoxia y distribución altitudinal: un estudio intraespecífico. (Patrocinio: M. Rosenmann).

Vásquez, R.A. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Conductas de forrajeo en roedores: comparaciones interfenotípicas. (Patrocinio: J. Simonetti).

Jorquera, R.; Carvalho, P. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Análisis de polimorfismo y mutaciones en el DNA humano por PCR.

Venegas, A.; Gómez, I.; Martínez, M.T.; Leiva, J. (Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Aislamiento del Gen OMPF de *Salmonella typhimurium* mediante amplificación directa del DNA cromosomal por PCR. Estructura y expresión del Gen.

Cádiz, R.; Gaete, L.; Orellana, O. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Utilización de PCR en el análisis de una región del genoma de *Thiobacillus ferrooxidans* con múltiples transposiciones de una secuencia de inserción.

Oñate, A.; Olate, J. (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Expresión génica de la proteína G en *Xenopus laevis*. Análisis por PCR reversa.

18:00 – 20:30 Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo:
CONFERENCIA: Pedro Esponda (España).

Animales transgénicos: nueva herramienta de investigación biológica.

SALA 3

21:00 Comida.

Jueves 28 de noviembre

09:00 – 11:30 Sociedad de Biología Celular.
 Chile. **SIMPOSIO: Mecanismos de control de la diferenciación celular.**

SALA 1

Coordinador: **Ricardo Maccioni**

Bajer, A.S.; Mole-Bajer, J. (Department of Biology, University of Oregon, USA). Unknown features of chromosome transport during mitosis in living cells.

Morata, G. (Centro de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid, España). Regulación de la expresión de los genes homeóticos de drosophila.

Del Solar, G.; Pérez-Martín, J.; Espinosa, M. (Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid, España). Mecanismos de regulación genética en el plasmido promiscuo pLS1.

Pierce, G.B.; Gramzinski, R.; Parchment, R. (Department of Pathology, University of Colorado School of Medicine, Denver, USA). The mechanism of programmed cell death in the blastocyst of the mouse.

Fernández, J. (Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Conclusión.

09.00 – 11.30 **SIMPOSIO: Mecanismos de Adaptación.**

SALA 2

Coordinador: **Esteban Rodríguez**

Iturriza, F.C. (Centro de Estudios Endocrinos, Cátedra B de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina). Papel adaptativo de la hormona melanocito estimulante (MSH).

Peña, P.M.; Nürnberger, F.; Simón, E. (Max Planck Institut für physiologische und Klinische forschung, Bad Nauheim und Institut für Anatomie und Zytobiologie, Giessen, Germany). The vasopressin system in adaptative mechanisms.

Oksche, A. (Department of Anatomy and Cytobiology, Faculty of Medicine, Justus Liebig University of Giessen, Germany). Photoneuroendocrine systems and their role in adaptation to the environment.

Meza-Basso, L. (Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile, Department of Agricultural Botany School of Planst Sciences, Universidad de Reading, UK. Programa de Biología Vegetal, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca). Respuesta al frío y salinidad en vegetales.

12:00 – 13:00 **CONFERENCIA: Kanti D. Bhoola (Inglaterra).** **SALA 3**
Functional importance of neutrophil kallikreins and kininogens.

12:00 – 13:00 **CONFERENCIA: Heiner Westphal (EE.UU.).** **SALA 2**
Animal models of human diseases.

13:00 Almuerzo.

14:30 – 16:00 **PANELES I.** **SALA PANELES**

Nota: Los Paneles tienen la misma numeración que los resúmenes publicados en el cuaderno.

FISIOLOGIA: PANELES 1 al 94

Coordinadores: **H. Pérez, C.B. González,**
M.A. Carrasco, J. Bacigalupo

BIOLOGIA CELULAR: PANELES 95 al 138

Coordinadores: **J. Martínez, M. Fernández,**
C. Koenig, M. Santos

BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION Y DESARROLLO: PANELES
139 al 196

Coordinadores: **R. Smith, M. Vega,**
V. Neumann, H. Lara

16:00 – 16:30 **Café**

17:00 – 19:30 **SIMPOSIO: Origen del Humano.** **SALA 1**

Coordinador: **Cristián Orrego**

Chakraborty, R. (Center for Demographic and Population Genetics, The University of Texas Graduate School of Biomedical Sciences, Houston, Texas). Impact of molecular genetic in studying origin of human populations.

Aspillaga, E. (Departamento de Antropología y Departamento de Anatomía Normal, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Hominización, una perspectiva bioantropológica.

Rothhammer, F.; Silva, C.; Llop, E. (Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Geografía génica de Sudamérica: contrastando modelos de desplazamiento poblacional precolombinos.

- 19:30 Ballet Folclórico Universidad Austral de Chile.
- 20:30 Comida.
- 22:00 **CONFERENCIA: Herman Niemeyer F.: Tito Ureta (Chile).** SALA 1

Viernes 29 de noviembre

**SIMPOSIUM FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA
CELULAR**

- 09:00 – 11:30 **SIMPOSIO: Manipulación del desarrollo de animales y plantas con fines productivos.** SALA 1

Coordinador: **Claudio Barros
Luis Corcuera**

Barros, C. (Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). Manipulación de la Fecundación en Mamíferos.

Díaz, N.F. (Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Manipulación del desarrollo en salmónidos.

Westphal, H. (Laboratory of Mammalian Genes and Development, NICHD/NIH, Bethesda, MD, USA). The mouse developmental control genes PRD-LIKE and PAX2, two projects.

Herrera-Estrella, L. (Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados, México). Métodos de transformación génica de plantas y el estudio de expresión génica.

Corcuera, L. (Facultad de Ciencias, Universidad de Chile). Resumen y Proyección.

- 11:30 Café.
- 12:00 – 13:00 **CONFERENCIA: Andreas Oksche (Alemania).
Evolution and organization of neuroendocrine systems.** SALA 3
- 12:00 – 13:00 **CONFERENCIA: Robert Steneck (EE.UU.).
Plant-herbivore coevolution: a reappraisal from the marine realm and
its fossil record.** SALA 2
- 13:00 Almuerzo

XVIII

14:30 – 16:00 **PANELES II.**

SALA PANELES

Nota: Los Paneles tienen la misma numeración que los resúmenes publicados en este cuaderno.

FARMACOLOGIA: PANELES 197 al 208

Coordinador: **A. Hernández**

INMUNOLOGIA: PANELES 209 al 217

Coordinador: **A. De Ioannes**

BIOQUIMICA: PANELES 218 al 295

Coordinadores: **J.C. Slebe, N. Carvajal, J. Olate,
M. Perretta, E. Spencer**

MICROBIOLOGIA-GENETICA: PANELES 296 al 305

Coordinador: **O. León**

BOTANICA-ECOLOGIA-ZOOLOGIA: PANELES 306 al 373

Coordinadores: **J.C. Ortiz, R. Formas,
M. Alberdi, L. Cardemil**

16:00 – 16:30 **Café.**

16:30 – 17:15 **ASAMBLEA SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE.** **SALA 1**

17:30 – 20:30 **SIMPOSIUM ORGANIZACION INTERNACIONAL PARA
LAS MIGRACIONES**
SIMPOSIO: Retorno de Científicos Chilenos en el Extranjero. **SALA 1**

Coordinador: **Luis Izquierdo**

Participantes:

Jaime Sponda (Director, Oficina de Retorno).

Jaime Schwencke (Biotechnologie des Symbioses Forestieres Tropicales, Francia).

Cristián Orrego (Museum of Vertebrat Zoology, California, USA).

Jorge Allende (Universidad de Chile).

Eugenio Cáceres (Fundación Andes).

Roberto Kozak (Jefe de Misión en Chile, Organización Internacional para las Migraciones).

Enrique D'Etigny (Conicyt).

Alfonso Muga (Ministerio de Educación de Chile).

21:00 Cena de Clausura y Fiesta.

Sábado 30 de noviembre

09:00 – 11:30 **SIMPOSIO: Nuevas aproximaciones a la producción biológica.**

Coordinador: **Bernabé Santelices**

Meza-Basso, L.; Hubert, E.; Sáez, J.; Theoduloz, C.; Poblete, F.; Espinoza, P.; Vizcarra, G.; Parra, C.; Contreras, A. (Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile y Laboratorio de Bioquímica Vegetal, Programa de Biología Vegetal, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca). *Biotecnología y Agricultura.*

Craigie, J.; Shacklock, P.; Staples, L. (Institute for Marine Biosciences, National Research Council, Halifax, Canadá). *Ecophysiological bottlenecks in tank culture of the seaweed chondrus crispus (Rhodophyta).*

Prado, C. (Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile). *Modelling the impact of land transformation and primary productivity systems on ecosystem sustainability.*

Kautsky, N. (Department of Systems Ecology, Stockholm University, Sweden). *Integrated aquaculture for increased production and environmental improvement.*

11:30 Café.

11:45 – 12:45 **CONFERENCIA: Luis Herrera-Estrella (México).**
Aplicaciones de la Ingeniería genética de Plantas. SALA 1

11:45 – 12:45 **CONFERENCIA: Barry Pierce (EE.UU.).**
The Mechanism of programmed cell death in the blastocyst of the mouse. SALA 2

11:45 – 12:45 **CONFERENCIA: Ramón Piezzi (Argentina).**
Eduardo Bustos-Obregón (Chile).
Programa de Cooperación Científico Chileno-Argentino. SALA 3

15:00 **II Expedición Botánica. Zonación Altitudinal de la Vegetación en los Andes Valdivianos.**

Encargados de la excursión: Prof. Carlos Ramírez
Prof. Cristina San Martín.

ANIMALES TRANSGENICOS : NUEVA HERRAMIENTA DE INVESTIGACION BIOLOGICA (Transgenic animals, a new tool for biological research). Esponda, P. Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Velázquez 144. 28006 Madrid, España.

En la última década los resultados obtenidos gracias a la obtención de animales transgénicos (AT) han causado indudablemente una revolución en muchas áreas de la biología y la medicina. La creación de este tipo de animales parece el método más sofisticado, no sólo para analizar diferentes aspectos de expresión génica, sino también como una posibilidad en futuras aplicaciones industriales y médicas. Las técnicas para obtener AT parecen estar ya relativamente estandarizadas, y comprenden la microinyección de construcciones génicas (que llevan el transgen junto a un promotor) en el pronúcleo masculino del embrión, y luego, la posterior transferencia de este embrión a una madre receptora. Si bien por lo general existe integración del gen transferido, su grado de expresión suele ser muy variable. Este fenómeno parece ocurrir porque la integración del transgen ocurre totalmente al azar en el genoma receptor. Las aplicaciones de los AT parecen mucho mayores de lo que hace pocos años se imaginaba: así se han obtenido interesantes resultados sobre la función de diferentes genes (oncogenes, reguladores de la inmunidad, determinación sexual, etc). Por otra parte, se intenta en la actualidad mediante los AR, obtener mejoras para la producción animal, e incluso se les menciona como una posibilidad en futuras terapias génicas.

ANIMAL MODELS OF HUMAN DISEASES. Two Multi-Author Projects, Reported by Wesphal, H., LMGD/NICHD/NIH, Bethesda, MD, USA.

In vivo activation of a dormant oncogene. In an effort to generate a mouse model of cancer initiation, our laboratory has previously characterized the effects of oncogene expression in the developing eye lens of transgenic mice. Special focus has been on the state of differentiation of lens tissue that becomes target of oncogenic conversion by the large tumor antigen (TAG) of the SV 40 virus. Our observations led us to conclude that the oncogenesis is determined by the state of the tissue ontogeny attained at the time of oncogenic activation. The need arose for a genetic procedure that would permit initiation of TAG expression at closely spaced intervals during the process of normal lens differentiation. Toward that goal, my coworkers M.L. Lakso and K. Mulder initiated a collaboration with B. Sauer (E.I. du Pont de Nemours & Co, Wilmington, D.E.) aimed at activating a dormant TAG gene in the developing lens with the help of a bacterial DNA recombinase. We generated two transgenes targeted for lens specific expression. One encodes the recombinase CRE, the other SV40 TAG preceded by a regulatory sequence, termed STOP, that contains CRE recognition sites and prevents the abutting TAG gene from being expressed. When strains of either genotype are mated, double transgenics with eye tumors result, suggesting that CRE has activated TAG by removing STOP. The experiment will allow us to look at the interplay of lens differentiation and oncogenesis in unprecedented detail. In addition, the approach can be generalized to activate virtually any transgene in vivo at a set time and location.

Mouse models of human Gaucher disease. Gaucher disease is a very common lipid storage disorder that results from the inherited deficiency of glucocerebrosidase. M. Tremblay and S.P. Huang of our laboratory collaborate with E.I. Ginns, M.E. LaMarca, B.K. Stubblefield, S. Whinfield, B. Zablocka, E.N. Sidransky and B.M. Martin (NIMH/NIH) and with R.C. Mulligan (Whitehead Institute, MIT) and V. Tybulewicz (National Institute for Medical Research, Mill Hill England) in an effort to generate mouse models for this disease. Specific point mutations occur frequently in the human gene and affect enzyme activity. Analogous point mutations created by PCR primer directed in vitro mutagenesis, as well as deletion, have been inserted by homologous recombination in the glucocerebrosidase gene on murine embryonic stem cells, using a selectable targeting plasmid. Chimeric male mice have been derived from C57B6 blastocysts injected with the mutated embryonic stem cells. We have recently obtained our first mice that carry a mutated glucocerebrosidase gene. Mice that mirror the human disease will be valuable for studying the cause of the disease symptoms and for developing targeted therapy.

FUNCTIONAL IMPORTANCE OF NEUTROPHIL KALLIKREINS AND KININOGENS. Bhoola, K.D., *Figuroa, C.D., #Henderson, Lydia & +Müller-Esterl, W. Departments of Pharmacology and #Biochemistry, School of Medical Sciences, University of Bristol, Bristol BS8 1TD, *Institute of Histology and Pathology, Austral University, +Department of Pathobiochemistry, Institute of Physiological Chemistry, University of Mainz, Germany

Evidence will be provided for the discovery of a tissue kallikrein in azurophilic granules and L-kininogen (LK), H-Kininogen (HK) and plasma kallikrein on the external surface of the neutrophil. These findings raise important questions with regard to the role of these neutral proteases and their substrates both in the normal migratory process of neutrophils and during inflammation. A novel hypothesis would be the circumscribed release of kinins on the surface of the neutrophil and in close proximity to the junctional site of endothelial cells, in order to facilitate movement of the neutrophil to the interstitial tissue space by opening up a corridor between endothelial cells. Such a physiological function of kinins clearly merits experimental study. Cytokines and complement fragments attract neutrophils by chemotaxis to sites of inflammation. In the early phase of this pathological process neutrophils first marginate, pass through endothelial cell junctions and then migrate to the inflammatory nidus, where degranulation, probably releases both the kallikreins and the pepstatin sensitive cathepsin D. Depending on the pH of the environment, the neutral kallikreins may release kinins from kininogens attached to receptors on the surface of the neutrophil and when acidic conditions occur Cathepsin D generates leukokinins.

EVOLUTION AND ORGANIZATION OF NEUROENDOCRINE SYSTEMS. Oksche, A. Department of Anatomy and Cytobiology, Faculty of Medicine, Justus Leibig University of Giessen, 123 Aulweg, W-6300 Giessen, Germany.

Secretory neurons capable of elaboration of neuropeptides and biogenic amines are an integral component of the vertebrate brain. This apparatus is involved in neuroendocrine communication by means of paracrine, transmitter-like, modulatory and neurohormonal messages. As a whole, it serves the adaptation of the organism to the external environment and the internal milieu. The survival of the individual and the preservation of the species depend on the perfection of this complex. In phylogeny, the nervous systems of vertebrates. In lower invertebrates, the central nervous system is the sole agency of nervous and endocrine functions. Obviously, amino acids and short-chain neuropeptides were the first signal substances, only later followed by biogenic amines. Polarized neuronal units displaying both sensory and secretory features represent the prototypes of secretory neurons. In the vertebrates brain, a strikingly similar type of cell, the CSF-contacting neuron, can be observed. An increasing complexity is achieved by rearrangement of the individual neuroendocrine units and their circuitries. Such structural changes have apparently played a crucial role in the development of neuroendocrine communication. Highly specialized secretory structures, the pineal and the subcommissural organ (SCO), occur at the roof of the third ventricle. Contrary to the neuronlike or paraneuronal pinealocytes the secretory ependymal and hypendymal cells of the SCO are of glial lineage. Peptidergic and aminergic elements are also present in peripheral autonomic ganglia and paraganglia. Together with the enteroendocrine cells they establish a diffuse neuroendocrine system completing the central neuroendocrine apparatus.

PLANT-HERBIVORE COEVOLUTION: A REAPPRAISAL FROM THE MARINE REALM AND ITS FOSSIL RECORD (Coevolución planta-herbívoro: una reevaluación basada en organismos marinos y su registro fósil). Steneck, R.S*. Darling Marine Center, University of Maine, USA.

Stable coexistence and inter-dependencies between herbivores and their food plants are often interpreted as resulting from coevolution. An untested assumption is that such intimate associations reflect an "evolutionary arms-race" over geologic time. An examination of the fossil record of apparently "coevolved" species of marine limpets and their algal-hosts indicated these mutualistic associations evolved recently and the timing of specific adaptations and coadaptations does not support the arms race model. Alternatively, several recent ecological studies support the hypothesis that trophic specialization and stable coexistence will be most prevalent among herbivores that are small, have low metabolic demands, reduced mobility and are predator-susceptible. They will commonly be associated with algae that are relatively large, well defended, of poor food quality, and have great thallus longevity and regenerative ability. Among the pool of herbivores capable of stable coexistence, it is possible that unilateral adaptations to generalized antiherbivore defenses occasionally evolve and in rare instances species-specific algal coadaptations result in mutualisms. The significance of mutualisms may be interpreted as being "coevolved" when they may represent only an end point along adaptive continuum which has been channeled by phyletic constraints.

*Profesor Visitante, Departamento de Ecología, Pont. Universidad Católica de Chile

THE MECHANISM OF PROGRAMMED CELL DEATH IN THE BLASTOCYST OF THE MOUSE. Pierce, G.B., Gramzinski, R. and Parchment, R. Department of Pathology, University of Colorado School of Medicine, Denver, U.S.A.

Programmed cell death occurs in the inner cell mass (ICM) of the late blastocyst coincident with the loss of trophectodermal potential of the ICM. The paucity of fluid and cells precludes direct analysis to determine the mechanism of cell death. Accordingly, we used three lines of embryonal carcinomas as models of ICM: ECa247 as pretrophectoderm, P19 as embryonic epithelium and the embryoid bodies of C44 to serve as a source of fluid corresponding to that of the late blastocyst. ECa247 cells were killed in blastocoele fluid and in that of C44, but P19 cells were not. This suggested the possibility that normal pretrophectoderm might be killed by a toxin in blastocoele fluid. Accordingly, the fluid of C44 was analyzed and found to contain H_2O_2 (generated by the catabolism of polyamines by amine oxidases) in amounts toxic for ECa247 but not P19. If P19 cells were incubated in buthionine-SR-sulfoximine (reduces glutathione peroxidase), these cells became sensitive to H_2O_2 suggesting that development of glutathione protective mechanisms is a part of the developmental program which protects cells from H_2O_2 . Confirmatory studies were then conducted on normal blastocoele fluid and it too contained H_2O_2 in amounts lethal for malignant pretrophectoderm while sparing P19 cells. The data are compatible with the concept that programmed cell death is mediated via H_2O_2 generated by catabolism of polyamines.

TALLER: "HACIA UNA INTEGRACION GENETICO-ECOLOGICA: METAPOBLACION"

Coordinador: Dr. Roberto Murúa

ECOLOGIA POBLACIONAL Y VARIABILIDAD GENETICA EN CRICETIDOS EN HABITATS DIFERENTES. (Population ecology and genetic variability in cricetid species inhabiting different habitat patches). R. Murúa. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Un habitat fragmentado puede originarse por causas primarias como catastrofes naturales y secundarios derivados de la acción del hombre. El resultado produce sucesiones ecológicas en diferentes estados de desarrollo. En el Bosque Experimental San Martín se ha observado que las poblaciones de sigmodontinos colonizan en diferente tiempo distintos tipos de habitats (bosque, pradera-matorral, pradera) determinando extinciones locales y recolonizaciones en patrones predecibles.

Este fenómeno dispersivo provoca la necesidad de un análisis con mayor extensión geográfica a fin de entender la dinámica poblacional de estas especies. Estudios ecológicos realizados en el área mostraron una dinámica y demografía similar tanto temporal como espacial en las especies *Abrothrix olivaceus* y *Oryzomys longicaudatus*. Sin embargo, estudios recientes sobre la variabilidad genética mostraron que *O. longicaudatus* no presenta diferencias en loci enzimáticos entre los demos que habitan el bosque y la pradera-matorral, ya que los valores de Fst y la prueba de homogeneidad de frecuencias alélicas no fueron significativas, lo que indicaría que corresponden a una misma población. *A. olivaceus* en cambio, mostró diferencias genéticas detectables entre ambos habitats.

Se discute el problema de la escala que se requiere para un estudio en las dos especies, la falta de concordancia entre la unidad demográfica y la unidad genética, y la implicancia en el estudio de poblaciones de mamíferos silvestres a un nivel metapoblacional.

DIFERENCIACION GENETICA Y PATRONES DE LA HISTORIA DE VIDA EN ARTEMIA. (Genetic differentiation and life history patterns in *Artemia*). Gajardo, G. Instituto Profesional de Osorno.

En este trabajo se discute, usando al crustáceo *Artemia* como organismo modelo, la importancia que tiene en la distribución de la variabilidad genética la estructura espacial (fragmentada) de las poblaciones y las consecuencias de esto en la expresión de patrones de la historia de vida.

Artemia es un ejemplo de organismo de amplia distribución geográfica, aunque restringido a lagos y lagunas hipersalinas con un rango particular de condiciones ecológicas. Sin embargo, dentro de este rango es un organismo exitoso que alcanza grandes tamaños poblacionales y tolera grandes variaciones ambientales. Estas condiciones, junto a complejos mecanismos de especiación, determinan que las especies del género exhiban una sorprendente diferenciación genética intraespecífica, que se refleja en una variedad de patrones de la historia de vida.

En general, las observaciones en *Artemia* permiten sugerir que el tipo de habitat, fluctuante o estable, se asocia a la expresión de modos de reproducción cualitativa y cuantitativamente diferentes, de manera que los individuos sometidos a repetidos episodios de colonización evolucionan hacia una combinación de madurez temprana, mayor esfuerzo reproductivo y a tiempos de vida más cortos que los individuos expuestos a situaciones de mayor estabilidad ambiental.

Se discute el impacto de la fragmentación del habitat en la diversidad genética y la importancia de la aproximación genético-ecológica para resolver problemas evolutivos.

(Financiado por el IFS, Suecia y FONDECYT 0234-91).

GENETICA Y ECOLOGIA DE ROEDORES SUBTERRANEOS *Ctenomys*. (Genetics and ecology of subterranean rodents, *Ctenomys*). Milton Gallardo. Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia.

La adaptación a la vida subterránea ha moldeado convergentemente la dinámica poblacional, la demografía y los patrones de diferenciación genética en diversos taxa. Estudios evolutivos realizados en 10 poblaciones correspondientes a cinco especies de roedores cavadores andinos (*Ctenomys*) muestran patrones de diferenciación genética exacerbados por rasgos conductuales (agresividad, vida solitaria) de los animales. La capacidad de soporte del ambiente y las estrategias k de los roedores permiten la formación de colonias relativamente pequeñas, poblacionalmente desestabilizadas por la promoción de un efecto de endogamia. Extrínsecamente, las discontinuidades propias de la fisiografía del habitat y la orogénesis de los Andes han incidido sinérgicamente en el rol que han jugado los factores estocásticos en el moldeamiento evolutivo de esos demos transientes. Así, la dinámica poblacional y la fragmentación del habitat propician colonizaciones y extinciones locales. Por ello, una aproximación metapoblacional que enfatice la fragmentación interdemica y el desequilibrio de las unidades de apareamiento aparece sugerente frente a las características del grupo en cuestión.

(Financiado por proyectos FNC 89/70 y DID, UACH S-91-11).

HACIA UN ESTUDIO DE LAS METAPOBLACIONES. (Toward to the understanding of metapopulations). Luz A. González. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Por mucho tiempo, ha primado en la ecología un ilegítimo reduccionismo ontológico, una concepción determinista y un aislamiento intelectual, que han limitado el establecimiento de interfases firmes con otras disciplinas. Sin embargo, la detección y análisis de patrones, el estudio de perturbaciones ecológicas y oportunismo, se enriquecen con el conocimiento acerca de la heterogeneidad genética. Factores estocásticos como el efecto fundador se han incorporado en modelos ecológicos recientes. Por otra parte, la teoría de la optimización aplicada a estrategias de historia de vida, reproductivas y de alimentación, se enriquece con el conocimiento de la herencia de los caracteres componentes de la adecuación biológica.

Este taller está focalizado a integrar aspectos de genética y ecología con una perspectiva metapoblacional, enfatizando el análisis de la estructura espacial de las poblaciones, importancia de las unidades de escala y niveles de organización biológica, implicancias de disturbios y fragmentación del habitat de las especies, y la relación entre variabilidad ecológica y genética.

Una metapoblación (Levins, 1969) corresponde a un conjunto de poblaciones interactuantes en tiempo de vida finito, cuya dinámica esta ligada a los procesos de extinción y colonización. Las metapoblaciones han permanecido como un concepto pobremente desarrollado en la biología empírica, aunque se ha reconocido que modelos de poblaciones únicas son inadecuados para describir la dinámica de numerosas especies. Se discuten distintos modelos metapoblacionales.

Simposios

ORIGEN DEL HUMANO

Coordinador: Dr. Cristián Orrego

GEOGRAFIA GENICA DE SUDAMERICA : CONTRASTANDO MODELOS DE DESPLAZAMIENTO POBLACIONAL PRECOLOMBINOS. (Gene geography of South America : testing models of pre-Columbian population displacements). F. Rothhammer, C. Silva y E. Lloq. Departamento Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Departamento de Matemática y Computación, Facultad de Ciencias, Universidad de Santiago.

Aprovechando avances recientes de la graficación computarizada se han presentado los resultados del tratamiento estadístico multivariado de frecuencias génicas para determinadas áreas geográficas en forma de mapas sintéticos de variación genética. Estos mapas han sido utilizados para poner a prueba hipótesis sobre la difusión de la agricultura en Europa como también sobre la acción de factores evolutivos, tanto a nivel mundial como también para Norte, Centro y Sudamérica. Los resultados obtenidos para América en general son poco concluyentes debido al pequeño número de sistemas genéticos incluidos en el análisis. En esta ocasión presentaremos mapas sintéticos de frecuencias génicas para Sudamérica utilizando el mayor número posible de sistemas. Posteriormente utilizaremos estas representaciones gráficas para poner a prueba modelos de desplazamiento poblacional precolombinos.

GRANT N° 91-1110 FONDECYT.

IMPACT OF MOLECULAR GENETICS IN STUDYING ORIGIN OF HUMAN POPULATIONS.

Ranajit Chakraborty. Center for Demographic and Population Genetics. The University of Texas Graduate School of Biomedical Sciences, Houston, Texas.

The origin of specific human populations has always been an intriguing question to biological anthropologists. While early works on this subject relied on typological patterns of human variation, recent advances in molecular genetics make such studies far more incisive; the level at which genetic variation can now be studied is much closer to the underlying molecular typing can now be done on people who existed several thousand years back, dating the origins of populations can now be done with a precision that was not feasible from the traditional biological traits. In this presentation, preliminary data on molecular variation in humans will be used to show that population genetic theories are available to utilize biochemical variation detected at a molecular level, from which precise genetic profiles of populations can be determined. Anthropologists, human biologists, as well as forensic scientist can profitably use the concept of genetic variations among individuals, allowing reconstruction of past events of colonization and expansion of populations, from which origins of specific populations can be predicted. (Research supported by NIH grant GM-41399)

HOMINIZACION UNA PERSPECTIVA BIOANTROPOLOGICA Eugenio Aspíllaga, Departamento de Antropología y Departamento de Anatomía Normal, Universidad de Chile. Para una mayor comprensión del proceso de Hominización es necesario remontarse al origen de los primates como grupo, hace como unos 70 millones de años; y discutir en torno a las adaptaciones y características de dicho grupo, que contribuyeron a la génesis de la propiedades biológicas más notorio del hombre y que en su origen constituyeron un conjunto de propiedades necesarias para la aparición de éste y del fenómeno adaptativo extra somático que llamamos cultura. Es posible que las restrictivas condiciones del medio arboreo, propiciará la selección de variabilidad biológica consistente con una vida exitosa en dicho medio; es así como aspectos tan característicos del Hombre como son su capacidad de manipulación, la visión estereoscópica combinada con una desarrollada capacidad de enfoque y visión de colores, el desarrollo de áreas asociativas en el cerebro, así como un cerebelo más complejo y otras características relacionadas, pueden comprenderse mejor si se analiza los presuntos requerimientos vitales de los primates primitivos en su relación con la vida arborea.

Australopithecus afarensis, probablemente fue el primer homínido donde todas las propiedades biológicas necesarias para la aparición del Hombre y la cultura estaban ya esbozadas, hace unos 3,5 a 4 millones de años. Dichas propiedades se asentaron una vez "gatillado" el fenómeno de la cultura, probablemente por el *homo habilis*, hace unos 2,6 millones de años. La cultura acelerará el proceso enormemente, contribuyendo a hacer exponencial el incremento de la capacidad craneana hasta alcanzar en un plazo muy breve, en términos macroevolutivos, los límites de nuestra propia especie. Esta última en su variedad *Homo sapiens sapiens* se encargará de ocupar casi todos los espacios de nuestro planeta, incluido nuestro continente, América, el cual comenzó a conquistar hace unos 40.000 años y donde han tenido lugar interesantes fenómenos de tipo microevolutivo.

SIMPOSIO: "LA VERSATILIDAD DE LA PCR. (POLIMERASE CHAIN REACTION)"

Coordinador: Dr. Romilio Espejo

AMPLIFICACION POR PCR DE DNA EN CONCENTRACIONES MENORES DE DIEZ MOLECULAS BLANCO POR MUESTRA. (DNA amplification by PCR of ten or less target molecules per sample). Escanilla, D., y Espejo, R. Unidad de Virología, Facultad de medicina, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Después de la infección primaria por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) queda un pequeño número de células mononucleadas de la sangre con el DNA viral integrado (1/1.000 hasta menos que 1/100.000). Por lo tanto, para detectar en las etapas tempranas el DNA viral es necesario amplificar, hasta una cantidad suficiente, 10 o menos moléculas por muestra. Aquí presentamos un procedimiento para la amplificación de secuencias en concentraciones cercanas a una copia por muestra.

La reacción de amplificación es realizada en un pequeño volumen, 26 ul. con el objeto de ahorrar enzima manteniendo una concentración adecuada, por 38 ciclos. El producto específico es identificado por tinción con nitrato de plata, después de electroforesis en minigeles de poliacrilamida. La sensibilidad, eficiencia de amplificación, especificidad y reproducibilidad de la técnica se estudió en muestras con concentraciones conocidas de DNA blanco, utilizando plasmidios recombinantes o DNA de células infectadas, diluidas en DNA de células humanas. Este procedimiento permite la detección de hasta una molécula por muestra, o de un provirus en 150,000 células. Un control interno, consistente en dímeros de los partidores generados por la amplificación, permite examinar la efectiva amplificación aún en ausencia de moléculas blanco.

ESTUDIO DE POLIMORFISMOS EN UN LOCUS VNTR EN LA POBLACION CHILENA; POR LA TECNICA DE PCR. (PCR analysis of VNTR locus polymorphisms in Chilean population). Carvallo, P.; Jorquera, H. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las regiones VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) localizadas en el DNA humano, presentan una alta variabilidad alélica, y por lo tanto han sido muy utilizadas como marcadores genéticos. El análisis de estas regiones ha sido aplicado a una gran variedad de problemas como, ligamiento genico, medicina forense y paternidad. La variabilidad alélica de estos loci es debida a un número diferente de secuencias idénticas repetidas en tandem en cada individuo. El locus VNTR MCT-118 posee secuencias de 16 nucleótidos, repetidas desde 21 a 45 veces dentro de la población. Para este estudio utilizamos la técnica de PCR, con el fin de amplificar este locus y estudiar su variación poblacional en Chile. A partir de muestras de sangre se preparó DNA humano y utilizando partidores específicos se amplificó el locus VNTR MCT-118. Se determinó el tamaño de cada fragmento amplificado y se estableció la frecuencia de cada uno de los 25 alelos encontrados, en la población chilena. Con este estudio se ha establecido una técnica relativamente simple y de mayor exactitud que las existentes en Chile, para el análisis de paternidad y de identificación forense. (Financiado por Instituto Medico Legal).

PCR, UNA ALTERNATIVA PARA EL AISLAMIENTO DE GENES: OBTENCION Y SECUENCIACION DEL GEN QUE CODIFICA PARA RUSTICIANINA DE *Thiobacillus ferrooxidans*. (PCR, an alternative for the isolation of genes. Obtention and sequencing of the gene encoding for Rusticianin from *Thiobacillus ferrooxidans*). Nunez, L., Moreno, E. y Jedlicki, E. Dpto de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile. El *T. ferrooxidans* es una bacteria quimiolitotrófica, que obtiene su energía de la oxidación de ion ferroso a ion férrico. En el transporte de los electrones liberados participa una proteína periplasmática, la Rusticianina. Experimentos previos han demostrado que cultivos de *T. ferrooxidans* crecidos en presencia de Fe²⁺ como sustrato, poseen niveles mayores de esta proteína que cuando son crecidos en un medio con azufre elemental (S⁰). Con el fin de estudiar la regulación de la expresión del gen de la Rusticianina, es necesario previamente aislar dicho gen. Numerosos intentos para aislar este gen a partir de diferentes genotecas de DNA de *T. ferrooxidans* no tuvieron éxito, debido a la dificultad de contar con una sonda adecuada. La técnica de amplificación de DNA por la reacción en cadena de la polimerasa permitió, usando los partidores adecuados y DNA cromosomal de *T. ferrooxidans*, amplificar un fragmento de 265pb correspondiente a una secuencia interna del gen que codifica para la rusticianina. Este fragmento marcado radiactivamente fue utilizado como sonda para detectar dicho gen en una de las genotecas. Actualmente se obtiene la secuencia completa de este gen. (Proyectos PNUD/ONUDI, FONDECYT 0936)

AISLAMIENTO DEL GEN *ompF* DE *SALMONELLA TYPHIMURIUM* MEDIANTE AMPLIFICACION DIRECTA DEL DNA CROMOSOMAL POR PCR. ESTRUCTURA Y EXPRESION DEL GEN. (Isolation of the *ompF* gene by chromosomal DNA amplification using PCR. Structural and expression studies).

Venegas, A., Gómez, I., Martínez, R.I., Leiva, J. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Considerando cierto grado de homología estructural entre los genes de proteínas de membrana externa *ompC* de *Escherichia coli* y de *Salmonella typhi* y bajo el supuesto que esto podría ser válido para el gen *ompF* de *Salmonella typhimurium*, se diseñaron oligonucleótidos correspondientes a ambos extremos de la región codificadora de *ompF* de *Escherichia coli*. Luego se procedió a amplificar esta zona utilizando DNA cromosomal de la cepa *Salmonella typhimurium* LT2 mediante metodología PCR, en una reacción de 30 ciclos, con DNA polimerasa de *Thermus aquaticus*.

Se obtuvo un fragmento amplificado de 1.1 kb, el cual se insertó en el vector pKK233-2 que expresó la proteína *OmpF* bajo el control del promotor *lac*. Algunos fragmentos de restricción derivados de este vector fueron clonados en los derivados *mp18* y *mp19* de M13 y secuenciados. Al comparar las regiones codificadoras de *ompF* de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* se encontró una homología global del 65% a nivel de proteína.

Para clonar la región promotora de este gen se diseñaron otros 2 oligos: uno correspondiente a la secuencia de unión de *OmpR* de *Escherichia coli*, la cual antecede la región promotora de *ompF* y otro, derivado de la secuencia complementaria a la región codogénica correspondiente al segmento común existente en varias proteínas de membrana externa, entre Tyr301-Met307 de la secuencia de *OmpF* de *Escherichia coli*. En el primer oligo se incorporó además un sitio *EcoRI* y en el segundo, un sitio *HindIII*. Este fragmento se ligó directamente a M13_{mp18} y se secuenció integralmente recurriendo a diversos oligos como iniciadores para la reacción de secuenciación. Del análisis de secuencia de algunos clones obtenidos por PCR en reacciones independientes, no se detectaron diferencias, de modo que la fidelidad de la amplificación por PCR fue muy satisfactoria.

El gen *ompF* completo, incluyendo su promotor, fue reconstruido a partir de estos 2 clones parciales y se demostró su funcionalidad en *Escherichia coli* por análisis de Western blot.

Se concluye que es factible clonar genes directamente de DNA cromosomal usando la técnica PCR, basándose en secuencias nucleotídicas conservadas, aún cuando no exista un alto grado de homología en la región codogénica.

Financiado por proyectos FONDECYT 682/91 y AID 513-5542-6-SS-9668-00.

Utilización de PCR en el análisis de una región del genoma de *Thiobacillus ferrooxidans* con múltiples transposiciones de una secuencia de inserción. (Analysis by PCR of multiple transpositions of an insertion sequence in the genome of *T. ferrooxidans*). Cádiz, R., Gaete, L. y Orellana, O.

Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

Las secuencias de inserción son segmentos de DNA entre 0,8 y 1,5 kb que se encuentran en múltiples copias en el genoma de variados microorganismos y tienen la capacidad de movilizarse. En su estructura se pueden identificar genes que codifican para las funciones de transposición y secuencias repetidas invertidas en los extremos.

En el genoma de *T. ferrooxidans*, una bacteria acidófila que participa en la biolixiviación de minerales, se identificó una secuencia de inserción de 1.4 kb denominada IST₂. Como parte de la estrategia para analizar la distribución de IST₂ en el genoma de *T. ferrooxidans*, se diseñaron oligonucleótidos para amplificar por PCR, las secuencias de DNA adyacentes a dos IST₂ contiguas a partir del DNA de diferentes cepas de *T. ferrooxidans*. Se amplificaron segmentos de DNA entre 0,2 y 1 kb. Mediante la secuenciación de varios de los productos de amplificación, provenientes de las distintas cepas, se observó que al menos cuatro miembros de la familia IST₂ se insertaban en una región del genoma bacteriano no mayor que 0,9 kb. En una cepa se detectó que tres miembros de IST₂ se insertaron en esta región. El traspaso de las bacterias a medios de cultivo con diferente fuente energética provocó variaciones en los productos de amplificación a partir de las secuencias de inserción.

Financiado por Universidad de Chile.

EXPRESION GENICA DE PROTEINAS G_α DURANTE LA OOGENESIS Y EMBRIOGENESIS EN *Xenopus laevis*. ANALISIS POR PCR REVERSA. (Gene expression of G_α during oogenesis and embryogenesis in *Xenopus laevis*. Analysis by reverse PCR). Oñate, A. y Oñate, J. Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile y Dpto de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: M.Gatica). La técnica de reacción de la polimerasa en cadena (PCR), es de gran utilidad para amplificar copias de cDNA obtenidas a partir de mRNA. Por ser la técnica de PCR de gran sensibilidad, permite la cuantificación de pequeñas cantidades de un mRNA específico, a partir de RNA total. Utilizando esta técnica con algunas modificaciones, hemos detectado en oocitos de *Xenopus laevis* la presencia de 5 especies de mRNA codificantes para diferentes subunidades alfa de proteínas G. La expresión de mRNA para G_{αo} fue cuantificada en los diferentes estadios de la oogenesis, en la maduración y en estados tempranos de la embriogenesis, a partir de RNA total. Se encontró que el mRNA codificante para la subunidad alfa-o está presente en todos los estados de la oogenesis (I a VI), su cantidad es constante y corresponde a 3.5 µg/oocito, lo que equivale a 1.3 x 10⁵ moléculas. Esta concentración es similar a la encontrada para el protooncogen c-myc y superior a la encontrada para los protooncogenes c-fos y c-ras. Los transcritos para alfa-o también están presentes en los primeros estados embriogénicos analizados, pero el número de transcritos disminuye gradualmente desde la fertilización hasta el estado de gástrula. (FONDECYT 91-1136)

SIMPOSIO: "MECANISMOS DE CONTROL DE LA DIFERENCIACION CELULAR"

Coordinador: Dr. Ricardo Maccioni

UNKNOWN FEATURES OF CHROMOSOME TRANSPORT DURING MITOSIS IN LIVING CELLS. Bajer, A.S. and Mole-Bajer, J. Dept. of Biology, University of Oregon, USA.

Chromosome movements in endosperm of higher plant *Hae manthus* were analyzed with standard time-lapse light microscopy and in VEM (video enhanced microscopy). VEM bridges standard light and electron microscopy and allows one to follow details of the spindle organization in living cells with unmatched precision. Both control (untreated) cells and cells in a variety of experimental treatments were studied. The spindle organization in fixed cells (microtubules (MTs), kinetochores (Ks) and F-actin) was visualized with immunogold and immunogold-silver.

The following topics will be discussed: (a) self-reorganization of the spindle without polar constraints (in acentrifoliar spindle), (b) the role of Ks in dynamic organization of K-fibers, as indicated by injection of anti-kinetochore antibodies and (c) MTs dynamics and chromosome transport. Both K-transport and behavior of spindle inclusions, a behavior which provides important clues for the understanding of chromosome movements, will be discussed.

REGULACION DE LA EXPRESION DE LOS GENES HOMEOTICOS DE *DROSOPHILA*. (Regulation of homeotic gene expression in *Drosophila* Morata, G. Centro de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid.

Los genes homeóticos determinan los programas característicos de desarrollo de los distintos metámeros (parasegmentos) de *Drosophila*. Cada uno de ellos se activa en un dominio de expresión específico determinado por la actividad previa de genes maternos y de segmentación. Posteriormente, el dominio de expresión inicial es modificado por la actividad reguladora transcripcional de unos genes homeóticos sobre otros. En el presente trabajo hemos estudiado las interacciones de regulación entre los genes homeóticos *Sex comb reduced* (*Scr*), *Ultrabithorax* (*Ubx*), *abdominal-A* (*abd-A*) y *Abdominal-B* (*abd-B*). El gen *Scr* se expresa en el parasegmento 13, indicando que estos últimos reprimen su expresión en la parte posterior del cuerpo. Este fenómeno de regulación entre homeóticos ocurre posteriormente al establecimiento de la actividad inicial de *Scr*, sugiriendo varios niveles diferentes de regulación. Fenómenos similares de interacciones de regulación se dan entre *Ubx*, *abd-A* y *abd-B*. El estudio detallado de las interacciones entre *abd-A* y *abd-B* sugiere que *abd-A* puede ser activado transcripcionalmente por más de un mecanismo.

El significado de estas interacciones reguladoras ha sido estudiado utilizando genes de fusión en que los productos de *Ubx* y *abd-A* se expresan por promotores sensibles a temperatura no regulables por homeoproteínas. Los resultados indican que aún cuando estos genes de fusión no pueden ser regulados, sus productos pueden ser inactivados postranscripcionalmente por otros homeoproducidos. Este fenómeno, llamado supresión fenotípica, representa un método nuevo de interacción entre genes homeóticos.

MECANISMOS DE REGULACION GENETICA EN EL PLASMIDO PROMISCUO pLS1. (Gene regulation in the promiscuous plasmid pLS1). Gloria del Solar, José Pérez-Martín y Manuel Espinosa. Centro de Investigaciones Biotológicas, CSIC, Madrid, España.

pLS1 es un plásmido de estreptococos, totalmente secuenciado (4408 pb), multicopia y que confiere resistencia constitutiva a tetraciclina. Es capaz de replicar de forma autónoma en bacterias gram-positivas y gram-negativas. Hasta la fecha plásmidos con el replicón pLS1 han sido transferidos a muy diversos huéspedes en éste y otros laboratorios. La promiscuidad de pLS1 lo convierte en un sistema atractivo para estudios de expresión génica y su regulación. La replicación de pLS1 está mediada por la proteína iniciadora, RepB, la cual se une a una región del DNA que incluye tres secuencias de 11 pb directamente repetidas. Después de su unión, RepB introduce un corte específico de sitio y hebra, a 85 pb de su sitio de unión, en una región con estructura de tipo tallo-lazo. Ambas regiones constituyen el *ori(+)* de pLS1. El corte generado por RepB deja un extremo 3'-OH libre, el cual es extendido, probablemente, por la maquinaria del huésped. El producto final de esta etapa es una forma plasmídica bicatenaria con una hebra de nueva síntesis y otra monocatenaria. En una región físicamente alejada del *ori(+)*, denominada *ori(-)*, se inicia la conversión de las formas monocatenarias en bicatenarias, por un mecanismo aún desconocido y en el que parecen intervenir diversas proteínas del huésped. Por tanto, la iniciación de la replicación de pLS1 es la única etapa específica del plásmido. La expresión del gen *repB* está controlada a dos niveles interrelacionados por la proteína represora RepA y por una RNA "antisense", RNA II. Los genes *repA* y *repB* se co-transcriben desde el promotor *P_{Ag}*, dentro del cual existe un operador simétrico de 13 pb que forma parte del sitio de unión de RepB. La unión de RepA a su diana induce una fuerte curvatura en el DNA. La formación del complejo RepA-DNA constituye un impedimento estérico para la unión de la RNA polimerasa. Proyecto financiado por la CICYT (BI088-0449).

THE MECHANISM OF PROGRAMMED CELL DEATH IN THE BLASTOCYST OF THE MOUSE. Pierce, G.B., Gramzinski, R. and Parchment, R. Department of Pathology, University of Colorado School of Medicine, Denver, U.S.A.

Programmed cell death occurs in the inner cell mass (ICM) of the late blastocyst coincident with the loss of trophectodermal potential of the ICM. The paucity of fluid and cells precludes direct analysis to determine the mechanism of cell death. Accordingly, we used three lines of embryonal carcinomas as models of ICM: ECa247 as pretrophectoderm, P19 as embryonic epithelium and the embryoid bodies of C44 to serve as a source of fluid corresponding to that of the late blastocyst. ECa247 cells were killed in blastocoel fluid and in that of C44, but P19 cells were not. This suggested the possibility that normal pretrophectoderm might be killed by a toxin in blastocoel fluid. Accordingly, the fluid of C44 was analyzed and found to contain H₂O₂ (generated by the catabolism of polyamines by amine oxidases) in amounts toxic for ECa247 but not P19. If P19 cells were incubated in buthionine-SR-sufloximine (reduces glutathione peroxidase), these cells became sensitive to H₂O₂ suggesting that development of glutathione protective mechanisms is a part of the developmental program which protects cells from H₂O₂. Confirmatory studies were then conducted on normal blastocoel fluid and it too contained H₂O₂ in amounts lethal for malignant pretrophectoderm while sparing P19 cells. The data are compatible with the concept that programmed cell death is mediated via H₂O₂ generated by catabolism of polyamines.

SIMPOSIO: "MECANISMOS DE ADAPTACION"

Coordinador: Dr. Esteban Rodriguez

PAPEL ADAPTATIVO DE LA HORMONA MELANOCITO ESTIMULANTE (MSH). Adaptive role of the melanocyte-stimulating hormone (MSH). Iturriza, F.C. Centro de Estudios Endocrinos, Cátedra B de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.

Homeostasis aims at adapting living beings to the surrounding external or internal environment. Ever though almost every hormone contributes to homeostasis, ACTH and MSH are superlative in this sense, the former participating in stress and the latter being responsible for the adaptation to the background color.

Both neuroendocrine mechanisms involved in color adaptation and results indicating that in certain species MSH has an adaptive function affecting organs other than those of the pigmentary system will be dealt with in this lecture.

THE VASOPRESSIN SYSTEM IN ADAPTATIVE MECHANISMS: Pena, P.A.; Nürnberger, F. and Simon, E. Max Planck Institut für physiologische und Klinische forschung, Bad Nauheim und Institut für Anatomie und Zytobiologie, Giessen, Germany. Apart from its osmoregulatory functions in the kidneys, arginine-vasopressin (AVP) is modulating regulatory processes of the brain (e.g., drinking behavior, blood pressure, body temperature, biorhythms). Of particular interest is the paraventricular Nucleus (PVN) - septum AVO axis, control adaptive mechanisms of osmoregulation and thermoregulation. In the present study, the AVP content of several brain regions and blood plasma was studied after thermal adaptation (warm: 22°C, 6 weeks; cold: 5°C, 6 weeks; guinea pigs), during euthermia and hibernation (European hamsters), and after osmotic stimulation (guinea pigs, 48 h deprived from drinking water). The content of AVP was measured in punched tissue samples by application of radioimmunoassays (RIA). The localization of AVP-containing structures was visualized by immunocytochemical procedures. The adaptation to cold and warm ambient temperatures and osmotic stimulation generally resulted in decreased AVP contents of the septum, PVN, SON, and in the neural lobe. Tuberculum olfactorium and hippocampus tissues, which were taken for control, did not show differences in the AVP content in relation to the functional state. The two portions of the PVN displayed a differential reactivity pattern. As with osmotic stimulation, the decrease in AVP content was particularly pronounced in the lateral portion of the PVN in cold adapted guinea pigs and in the medial portion of the PVN in warm adapted specimens. In European hamsters, the hypothalamic nuclei and the septum were depleted of AVP during hibernation compared with euthermic winter or summer animals, which exhibited the strongest reactivity to AVP. These findings speak in favor of a specific involvement of both septum and lateral portion of the PVN in osmoregulatory functions. Supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Nu 36/2-2) and the Max Planck Gesellschaft.

PHOTONEUROENDOCRINE SYSTEMS AND THEIR ROLE IN ADAPTATION TO THE ENVIRONMENT. Oksche, A. Department of Anatomy and Cytobiology, Faculty of Medicine, Justus Liebig University of Giessen, 123 Aulweg. W-6300 Giessen, Germany.

Photoneuroendocrine systems are distinct from the apparatus for vision and optic reflexes. They receive crucial photoperiodic information from the environment and utilize it in the control of different biorhythmic and neuroendocrine functions. The discovery of photoneuroendocrine systems (Karl von Frisch, Ernst Scharrer) is a fascinating, exemplary story of biological research. This entire apparatus encompasses a retinohypothalamic projection, the pineal organ and the so-called "deep encephalic photoreceptor". It contributes toward the integration of extrinsic and intrinsic information essential for the control of vital autonomic functions. Thus the survival of the individual and the preservation have established close molecular, structural and functional relationships between pinealocytes and retinal photoreceptor cells. However, the nature of the deep photoreceptor has remained enigmatic in more than one respect. In future search for diencephalic primordia capable for photoneuroendocrine and biorhythmic differentiation, methods of molecular biology and embryology will be applied with highest priority. This type of analysis, however, should not overrule the necessity to gain insight into systemic and integrative aspects taking into account the entire organism.

RESPUESTA AL FRIO Y SALINIDAD EN VEGETALES (Responses to cold and salinity in plants) L. Mesa-Basso, M. Alberdi, J. Arvin, P.D.S., Caligari. Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile. **Department of Agricultural Botany, School of Plants Sciences, Universidad de Reading, U.K. Programa de Biología Vegetal, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca.

Los vegetales crecen y están expuestos a una variedad amplia de condiciones ambientales adversas. Condiciones de estrés tales como: falta de agua, naoxia, salinidad excesiva, temperaturas extremas, etc. gatillan en algunos casos, un conjunto de respuestas compensatorias. En plantas resistentes, el frío induce cambios en la composición química celular, proceso adaptativo que le permite sobrevivir sin daño permanente. Estas modificaciones cuali y cuantitativas serían el resultado de la activación similar en relación al estrés salino; sin embargo, no se dispone hasta el momento de una explicación molecular detallada. El efecto de las bajas temperaturas se estudió en plantas de raps (*Brassica napus*) resistentes y sensibles, y en plantas adultas de cohue (*Mothofagus dombevi*). Se entregan antecedentes de cambios cuali y cuantitativos de la composición lipídica en membranas tilacoides, de carbohidratos solubles, como también de cambios en la biosíntesis protéica. El efecto salino se analizó en plántulas, callos y tubérculos en cultivos comerciales de papa (*S. tuberosum*) y en especies silvestres. Los resultados sugieren que existen variaciones en la tolerancia a la salinidad y estos se expresan en obtenidos aspectos en cultivos in vitro e in vivo. Los datos obtenidos con genotipos silvestres pueden ser potencialmente aprovechables en programas de mejoramiento de las variedades establecidas.

Financiado: Fondecyt: Proyecto 0898/88, 0897/88 y 0898/91. The British Council y Dirección de Investigación, Universidad de Talca.

SIMPOSIUM "FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR"

SIMPOSIO: "MANIPULACION DEL DESARROLLO DE ANIMALES Y PLANTAS CON FINES PRODUCTIVOS"

Coordinadores: Dr. Claudio Barros y Dr. Luis Corcuera

Manipulación de la Fecundación en Mamíferos. (Manipulation of Mammalian Fertilization)

C. Barros, Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La fecundación en mamíferos supone un espermatozoide móvil para atravesar una cubierta celular, el cúmulo oóforo y debe tener además un acrosoma capaz de reaccionar para atravesar una cubierta acelar, la zona pelúcida. Formándose luego el cigoto por la fusión de las membranas gaméticas. Los eventos postfusión comprenden, además de la activación (*ruptura de los gránulos corticales, eliminación del segundo polocito y la activación metabólica*), la decondensación de la cromatina para la formación de los pronúcleos, fundamentales para iniciar el desarrollo. La barrera que representan la cubiertas se ha podido sobrepasar con la inyección de espermatozoides vivos y capacitados al espacio perivitelino o bien "taladrando" o "rasgando" la zona pelúcida, perforaciones a través de las cuales el espermatozoide puede alcanzar la membrana plasmática y fusionarse con el ovocito para formar el cigoto. Este último también se ha obtenido inyectando, espermatozoides o núcleos espermáticos al citoplasma ovocitario. Se ha demostrado que al inseminar mediante la inyección la frecuencia de anomalías genéticas no es diferente de aquella de la fecundación normal. Estas metodologías están abriendo no solo nuevos campos de estudio de la problemática del desarrollo de mamíferos sino que además permitirán aumentar la eficiencia del fenómeno reproductivo. Otra importante vía para aumentar esta eficiencia y facilitar el manejo genético es la clonación; la que se puede obtener por: a) *separación* de los primeros blastómeros o porciones de mórulas o blastocistos jóvenes o por b) *transplantes nucleares* la que tiene el potencial de producir un número ilimitado de individuos genéticamente iguales y el mayor clon conocido a la fecha es el de 11 bovinos nacidos vivos. Progenie con rendimientos de 1% en cerdo y 1 a 4% en bovinos se han obtenido por estos métodos. Fondecyt 749/91 y Fundación Rockefeller GA PS 91/01.

The mouse developmental control genes PRD-LIKE and PAX2. Two Projects, Reported by Westphal, H., Laboratory of Mammalian Genes and Development, NICHD/NIH, Bethesda, MD, USA.

Prd-like, a novel homeobox gene. Mahon, K.A.*, Hermesz, E.* and Jarnrich, J.**. *LMGD/NICHD/NIH and **DBB/CBER/FDA, Bethesda, MD USA. A novel murine homeobox gene, *prd-like*, has been isolated on the basis of structural similarity with the homeobox of the *Drosophila* genes *paired* and *gooseberry*. It is the most anterior of all known homeobox genes. In situ hybridization experiments have shown that the expression of *prd-like* in the 7.5 day embryo is confined to the rostral portion of the primitive ectoderm. Later during development, transcripts become progressively development, transcripts become progressively restricted to anterior ectoderm of the headfold. By day 9.5, expression is selectively observed in Rathke's pouch, the primordia of the anterior pituitary. Expression at this location continues through day 12, but is undetectable by 15 days of embryogenesis. This striking pattern of expression suggests a role of *prd-like* at earlier stages of development suggest a more general function of this gene in defining anterior structures of the embryo.

Functional analysis of the murine Pax-2 gene product. Dressler, G.R., LMGD/NICHD/NIH, Bethesda, MD, USA. The mouse paired-box genes were cloned based on their sequence homology with *Drosophila* segmentation genes. Pax 2 a member of the paired-box family, is transiently expressed in the embryonic kidney and neural tube, suggesting that the protein function during early mesenchymal condensation in the kidney and in neural development. Polyclonal Pax-2 antibodies detect two forms of the Pax-2 protein, produced by differential mRNA splicing, in the nuclei of the renal mesenchymal blastema and in differentiating neurons. In order to identify an in vivo DNA binding site and a potential target gene of the Pax-2 protein, antibodies were used to immunoprecipitate intact, Sau3A cleaved chromatin from embryonic kidney nuclei. The immunoprecipitated DNA was cloned into a plasmid vector, and the inserts were screened in a high resolution gel shift assay, using immunoaffinity purified Pax-2 protein. A promoter sequence was identified that bound Pax-2 and other transcription factors. A gene containing this promoter sequence was cloned from an embryonic kidney library. This gene is expressed at high levels in the embryonic kidney. The nature of this gene and its regulation by Pax-2 is currently under investigation.

MANIPULACION DEL DESARROLLO EN SALMONIDOS. (Developmental manipulations in salmonids). DIAZ, N.F. Departamento de Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

En el mejoramiento genético de salmonidos de cultivo, se han desarrollado metodologías que permiten alterar el curso de algunos eventos de la gametogénesis o del desarrollo. Los efectos de esas manipulaciones se aprecian de inmediato en la constitución genética de los individuos tratados y consecuentemente en su desarrollo posterior.

Describiré las metodologías referidas, su fundamento y aplicaciones tecnológico productivas, e ilustraré las que hemos desarrollado en nuestro país:

1. Aplicación de agentes físicos para evitar la expulsión del segundo polocito. 2. Aplicación de agentes físicos para evitar la primera división zigótica. 3. Irradiación de gametos para destruir su material genético.

Estas técnicas permiten obtener individuos poliploides o partenogénéticos, poblaciones mososexo, individuos con sexo revertido.

En nuestro grupo de investigación, trabajando con trucha arco iris y salmónes, aplicamos las técnicas descritas: estandarizamos la aplicación de choque térmico a ovas postfecundación obteniendo individuos triploides y tetraploides; la irradiación de espermios, cuyo uso ha permitido obtener individuos ginogenéticos, que han sido tratados hormonalmente para producir neomachos. A través de estos últimos es posible obtener poblaciones todo hembra.

Comentaré las relaciones de estos trabajos con tópicos de biología celular y del desarrollo.

Proyectos FONDECYT 1043/90; ANDES C 11001/90.

SIMPOSIO: "RETORNO DE CIENTIFICOS CHILENOS EN EL EXTRANJERO"

Coordinador: Luis Izquierdo

Symposium sobre el Retorno de científicos

País en desarrollo donde se cuenta con científicos que forman parte activa de la comunidad científica internacional, como en el caso de Chile, están expuestos a que éstos migren atraídos por mayores facilidades para el trabajo de investigación y por superiores niveles de vida cultural y económica.

No nos preocupan las estadías fuera del país de científicos en formación ni los viajes espaciados o frecuentes, todo lo cual es necesario para mantener contacto con científicos extranjeros. Nuestra preocupación se refiere a la emigración y al desarraigo.

El problema tiene dos fases: la retención de científicos en el país y el retorno de los que se han ido, por su voluntad o contra ella.

En una perspectiva económica superficial, retención y retorno pueden parecer alternativas equivalentes, y en competencia, para incrementar nuestra reducida comunidad de científicos; pero en un análisis más profundo se advierte que son soluciones muy distintas por las medidas que deberían adoptarse, el plazo en que pueden surtir efecto, su rendimiento y las expectativas de éxito.

El tiempo de que disponemos en esta Reunión de la Sociedad de Biología no permitiría analizar satisfactoriamente ambos problemas y por lo tanto dedicaremos éste symposium al RETORNO y en una próxima oportunidad no ocuparemos de la retención.

SIMPOSIO: "NUEVAS APROXIMACIONES A LA PRODUCCION BIOLOGICA"

Coordinador: Dr. Bernabé Santelices

BIOTECNOLOGIA Y AGRICULTURA (Biotechnology and Agriculture). Meza-Basso, L., Hubert, E., Sáez, J., Theodulov, C., Poblete, F., Espinoza, P., Vizcarra, G., Parra, C. y Contreras, A. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile y Laboratorio de Bioquímica Vegetal, Programa de Biología Vegetal, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca.

Dada la disponibilidad y calidad de los recursos naturales, la actividad agrícola en Chile se desarrolla bajo condiciones climáticas y ecológicas privilegiadas. No obstante, la productividad de los cultivos se ve afectada por pérdidas severas debido a factores ambientales adversos de naturaleza biótica y abiótica.

La biotecnología ha traído consigo la promesa de soluciones a estos problemas ya que ofrece la posibilidad de identificar, modificar y transferir de manera controlada genes para obtener nuevas variedades con características mejoradas que les permitan sobrellevar en mejor forma las enfermedades y plagas, las temperaturas extremas, la escasez de agua, los suelos excesivamente salinos, etc. Gracias a esta revolución tecnológica que involucra a todas las ciencias biológicas, se nos brindan posibilidades de subsanar además muchos de los impedimentos de expansión y mejoramiento en la productividad agrícola, sobre todo en las áreas marginales en donde las condiciones ambientales por lo general son adversas en cuanto a la calidad de los suelos. La aplicación de estas técnicas permitirá en el futuro cumplir el objetivo final de cualquier plan de fitomejoramiento de cultivos.

En relación a esta área del conocimiento, se presentan resultados de investigación básica realizados en nuestro laboratorio acerca del control de ciertas enfermedades virales y cómo abordar el control de insectos apoyado en la biotecnología, así como también, estudios del efecto salino y el de las temperaturas bajas sobre ciertos cultivos de interés agrícola.

Financiado: FNC 0898/88, FNC 0880/88, FNC 0128/91, PNUD RLA 83/003. Consejo Británico y Dirección de Investigación, Universidad de Talca.

ECOPHYSIOLOGICAL BOTTLENECKS IN TANK CULTURE OF THE SEAWEED *Chondrus crispus* (RHODOPHYTA). Craigie, J., Shacklock, P. and Staples, L. Institute for Marine Biosciences, National Research Council, Halifax, Canada.

Biomass production results from the appropriate combination of energy, nutrients and organism under conditions favourable for growth. Rapid loss of growth occurs in tank cultured *Chondrus* when seawater is improperly supplied with C, N, P and Fe. Examples of the performance of this alga will be used to show how some limitations can be corrected.

Ultimately, success in aquaculture depends upon obtaining strains having characteristics that are compatible with the culture system. The original *C. crispus* selected for cultivation was a male, clone T4. Subsequent selections yielded clones such as BH-H, female and BH-D, a sporophyte that has been used for the commercial production of lambda carrageenan. The screening procedure developed to isolate fastgrowing strains will be illustrated using data obtained with a highly productive new female clone, H-3.

C. crispus grown in our outdoor tanks responds linearly to irradiance. Photosynthetic efficiencies based on carbon conversion and total irradiance data have been calculated at 2.3% for a three month summer period, and 1.76% on an annual basis.

MODELLING THE IMPACT OF LAND TRANSFORMATION AND PRIMARY PRODUCTIVITY SYSTEMS ON ECOSYSTEM SUSTAINABILITY. Prado, C., Depto. de Ecología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

The primary synthesis of dry matter is accomplished through the photosynthetic activities of green plants. While great deal has been learned about the capabilities of individual leaves to assimilate carbon under controlled conditions, much less is known about the rate and efficiency of this process as it applies to plant communities or ecosystems. However, as natural landscapes are being transformed, a predictive understanding of the potential response of ecosystem productivity and sustainability is required. The complexity of factors influencing productivity are directly affected by transfers of materials across ecosystem boundaries which vary temporally with climate, spatial heterogeneity and in response to disturbance. This spatial and temporal variability requires scaling up of information from the site to the landscape which may be feasible using simulation models. At the site level, modelling is an important tool that can be useful for: studying the interactions of specific processes and perturbations; direct experimental research in areas of insufficient understanding; organizing results and findings of various studies; and as a complex and comprehensive bookkeeping facility of known relationships and processes as new understanding evolve. At the landscape level, modeling goals are to examine relationships between intra and intersite processes to gain an understanding of the mechanisms underlying these responses. In order to forecast landscape productivity and sustainability three major tasks should be addressed: (1) to describe processes which occur at specific locations on the landscape; (2) to characterize transport of energy and materials between locations and (3) to interface local transport processes in a landscape framework. The future directions in modelling should focus on hierarchical models in order to account for different levels of time and space scales to simulate ecosystem and landscape dynamics.

INTEGRATED AQUACULTURE FOR INCREASED PRODUCTION AND ENVIRONMENTAL IMPROVEMENT. Kautsky, N. Department of Systems Ecology, Stockholm University, S-10691 Stockholm, Sweden.

Aquaculture is usually practised as large monocultures and implies that man manipulates natural ecosystem processes and redirects energy flows in order to increase production of some demanded species. Like all monocultures, large scale aquaculture will usually result in negative environmental impacts.

However, cultivation of seaweeds, mussels and fish take place on different trophic levels and put entirely different demands on the environment, and also affect the ecosystem in completely different, or even opposite ways.

By using ecological engineering principles, these cultures can be integrated, resulting in an ecologically more complete system of cultivations, that more resembles natural ecosystems where nutrients and waste products are not accumulated but are instead recycled and used as a resource in the cultivation area.

The ecological resource requirements, and the generated wastes and environmental impacts of seaweed culturing, long-line mussel rearing, and salmon cage-farming in coastal waters will be compared and basic ecological engineering principles are discussed by a comparison of conventional throughput-based monocultures with an integrated recycling-based culturing system of seaweeds, mussels, and salmon.

Trabajos de incorporación

I

EL ANTIGENO DE 90 kDa DE FORMAS METACICLICAS DE *Trypanosoma cruzi*. (90 kDa antigen of metacyclic forms of *Trypanosoma cruzi*). González, J.¹ y Yoshida, N.². 1. Grupo de Parasitología, Universidad de Antofagasta, Antofagasta Chile. 2. Disciplina de Parasitología, Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo Brasil. (Patrocinio: E. Gómez-Silva).

El anticuerpo monoclonal 1G7 reconoce al antígeno de 90 kDa de las formas metacíclicas de *T. cruzi*.

Este anticuerpo monoclonal 1G7 y sus fragmentos Fab son capaces de bloquear la invasión de células Vero por formas metacíclicas de *T. cruzi* (cepas G y Tulahuen), y también opsonizar, aumentando en 6 a 7 veces la endocitosis del parásito por los macrófagos peritoneales de ratón. No obstante el desarrollo intracelular del parásito en células fagocíticas resulta interferido, observándose una significativa reducción de la densidad parasitaria en el período de 72 horas, lo cual es más evidente en el caso de la cepa G.

Los estudios de protección de ratones con antígeno de 90 kDa purificado, mostraron que más del 80% de los ratones inmunizados con 4 dosis de antígeno de 90 kDa e hidróxido de aluminio como adyuvante, resisten la infección aguda, desarrollando parasitemias bajas o subpatentes. Los sueros de estos animales, lisaron tripomastigotes metacíclicos de las cepas G y Tulahuen en presencia de complemento e inhibieron la invasión de células Vero por tripomastigotes de *T. cruzi*.

Estos sueros, inhibieron la ligazón del anticuerpo 1G7 a la glicoproteína de 90 kDa, indicando que contienen anticuerpos que compiten con 1G7 por un mismo sitio topográficamente relacionado en la molécula de 90 kDa.

Estos datos, más la observación de que macrófagos peritoneales de ratones inmunizados con antígeno de 90 kDa inhiben el desarrollo intracelular de *T. cruzi*, sugieren que en la inmunidad inducida por el antígeno de 90 kDa, los anticuerpos relacionados con el anticuerpo monoclonal 1G7, junto a las células fagocíticas, podrían actuar en el control de la proliferación del parásito.

III

EL ACIDO GLUTAMICO ESTIMULA LA LIBERACION DEL ACIDO GAMMA-AMINO BUTIRICO, EN EL CUERPO ESTRIADO. ESTUDIO IN VIVO, MEDIANTE LA TECNICA DE MICRODIALISIS. (Glutamic acid stimulates gamma-amino-butiric acid release from corpus striatum. In vivo study by microdialysis).

María Estela Andrés y Gonzalo Bustos. Lab. Farmacología-Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

El cuerpo estriado (CE) estructura subcortical del SNC, juega un importante rol en el control de los movimientos voluntarios. El CE recibe una importante aferencia desde la corteza de carácter excitatorio, cuyo neurotransmisor es el ácido glutámico y/o aspártico. Además, el CE presenta una extensa distribución de neuronas gabaérgicas, algunas de proyección y otras interneuronas.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la liberación de GABA in vivo y su posible modulación por el sistema glutamatergico, a nivel del CE.

Usando la técnica de microdialisis in vivo en el CE, se caracterizó la liberación de GABA, en ratas anestesiadas y además, se estudió el efecto de la infusión del ácido glutámico sobre el flujo basal de GABA. Sondeas de microdialisis fueron implantadas unilateralmente en el CE derecho y perfundidas a 2 μ l/min. El GABA fue cuantificado por HPLC acoplado a detección fluorométrica. La infusión con altas concentraciones de K⁺ (55-70 mM) indujo un aumento en el flujo de GABA; la omisión de Ca²⁺ del medio de perfusión, concomitante a un aumento del Mg²⁺ redujo significativamente el flujo inducido por K⁺ 55 mM. La perfusión con ácido glutámico (1-2 mM) aumentó significativamente el flujo de GABA. Este efecto fue revertido por CNQX, antagonista competitivo de los receptores tipo quisquálico/kainico de aminoácidos excitatorios.

Estos resultados sugieren que el sistema glutamatergico modula la liberación de GABA en el CE de la rata.

(Apoyado por Proyecto FONDECYT 744/90)

II

EL EFECTO INHIBITORIO DEL NEUROPEPTIDO Y (NPY) SOBRE LA NEUROTRANSMISION DEL CONDUCTO DEFERENTE (CD) ES MODULADO POR LA EDAD Y EL ESTADO HORMONAL DE LA RATA. (Age and castration modulate the inhibitory action of NPY on neurotransmission in the rat vas deferens). Marcela Bitran. Unidad de Regulación Neurohumoral, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J.P. Huidobro-Toro).

Para determinar si la acción inhibitoria del NPY sobre la neurotransmisión del CD es regulada por el estado endocrino del animal, estudiamos la acción de NPY sobre la contracción neurogénica del CD de ratas de distintas edades postnatales y de ratas adultas castradas y castradas tratadas con Testosterona (T). El CD se seccionó en sus mitades epididimarias (E) y prostáticas (P), en las que se estudió: a) Contracción muscular inducida por estímulo eléctrico (0.15 Hz, 70V, 1ms) en ausencia o presencia de NPY. b) Contenido tisular de NPY. La potencia de NPY para inhibir la contracción neurogénica en E disminuye con la edad, siendo 20 veces menor en la rata adulta (IC₅₀ > 1000 nM) que en la de 26 días (IC₅₀ 42 nM). La sensibilidad de P a NPY no cambia marcadamente con la edad. Los niveles circulantes de T en animales de 26 días son significativamente menores que los de animales adultos. La castración reduce el contenido de NPY en E y P; no modifica la sensibilidad a NPY en P, aumentándola en E (IC₅₀ 38 nM). La administración de T revierte los cambios de sensibilidad a NPY producidos por la castración. En consecuencia, la acción de NPY sobre las neuronas simpáticas del CD es regulada por el estado hormonal, el que afecta diferencialmente los extremos E y P. Proyecto FONDECYT 0767/90 y 0748/91.

IV

INTERACCIONES MACROMOLECULARES ESPECIFICAS ENTRE TAU Y EL SISTEMA DE LOS MICROTUBULOS (Specific macromolecular interactions between Tau and the microtubule system). Farias, G.A., Vial, C. y Maccioni, R.B. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y Centro Int. del Cancer y Biología del Desarrollo (ICC)

La proteína Tau asociada a microtúbulos contiene tres secuencias repetitivas a nivel de la región C-terminal, homólogas a las encontradas en la proteína asociada MAP-2. Investigamos los aspectos estructurales y funcionales de los dominios de Tau involucrados en su interacción con microtúbulos, su naturaleza antigénica y el papel de las secuencias repetitivas de Tau en esta interacción. Los péptidos sintéticos V187-G204 y V218-G233, que representan las dos primeras secuencias repetitivas, promovían el ensamblaje de tubulina, proceso dependiente de la concentración. Un menor efecto se observó con el fragmento V250-G267. Los péptidos de Tau competían por la incorporación de MAP-2 a microtúbulos. Experimentos de espectroscopia de fluorescencia revelaron un efecto perturbador de los péptidos de Tau sobre la fluorescencia del fragmento 8-II(422-434) del dominio de tubulina para la unión de Tau. La especificidad de la unión fue confirmada por la interacción de Tau y de péptidos de Tau con el anticuerpo monoclonal anti-idiotípico MT86.22. Experimentos de inmunotransferencia confirmaron la interacción de Tau con este anticuerpo que reconoce un epítipo en el dominio funcional de Tau. Los estudios demostraron: (a) Que péptidos de Tau reconocidos por el anticuerpo monoclonal contienen los principales determinantes antigénicos en los dominios de unión de Tau; (b) Que Tau y MAP-2 comparten determinantes antigénicos comunes a nivel de sus sitios de unión a tubulina. Los resultados apoyan la hipótesis que la región definida por las secuencias repetitivas de Tau y MAP-2 está involucrada en la interacción de estas MAPs con el sistema microtubular (Financiado por Conicyt (Proy.186/90) y "Council for Tobacco Research, USA").

V

SECUENCIACION Y ANALISIS ESTRUCTURAL DE LOS GENES QUE CODIFICAN PARA RIBULOSA 1,5-BISFOSFATO CARBOXILASA/OXIGENASA (RuBisCO) DE *Thiobacillus ferrooxidans*. (Sequencing and structural analysis of the genes encoding for Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from *T. ferrooxidans*). Víctor Pulgar y Eugenia Jedlicki. Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, U. de Chile.

El *Thiobacillus ferrooxidans* participa en el proceso de biolixiviación de minerales. Es una bacteria autótrofa y quimiolitotrófica que fija CO₂ atmosférico en una reacción catalizada por la RuBisCO. Se presentan los resultados de la secuenciación y caracterización estructural de los genes que codifican para la subunidad mayor (*rbcl*) y menor (*rbcS*) de RuBisCO de *T. ferrooxidans*. A partir de un plásmido recombinante (pRB-1), por análisis de restricción e hibridación, se determinó los fragmentos adecuados para ser subclonados en un derivado del fago M13 y secuenciados por el método de Sanger. La región secuenciada fué de 2229 nucleótidos. *rbcl* de 1422 nucleótidos y *rbcS* de 357 nucleótidos, codifican para polipéptidos de 473 y 118 aminoácidos respectivamente. Las proteínas Rbcl y RbcS de *T. ferrooxidans* muestran entre un 90 a un 55% y un 72 a un 58% de similitud respectivamente con RuBisCO de otras bacterias. En las secuencias aminoácídicas deducidas de ambas subunidades se encuentran los residuos (altamente conservados en otras especies) que participan en la catálisis y en el ensamble del oligómero. (Financiado por PNUD/ONUDI)

VI

DETERMINANTES DE VARIABLES TERMICAS Y ENERGETICAS EN REPTILES CONGENERICOS: IMPORTANCIA DEL NIVEL DE ANALISIS. (Determinants of thermal and energetic variables in congeneric lizards: consequences of the analysis level). Labra, A. Depto de Cs. Ecológicas, Universidad de Chile. (Patrocinio: M. Rosenmann).

En ectotermos, temperatura corporal y metabolismo son las variables más relevantes, pues modulan los presupuestos de energía calórica y alimentaria. Los determinantes fundamentales propuestos para explicar tales variables son: filogenia y ecología.

En este trabajo, se analizó el rol del ambiente térmico, en las variables mencionadas (y otras de la biología térmica y energética), en dos especies de lagartos del género *Pristidactylus*, que difieren marcadamente en las condiciones térmicas naturales.

Los resultados indican que las variables centrales mencionadas son conservadas. Sin embargo, las variables asociadas a éstas se modifican, siguiendo los patrones esperados según las condiciones ecológicas.

Se concluye que filogenia y ecología, sólo son los límites de un continuo, y que los resultados a obtener, dependen del nivel de análisis, es decir tipo de variable a estudiar, y la relevancia de ésta como reguladora fundamental.

Este trabajo fue financiado por los proyectos: FONDECYT 91-0842 y Beca Postgrado 91-091 (U. Chile).

VII

METABOLISMO MAXIMO, HIPOXIA Y DISTRIBUCION ALTITUDINAL: UN ESTUDIO INTRAESPECIFICO. (Maximum metabolic rate, hypoxia and altitudinal distribution: an intraspecific study). Novoa, F.F., y Rosenmann, M. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, U. de Chile.

Muchas evidencias indican que las aves pueden volar y vivir en ambientes de altura. Un alto gasto energético resultado del vuelo y de las bajas temperaturas, debe ser la situación en la cual las aves se enfrentan a la hipoxia de estos ambientes. El objetivo de este trabajo es establecer la respuesta metabólica máxima de una especie de passeriforme frente a una disminución del pO₂. Se intentará correlacionar esta respuesta con su distribución altitudinal.

Se estudiaron cuatro poblaciones de *Zonotrichia capensis* distribuidas entre 200 y 3500 m.s.n.m. Las mediciones de metabolismo máximo e hipoxia se realizaron en cámaras de bronce conectadas a un respirómetro de circuito cerrado, utilizando el método de He-O₂ y a 3 diferentes pO₂: 160, 106 y 85 Torr.

La respuesta metabólica de todos los individuos estudiados fue cuantitativamente la misma. Sólo existió disminución metabólica en la condición de mayor hipoxia (85 Torr).

A nivel intraespecífico, la resistencia a la hipoxia en las aves no se relaciona con su distribución altitudinal. Las poblaciones de altura no mostraron disminución metabólica en pO₂ ambientales cercanos a los existentes en sus lugares de captura.

Finaciado por FONDECYT 0841/91 y DTI N 2594. FF Novoa es becario de Fundación Andes.

VIII

CONDUCTAS DE FORRAJE EN ROEDORES: COMPARACIONES INTERFENOTIPICAS. (Foraging behavior of rodents: interphenotypic comparisons). Rodrigo A. Vásquez. Depto. de Ciencias Ecológicas, Fac. de Ciencias, Univ. de Chile. (Patrocinio: J. A. Simonetti).

El tamaño corporal y el tipo de locomoción determinarían la eficiencia de alimentación de roedores bajo distintas condiciones de distribución espacial del alimento y riesgo de depredación. Las explicaciones para las conductas de obtención de alimento han sido derivadas, de modo casi exclusivo, a partir de roedores heteróidos (cuadrúpedos-pequeños y bípedos-grandes), careciéndose de evidencia respecto a la conducta de otros grupos de roedores con fenotipos distintos.

En arenas de experimentación se manipuló la oferta de alimento y se aislaron distintas condiciones de riesgo de depredación. Se compararon dos especies cuadrúpedas de tamaño corporal grande (*Phyllotis darwini*) y pequeño (*Akodon olivaceus*), y una especie pequeña con tendencia al bipedalismo (*Oryzomys longicaudatus*). Ninguna especie presentó diferencias en su obtención de alimento ante distintas distribuciones de éste. *P. darwini* presentó las conductas de alimentación más cautelosas, disminuyendo su consumo de alimento ante aumentos del riesgo de depredación. *O. longicaudatus* no mostró diferencias entre condiciones de bajo y alto riesgo de depredación. Los fenotipos grandes y cuadrúpedos determinarían una mayor vulnerabilidad a la depredación.

(FONDECYT 847-89 y DTI 2596-9044).

IX

EFFECTOS DE LA DISTANCIA ENTRE PARENTALES SOBRE EL ESPACIAMIENTO ENTRE PARENTALES Y RECLUTAS (Effects of distance between parent plants on the spacing relationships among parents and recruits). Bustamante R. O., Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se propone un modelo gráfico de reclutamiento poblacional que explora las consecuencias de incorporar la distancia entre parentales sobre el espaciamiento entre plantas madres y sus reclutas, en presencia y en ausencia de granívoros.

Este modelo predice que cuando las plantas madres están muy alejadas entre sí, los granívoros pueden afectar este espaciamiento, pero que a distancias muy cercanas, estos organismos son irrelevantes.

Los supuestos del modelo y sus predicciones son contrastadas experimentalmente con Cryptocarya alba, especie de árbol perteneciente al matorral centro-chileno.

(Trabajo financiado por FONDECYT 847/ 89)

217

ACCIONES ANTIARRITMICAS Y CARDIOINHIBITORIAS DE UN DIALIZADO DE AJO EN AURICULAS AISLADAS DE RATA. (Antiarrhythmic and cardioinhibitory effects of garlic (*Allium sativum*) dialysate on rat atria). N. Martín, L. Bardisa, C. Pantoja, R. Román, M. Vargas y P. Quezada. Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Para estudiar los efectos de un dializado de ajo sobre la actividad cardíaca se administró éste en dosis crecientes a preparaciones separadas de aurículas aisladas de rata. La aurícula izquierda fue estimulada eléctricamente y la tensión desarrollada registrada mediante un transductor FT-03 conectado a un Grass 79B. La frecuencia de la aurícula derecha que latía espontáneamente fue registrada en un Harvard 350.

La administración simultánea de dosis acumulativas del dializado de ajo (0.1 a 3.5 mg/ml) a ambas aurículas, produjo efectos inótrópicos negativos y bradicardia en forma dosis-dependiente, respectivamente. La D₅₀ para la tensión fue de 1.54 mg/ml y para la frecuencia de 0.74 mg/ml. En otro grupo de experimentos, la aurícula izquierda a la que se indujo una arritmia ectópica, retornó progresivamente al ritmo eléctricamente generado, después de la administración en el baño de dosis crecientes del dializado de ajo. La arritmia desencadenada en la aurícula derecha por el isoproterenol (10⁻⁵M) fue también corregida por esta metódica. Cuando ambas preparaciones fueron incubadas previamente por 5 min con una concentración de 0.920 mg/ml de dializado, la administración de la dosis del isoproterenol que inducía la arritmia fue ineficaz para producirla.

Del presente estudio se concluye que este dializado de ajo presenta propiedades depresoras tanto sobre la tensión desarrollada por la aurícula izquierda de rata como sobre la frecuencia espontánea de la aurícula derecha. Este compuesto presenta además en este preparación una actividad antiarrítmica tanto preventiva como curativa.

Proyectos: Fondecyt 89-524; D.I. (U. de C.). 20.33.51.

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

BIOQUIMICA

218

AISLAMIENTO DE TRANSFORMANTES INVASORES A PARTIR DE UNA GENOTECA DE *Renibacterium salmoninarum*. (Isolation of invasive transformants from a genomic library of *Renibacterium salmoninarum*). Maulén, N., Aruti, D., Poblete, A. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. (Patrocinio: G. León).

La enfermedad bacteriana del riñón (Bacterial kidney disease, BKD), se caracteriza entre otros aspectos, porque el agente causal, *Renibacterium salmoninarum*, es un patógeno intracelular. Se conoce una gran variedad de microorganismos que penetran y sobreviven dentro de la célula huésped. Estudios relativamente recientes han comenzado a establecer las bases genéticas y moleculares que median la invasividad de algunas especies bacterianas, habiéndose identificado proteínas codificadas por el genoma bacteriano que determinan su capacidad invasora. En el caso del agente causal de BKD, estos mecanismos son aún desconocidos. En este trabajo se optimizó un test de invasividad para *R. salmoninarum* en cultivo en monocapa de células CHSE. La identificación de la bacteria en el interior de las células se realizó por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta, utilizando para ello un anticuerpo de conejo anti *R. salmoninarum*, como primer anticuerpo y como segundo anticuerpo se usó anti IgG de conejo hecho en cabra conjugado con FITC. Paralelamente, cultivos de células CHSE infectadas fueron fijadas para microscopía electrónica convencional, lo que aseguró inequívocamente la ubicación intracelular de la bacteria. Con el objeto de identificar algún(os) recombinante(s) que putativamente pudieran contener secuencia(s) responsable(s) de la capacidad invasora de *R. salmoninarum*, se utilizó el mismo tipo de ensayo con mezclas de transformantes (*E. coli* HB101) de una genoteca de este microorganismo construida en pBR322. En este caso la identificación de las bacterias intracelulares por IFAT, se realizó utilizando como primer anticuerpo IgG de conejo anti *E. coli* HB101. De las mezclas putativamente invasoras, se examinó cada transformante en experimentos individuales de invasividad. De éstos, se ha seleccionado al menos diez recombinantes que tendrían secuencia(s) génica(s) del agente causal de BKD comprometidas en invasividad. Actualmente se está realizando estudios de microscopía electrónica de transmisión, a fin de confirmar su ubicación intracelular. (Financiado por Proyecto Fondecyt 120/89 y por DIC-UACH).

219

DETECCION DE LA ENFERMEDAD BACTERIANA DEL RIÑÓN MEDIANTE HIBRIDACION *in situ*. (Bacterial kidney disease detection by *in situ* hybridization). Etcheagaray, J.P., Martínez, M.A., León G. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

En nuestro laboratorio se seleccionó tres sondas específicas que representan secuencias que distinguen al genoma de *Renibacterium salmoninarum*, microorganismo responsable de la enfermedad bacteriana del riñón (BKD) en especies salmonídeas. A fin de optimizar un sistema de hibridación *in situ* para la identificación de secuencias de DNA de *R. salmoninarum*, se utilizó las sondas marcadas con fotobiotina en extendidos de distintas cepas bacterianas. Asegurada la absoluta especificidad de las sondas frente a *R. salmoninarum*, se utilizó una de ellas, (pMAM29) en ensayos de hibridación con extendidos de tejido renal proveniente de salmones enfermos de BKD. Estos habían sido diagnosticados clínicamente y confirmados por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFAT). Sin embargo, la hibridación molecular confirmó su mayor sensibilidad, ya que muestras de tejido renal de salmón, utilizadas como control negativo, no sólo mediante la tinción de Gram, sino también por IFAT, resultaron positivas por el método de hibridación *in situ*. En razón del pequeño tamaño de las secuencias tónicas (la mayor de 154pb), se utilizó dos de ellas como sondas (pMAM29 y pMAM77) con las cuales se logró aislar alrededor de 20 clones específicos más grandes, a partir de una genoteca de *R. salmoninarum*. Esto permitirá además, montar con mayor certeza un procedimiento de detección de esta enfermedad basado en la técnica de PCR. Para ello, en una primera etapa, se ha utilizado el clon pMAM29, del cual se cuenta con los dos oligonucleótidos partidores. Al momento, se ha optimizado la reacción de amplificación del inserto de *R. salmoninarum* contenido en el DNA de pMAM29. Por otra parte, y en forma preliminar, utilizando altas cantidades de DNA de la bacteria, se ha logrado obtener la amplificación del mismo segmento génico. Los resultados obtenidos demuestran que este procedimiento podrá servir no sólo como instrumento diagnóstico simple para la enfermedad bacteriana del riñón, sino también para la detección de individuos portadores de la patología. (Financiado por Proyecto Fondecyt 120/89, por IFS 1779-1 y por la DIC-UACH)

220

ACTIVIDAD RNA POLIMERASICA EN HEPATOCITOS DE CARPA ACLIMATIZADAS A INVIERNO. (RNA polymerase activity in hepatocytes of winter acclimatized carp). Norambuena, L., Vera, M.L., Krauskopf, M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile

Anteriormente hemos demostrado que existen notables diferencias en la citoarquitectura de las células hepáticas de carpas acimatizadas a verano e invierno. Entre ellas, el nucléolo de hepatocitos de peces adaptados a invierno aparece con sus componentes disgregados mientras que en verano se observan entremezclados. Esta situación, junto con una disminución en la cantidad de RNA ribosomal en la estación invernal, nos ha llevado a postular que la transcripción de rRNA estaría regulada como parte de una respuesta compensatoria a los cambios estacionales que experimenta el medio ambiente de este ectotermo euritermal.

La primera etapa del presente trabajo ha tenido por objeto la determinación de la actividad RNA polimerásica en núcleos aislados de hepatocitos de carpas acimatizadas a invierno. Se prepararon núcleos de hepatocitos y se realizaron experimentos de transcripción. La actividad se midió como incorporación de ³H-UTP en material ácido insoluble. Se determinó actividad RNA polimerásica total y aquella atribuible a RNA pol I (insensible a alfa-amanitina). Los ensayos se realizaron a 10 y 20°C, que corresponden a las temperaturas del agua en invierno y verano, respectivamente.

Los resultados indican que un incremento de 10°C en la temperatura de ensayo, aumenta la velocidad inicial de la actividad RNA polimerásica total ($Q_{10} = 3.1$). No fue posible medir velocidad inicial en la actividad de la pol I, ya que rápidamente (30 seg) la enzima alcanzó su máxima velocidad, sin diferencias significativas entre las medidas a 10 y 20°C. Este resultado indicaría que la RNA pol I que está "unida" a DNA ribosomal terminaría de elongar cadenas cuya transcripción había comenzado antes del aislamiento de los núcleos y que estos eventos de elongación serían escasos durante la estación invernal, lo que significaría que la cantidad de enzima "unida" a DNA sería muy baja. (FONDECYT 0007/90, 905/91, DI UACH S-90-15).

222

RNA EN EL NUCLEO DE ESPERMATOZOIDE DE DISTINTOS ORGANISMOS. EVIDENCIA DE snRNP NATIVOS. (RNA in the sperm nucleus of different organisms. Evidence for native snRNP). Delgado, F. y Pessot, C. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: Luis O. Burzio).

Experimentos *in vivo* de incorporación de ³H-uridina en testículo de rata demostraron que los RNA que se encuentran en el núcleo de espermatozoide habrían sido sintetizados probablemente antes de la segunda división meiótica. Análisis electroforético del RNA marcado extraído de espermatozoides, presentó bandas discretas que migraron como U-RNAs. Con el objeto de demostrar la universalidad de este hallazgo se extrajo RNA de espermatozoides de distintos organismos, entre ellos: mamíferos, aves, peces, moluscos, etc. Análisis electroforético de dichos RNAs mostró perfiles similares. En el caso de espermatozoides de moluscos se demostró por análisis de "Northern blot" la presencia de al menos RNAs U5 y U6. Mediante el uso de anticuerpos anti-5m de pacientes con lupus eritematoso, se demostró por análisis de "Western blot", la presencia de algunas proteínas asociadas a los RNAs en los organismos ya citados.

Se diseñó además una estrategia para demostrar que los U-RNAs y las proteínas asociadas están formando complejos snRNP nativos en el núcleo de espermatozoide. Los complejos ribonucleoproteicos separados por electroforesis nativa en una primera dimensión confirmaron la presencia de U-RNAs y las proteínas asociadas por análisis de "Northern blot" y "Western blot" en una segunda dimensión, respectivamente. Se discutirá la importancia de la existencia de estos complejos en el espermatozoide. (DID-UACH, FONDECYT 0063-90, STIFTUNG VOLKSWAGENWERK I-65 516).

221

Inducción de vitelogenina y receptores hepáticos de estrógeno durante la aclimatización de *Cyprinus carpio*. (Vitelogenin induction and estrogen receptors during the acclimatization of *Cyprinus carpio*) I. Hernández, M. Concha, R. Pessot*, and R. Amthauer. Instituto de Bioquímica and Instituto de Economía Agraria*, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

La carpa (*C. carpio*), como todos los ectotermos, ha desarrollado complejas respuestas compensatorias a los cambios de su habitat. Cíclicamente debe adaptarse a las características físicas de cada estación, i.e. temperatura y fotoperíodo, para lo cual se reprograma tanto molecularmente como fisiológicamente. Hemos postulado que la adaptación reversible que caracteriza al proceso de aclimatización implica conmutaciones en la expresión génica.

En la búsqueda de productos de transcripción regulados por RNA pol II que, por estar sometidos a control estacional puedan servir de modelo para estudiar la naturaleza molecular de su regulación, examinamos la inducción de vitelogenina por beta-estradiol en carpas macho, tanto en invierno como en verano. Los resultados obtenidos demuestran que la proteína se induce prontamente en peces acimatizados a la estación cálida, y que en cambio, las carpas de invierno esencialmente no responden a la inducción. Es de interés que las carpas aclimatadas a temperaturas bajas con un fotoperíodo de 12 h responden débilmente (en cerca de tres semanas posterior a la inducción).

Para explicarnos este hallazgo, postulamos que la diferencia detectada pudiera tener su origen en la capacidad de la hormona para unirse a sus receptores o en la cantidad de éstos, por un control de su expresión. Al investigar los receptores hepáticos de beta estradiol, en ambas, carpas acimatizadas a invierno y verano, identificamos algunas diferencias significativas en la K_d tanto en receptores nucleares como citoplasmáticos al ser tratados con la hormona. Actualmente se está realizando un análisis exhaustivo desde el punto de vista estadístico para interpretar las variables identificadas en cuanto a K_d y número de receptores en ambos compartimientos celulares, en peces tratados con la hormona y sus controles correspondientes. (Financiado por FONDECYT 905/91, DIC-UACH y OEA).

223

RNA β_2 MICROGLOBULINA EN NUCLEO DE ESPERMATOZOIDE DE RATON Y SU POSIBLE ROL EN EMBRIOGENESIS TEMPRANA. (β_2 Microglobulin RNA in the sperm head and possible function in early embryogenesis in mouse). LERAM, P., Zamora, P. Y BURZIO, L.O. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El momento en que ocurre la expresión de alelos paternos, provee una herramienta experimental para estimar la expresión del genoma embrionario. Es así como se determinó que en ratón una variante de β_2 microglobulina ($\beta_2 m$) de origen paterno se expresa al estado de dos células.

Nuestro laboratorio ha demostrado la presencia de RNA de alto peso molecular en el núcleo de espermatozoide y ha postulado la idea que el gameto aportaría al cigoto "RNA paterno".

Se aisló RNA de espermatozoide de ratón y, por análisis de "Northern blot" con una sonda oligonucleotídica de 50 MER complementaria a parte del exón 2 del RNA mensajero de $\beta_2 m$, se demostró la presencia de una o dos especies de RNA cuyos tamaños fluctúan entre 800 y 1000 nucleótidos.

La localización del RNA de $\beta_2 m$ en el núcleo del espermatozoide y en cigoto al estado de dos pronúcleos en ratón se llevó a cabo mediante hibridación *in situ* en cortes congelados de testículo y en cortes de cigoto con Digoxigenina 11-dUTP. (DID-UACH, FONDECYT 0063-90 Y STIFTUNG VOLKSWAGENWERK I-65 516).

224

LOCALIZACION DE U-RNA Y ANTIGENOS S_m EN EL NUCLEO DE ESPERMATOZOIDE Y EN CIGOTO AL ESTADO DE 2 PRONUCLEOS (Localization of U-RNA and S_m antigens in the sperm nucleus and fertilized zygote with both pronuclei).

** SCHROEDER, R. BRITO, M. Y *MOLINARI, E. ** I. BIOQUIMICA, * I. EMBRIOLOGIA UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. (PATROCINIO: I.I. CONCHA).

Nuestro laboratorio ha demostrado la presencia de RNA en el núcleo de espermatozoide. Análisis electroforético de RNA total reveló bandas con movilidads semejantes a U-RNAs extraídos de células HeLa. Análisis de "Northern blot" con sondas oligonucleotídicas marcadas con [α - ³²P]-dCTP en el extremo 3' reveló la presencia de aquellos U-RNAs implicados en el procesamiento de transcritos primarios (U1, U2, U4, U5, U6).

La localización inequívoca de estos U-RNAs en el núcleo de espermatozoide se llevó a cabo por histoquímica de hibridación *in situ* en frotis de espermatozoides y en cortes congelados de testículo por medio de sondas oligonucleotídicas (anti-sense y sense) marcadas con Digoxigenina 11-dUTP y en forma paralela con [α - ³²P]-dCTP. Consecuentemente con esto, se demostró en espermatozoide mediante análisis de "Western blot" los antígenos S_m correspondientes a las proteínas asociadas a los U-RNA que componen los sn-RNP.

La presencia de snRNP en un núcleo transcripcionalmente inactivo, como es el caso de espermatozoide, permite sugerir un rol en el procesamiento de transcritos primarios en el huevo recién fertilizado. La localización de U-RNA y antígenos S_m por las técnicas antes mencionadas en cigoto al estado de 2 pronucleos permitirá postular la idea de un complemento paterno epigenético. (DID-UACH, FONDECYT 006390 y STIFTUNG VOLKSWAGENWERK I-65 516).

225

RNA MENSAJERO DE PRO-OPOMELANOCORTINA (POMC) ESTA PRESENTE EN EL NUCLEO DE ESPERMATOZOIDE DE RATA. (Pro-opiomelanocortin (POMC) messenger RNA is present in rat sperm nucleus.) Yañez, A. y Concha, I.I. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile

Se ha creído tradicionalmente que la expresión del RNA mensajero de POMC ocurre sólo en pituitaria. Estudios recientes han detectado mRNA POMC, como así los péptidos originados del precursor proteico, en una serie de tejidos entre los cuales el más importante es testículo.

Nuestro laboratorio ha demostrado la presencia de RNA de alto peso molecular poliadenilado en el espermatozoide de rata. RNA total de espermatozoide se hibridó con una sonda oligonucleotídica complementaria a la región ACTH de POMC marcada radioactivamente. El mRNA POMC en espermatozoides al igual que en testículo es de aproximadamente 800 nucleótidos, y es más corto que el reportado en pituitaria.

Estudios de hibridación *in situ* en cortes congelados de testículo con sonda oligonucleotídica marcada en el extremo 3' con digoxigenina 11-d-UTP, localizaron el mRNA POMC en el citoplasma de células de Leydig, espermatozoides y en el núcleo de espermatozoides.

La presencia de mRNA POMC en el núcleo de espermatozoides sugiere que esta información podría ser aportado al cigoto después de fertilización. Esto implicaría, además, un rol insospechado de POMC durante desarrollo temprano. (DID-UACH, FONDECYT 0063-90 y STIFTUNG VOLKSWAGENWERK I-65 516).

226

LOCALIZACION DE ALGUNAS SECUENCIAS DE INSERCIÓN EN EL GENOMA DE *Thiobacillus ferrooxidans* (Localization of some insertion sequences in the genome from *T. ferrooxidans*). Cádiz, R. y Gaete, L. Depto. Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

Thiobacillus ferrooxidans es una bacteria gram-negativa acidófila que utiliza ion ferroso o compuestos de azufre reducido como fuente de energía. Por estas características cumple un papel fundamental en la biolixiviación de minerales. Se ha detectado en el genoma bacteriano la presencia de una secuencia de inserción (elementos genéticos móviles que pueden participar en reordenamientos genómicos) denominada IST₂. Se ha postulado que la movilización de IS podría estar asociada con la adaptación del microorganismo con fenómenos de variación fenotípica observados en la bacteria. El objetivo de este trabajo era la identificación de las secuencias de DNA adyacentes a IST₂ y el efecto de cambios en la fuente energética sobre la posición de estos elementos en el genoma. Se postuló que mediante la reacción de PCR era posible amplificar a partir de DNA genómico los segmentos de DNA localizados entre dos IST₂. Se analizaron varias cepas de *T. ferrooxidans* cultivadas en medio con Fe²⁺ como fuente de energía, observándose en algunas de ellas productos de amplificación que varían entre 0,2 y 1,0 kb. Mediante la secuenciación del DNA amplificado de distintas cepas de *T. ferrooxidans*, se comprobó que las IST₂ detectadas se insertaban en una región del genoma de 0,9 kb. Se analizó la secuencia de los sitios blanco y de la región de las inserciones. Actualmente se encuentran en desarrollo algunos experimentos para conocer la localización de este segmento de DNA en el genoma bacteriano. Experimentos preliminares indicaron que el cultivo de *T. ferrooxidans* en presencia de diferentes fuentes energéticas provocó variaciones en los productos amplificados por PCR.

Financiado por FONDECYT y Universidad de Chile

227

IDENTIFICACION Y SECUENCIACION DE GENES DE RNA RIBOSOMAL DE *THIOBACILLUS FERROOXIDANS* (Identification and sequencing of rRNA genes from *T. ferrooxidans*). Sagredo, B. y Orellana, O. Dpto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

T. ferrooxidans es una bacteria acidófila que utiliza como fuentes de energía la oxidación de ion ferroso o de compuestos de azufre reducido. Debido a estas características fisiológicas y bioquímicas este microorganismo participa en la biolixiviación de minerales. Un estudio detallado de los fenómenos de expresión génica en esta bacteria puede contribuir a un mejoramiento del proceso industrial en que participa. En trabajos previos identificamos la presencia, en el genoma de *T. ferrooxidans*, de al menos dos operones de rRNA denominados rrnT1 y rrnT2. Estos operones presentaban sitios de reconocimiento para enzimas de restricción similares en las regiones codificantes, pero había diferencias en las regiones espaciadoras y en los extremos de los operones. Se aisló a partir de una genoteca del genoma de *T. ferrooxidans* cepa Torma un plásmido recombinante (pTR-3) que poseía una porción de la región codificante del operón rrnT1. En este trabajo, mediante la generación de deleciones seriadas con exonucleasa III de un segmento del inserto en pTR-3 y posterior secuenciación de los DNA obtenidos por el método de terminación de las cadenas, se obtuvo la secuencia del extremo 3' del gen del rRNA 16S, la región espaciadora y el extremo 5' del gen del rRNA 23S del operón rrnT1. Se observó la presencia de dos genes para tRNA (tRNA^{Ala}, tRNA^{Ala}) en el espaciador. Este segmento de DNA era similar al descrito para la cepa A4, por Venegas, A. y col. (Nucleic Acids Res. (1988) 16: 8179.). Se diseñaron oligonucleótidos específicos para amplificar por PCR la región espaciadora del operón rrnT2. Actualmente se encuentran en desarrollo los experimentos para determinar la secuencia de este segmento del genoma bacteriano. (Financiado por FONDECYT y Universidad de Chile)

228

AISLAMIENTO, SECUENCIACION Y EXPRESION DEL GEN QUE CODIFICA PARA RUSTICIANINA DE *Thiobacillus ferrooxidans*. (Isolation, sequencing and expression of the gene encoding for Rusticyanin from *Thiobacillus ferrooxidans*). Moreno, F., Nunez, L. y Jedlicki, E. Dpto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile. El *T. ferrooxidans* es una bacteria quimiolitotrófica, que obtiene su energía de la oxidación de ion ferroso a ion férrico. En el transporte de los electrones liberados participa una proteína periplasmática, la Rusticianina. Experimentos previos han demostrado que cultivos de *T. ferrooxidans* crecidos en presencia de Fe^{2+} como sustrato, poseen niveles mayores de esta proteína que cuando son crecidos en un medio con azufre elemental (S^0). Con el fin de estudiar la regulación de la expresión del gen de la rusticianina, es necesario previamente aislar dicho gen. En este trabajo se presentan las estrategias utilizadas para aislar y secuenciar este gen. A partir de DNA genómico de *T. ferrooxidans* y utilizando la técnica de PCR, se amplificó un fragmento de 265pb correspondiente al 50% del gen que codifica para la Rusticianina, lo que fue comprobado posteriormente por la secuenciación nucleotídica de este fragmento. El segmento de DNA amplificado se utilizó como sonda para aislar el gen a partir de una genoteca de DNA de *T. ferrooxidans*. Experimentos conducentes a la obtención de la secuencia completa del gen y a estudiar su expresión en bacterias crecidas ya sea en presencia de Fe^{2+} o en S^0 están en curso. (Proyectos PNUD/ONU, FONDECYT 0936)

230

CLONAMIENTO DE LAS SUBUNIDADES α Y β DE LA CASEINA QUINASA II DE *Xenopus laevis*. (Cloning of the α and β subunits of casein kinase II from *Xenopus laevis*). Hinrichs, M.V., Jedlicki, A.M. y Connelly, C. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La Caseína quinasa II es una proteína quinasa que fosforila residuos de treonina y serina. La holoenzima es un tetramero que contiene dos subunidades α o α' (o una de cada una) y dos subunidades β . El estudio de esta enzima es de alto interés pues está involucrada en los procesos de diferenciación y proliferación celular. Con el objeto de caracterizar esta enzima hemos procedido a clonar los genes que codifican para ambas subunidades. A partir de una genoteca de cDNA de ovocitos de *Xenopus laevis* y utilizando como sonda un polinucleótido sintético, análogo a una región del gen, se obtuvieron dos clones que codifican para la subunidad α . Ambos clones de cDNA son iguales en su región codificante pero diferentes en el extremo 3' no codificante. Los genes secuenciados presentan un alto grado de conservación respecto de otras especies analizadas. Con respecto a humano se encuentra un 94% de homología a nivel de aminoácidos y un 62% a nivel nucleotídico. Como nuestro interés es estudiar su actividad catalítica este gen ha sido subclonado en el vector de expresión PT7-7. Para clonar la subunidad β se diseñaron dos partidores utilizando las secuencias de otras especies ya publicadas. A partir de la misma genoteca de cDNA de *Xenopus laevis* se amplificó por PCR un fragmento de 380 pares de bases. La secuencia nucleotídica obtenida difiere de las de otras especies, sin embargo la secuencia aminoácídica es 100% homóloga al gen humano. Este fragmento se utilizará como sonda para pesquisar el gen completo usando la genoteca ya mencionada.

Apoyado por FONDECYT y The Council for Tobacco Research.

229

ESTUDIOS SOBRE EFECTO DE METALES Y PEPTIDOS INHIBITARIOS EN LA CASEINA QUINASA II DE *Xenopus laevis*. (Studies about the effect of metal ions and inhibitory peptides on casein kinase II from *Xenopus laevis*). Tellez, R. y Gatica, M. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La Caseína quinasa II (CQ II) ha sido purificada a partir de nucleos aislados de ovocitos de *Xenopus laevis*. Se caracterizó en mayor detalle esta enzima con respecto a la utilización de Mg^{+2} y Mn^{+2} y de ATP y GTP como dadores de fosfato. La concentración óptima de Mg^{+2} es 7mM mientras que para Mn^{+2} es de sólo 0,75mM. Usando Mg^{+2} el Km_{app} para ATP es de 12 μM mientras que con Mn^{+2} es de 1.5 μM . El Km_{app} para GTP es de 20 μM con Mg^{+2} mientras que es de 4 μM con Mn^{+2} . Con Mg^{+2} la V_{max} obtenida con ATP es superior que con GTP mientras la situación es inversa con Mn^{+2} , siendo GTP el sustrato más eficiente.

En base a estudios previos que evidenciaron la inhibición de la CQ II por copolímeros al azar de glutámico y tirosina, se ensayaron péptidos sintéticos de las siguientes secuencias definidas: YEEEEEEEEEE, EEEEEEEEEEE, EEEEEEEEEYY y DDYDDDDYDDD preparados por el Dr. S. Pongor (CGEB). Los resultados obtenidos indican que el péptido que tiene las tirosinas en el amino terminal es significativamente mejor inhibidor que el péptido que tiene estos residuos en el carboxilo terminal. También se observó que el péptido que contiene aspártico en vez de glutámico es un inhibidor más eficiente. Estos resultados sugieren que la CQ II reconocería a estos péptidos como pseudosustratos en los que el hidroxilo de la tirosina reemplazaría al hidroxilo de la serina o treonina de los verdaderos sustratos.

Apoyado por FONDECYT y The Council for Tobacco Research.

231

DESARROLLO DE SONDAS OLIGONUCLEOTIDICAS PARA EL DIAGNOSTICO DE ROTAVIRUS Y VIRUS RESPIRATORIO SINICIAL*. (Use of oligo nucleotidic probes for diagnostic of Rotavirus and Respiratory Syncytial Virus). Fernández, J.O. y Hernández, O., Unidad de Virología, INTA, Universidad de Chile. Mediante la utilización de oligonucleótidos sintéticos, se desarrolló un sistema de diagnóstico no radioactivo, para la detección de Rotavirus y Virus Respiratorio Sincicial por hibridación molecular de punto. Los oligonucleótidos fueron elegidos de la región del gen que codifica el polipeptido Vp7 de Rotavirus, entre los nucleótidos 33-72 y del extremo 5' del gen que codifica para la ribonucleoproteína de VRS, entre los nucleótidos 130 y 159. Los oligonucleótidos fueron marcados con Biotina-7-dATP, incorporada a la sonda mediante el sistema de deoxinucleotidil transferasa terminal. La especificidad y sensibilidad de la hibridación para la detección de Rotavirus fue evaluada en 303 muestras que incluían 37 electrofrotipos distintos de Rotavirus. La de VRS fue evaluada con 64 muestra clínicas, que incluían los subtipos A y B de mayor incidencia. Los resultados demuestran que la hibridación de punto, usando la sonda de 30 bases para la detección de VRS, reconoce específicamente los subtipos A y B, así como aislados virales de pacientes con cuadros de infección respiratoria aguda baja. El uso de la sonda de 40 bases para la detección de Rotavirus demostró que la hibridación fue más específica y sensible que la electroforesis en geles de poliacrilamida y Elisa.

Financiado por proyecto FONDECYT 389 y SAREC.

232

TRANSCRIPCIÓN IN VITRO DE VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA (IPNV): ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS ASOCIADAS A LA TRANSCRIPCIÓN.* (in vitro transcription of IPNV: Enzymatic activities related to transcription). Pizarro, J.M. Unidad de Virología. INTA. Universidad de Chile.

IPNV, miembro de la familia *Birnaviridae*, es el agente causal de cuadros infecciosos altamente contagiosos y mortales en peces salmonídeos confinados en pisciculturas. Es un virus icosaédrico sin envoltura, con una cubierta proteica y que posee un genoma constituido por RNA de doble hebra bisegmentado. Se ha descrito la existencia de cuatro polipéptidos asociados a la partícula viral: VP2, el polipéptido más abundante del virión y otros tres polipéptidos denominados VP1, VP3 y VP4. El análisis de la secuencia aminoacídica indica que VP1 podría corresponder a la actividad de RNA polimerasa asociada al virión. En nuestro laboratorio se ha determinado que este polipéptido es capaz de unir nucleótidos (GTP y ATP), sugiriendo además que se trataría de una GTP binding protein. Se realizan experimentos para definir si se trata de la guanililtransferasa viral. Al realizar ensayos de transcripción in vitro en presencia de [³²P]-GTP y analizar los productos de la reacción mediante PAGE, se encontró marca tanto en los dos mensajeros como en el genoma viral. Previamente se ha postulado que el mecanismo de transcripción sería semiconservativo, sin embargo se realizan estudios con nucleasas para dilucidar si este tipo de marcación de productos ocurre por este mecanismo o por replicación in vitro del genoma.

*Financiado por Fundación Andes Proyecto C-11001, e IFS: Proyecto A/1844-1.

234

UBICACIÓN DE 2 MUTACIONES TERMOSENSIBLES EN REPLICACIÓN DEL BACTERIOFAGO PM2 EN EL SEGMENTO VIRAL PstI-AvaI DE 7.5 kb (Localization of the PM2 gene of replication in a viral DNA fragment PstI-AvaI of 7.5 kb). Martínez, J. y Canelo, E. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El genoma del bacteriófago PM2 está constituido de una molécula de DNA circular, sobreenrollada de 10 kb que se replica por el modelo del círculo rotatorio. En nuestro laboratorio se han aislado 2 mutantes termosensibles defectivos en replicación del DNA viral que corresponden a un gen de replicación. Como parte de nuestro objetivo de caracterizar el mecanismo de replicación de PM2 nos interesó ubicar estas mutaciones del gen de replicación en el mapa físico viral.

La digestión doble del DNA de PM2 con las enzimas de restricción PstI y AvaI genera un fragmento de DNA de 2.5 kb y otro de 7.5 kb. Mediante técnicas de DNA recombinante hemos construido genomas virales híbridos con un segmento PstI-AvaI proveniente del fago mutante y el otro proveniente del fago silvestre en las dos combinaciones posibles. Después de transfección de la bacteria huésped, A. espejiana BAL31, se encontró que los fagos progenie presentaban el fenotipo defectivo en replicación cuando el genoma híbrido contenía el segmento de 7.5 kb proveniente de los fagos mutantes. Estos resultados localizan el gen de replicación del bacteriófago PM2 en el segmento PstI-AvaI de 7.5 kb del mapa físico viral.

Proyecto DTI B3043-9012

233

DESARROLLO DE UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA*. (Development of a diagnosis method for infectious necrosis pancreatic virus detection.) Sandino A.M. Unidad de Virología. INTA. Universidad de Chile.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) es uno de los agentes patógenos de peces de mayor incidencia, causando una gran morbilidad y mortalidad tanto en truchas como en salmones en cultivo. Este virus pertenece a una nueva familia de virus denominada *Birnaviridae*. Los miembros de esta familia corresponden a virus sin envoltura, con estructura icosaédrica y con un genoma bisegmentado de RNA de doble hebra. Actualmente en Chile no se dispone de un método de diagnóstico específico para confirmar la presencia de este virus en peces infectados. La electroforesis en geles de poliacrilamida ha resultado ser uno de los métodos más específicos y sensibles de diagnóstico para rotavirus. Teniendo en cuenta que el IPNV, pertenece a una familia de virus con características muy semejantes a la de rotavirus, se ha diseñado como método de diagnóstico la detección del RNA genómico viral mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. Este resulta ser un método rápido, de bajo costo y muy sencillo de realizar. Se estudia la especificidad y sensibilidad del método.

Financiado por Fundación Andes Proyecto C-11001 e IFS: Proyecto A/1844-1.

235

TROPISMO CELULAR DE AISLADOS DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA DEL TIPO 1 (VIH-1). (Cellular tropism of different HIV-1 isolates) Vojkovic, A., Asjo, B., Fenyo, E.M., y Espejo, R. Unidad de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Centro de Estudios Científicos de Santiago y Laboratorio de Virología, Instituto Karolinska.

Se han descrito algunos aislados de VIH-1 que son capaces de crecer tanto en linfocitos periféricos (PBMC) como en líneas celulares, y otros que solo replican en PBMC. Algunos autores sugieren que este tropismo celular, observado en VIH-1, estaría dado por las etapas tempranas del ciclo replicativo, es decir, la penetración y la transcripción reversa.

Para determinar cual o cuales etapas del ciclo replicativo de VIH-1 están involucradas en el tropismo celular, se realizó un estudio comparativo de crecimiento viral tanto en PBMC como en la línea celular linfocítica Hut-78, con diferentes aislados de VIH-1. El estudio consistió en determinar, a través de la técnica de PCR, la eficiencia de entrada del virus a la célula, el aumento o disminución del número de células infectadas en el tiempo, y si estos aislados virales son o no capaces de sintetizar RNAs mensajeros.

Nuestros resultados muestran que la eficiencia de entrada de los diferentes aislados virales a las células de la línea Hut-78 y PBMC son similares. Sin embargo, en la infección con aislados que no crecen en esta línea el número de células infectadas disminuye con el tiempo hasta desaparecer.

Por último, se logró detectar la síntesis de algunos RNA mensajeros en Hut-78 infectadas con estos aislados, aunque con diferentes grados de eficiencia entre un aislado y otro.

Estos resultados indican que, en los aislados estudiados, el tropismo celular de VIH-1 no está determinado por la entrada del virus a la célula, y que el o los factores involucrados pueden variar de un aislado viral a otro. (Proy. SAREC y FONDECYT 91-1099)

236

REPARACION DEL DNA DE UN PLASMIDO QUE CONTIENE FOTOADICIONES DE 8-METOXIPSORALENO EN *S.cerevisiae*. (Repair of plasmid DNA containing 8-methoxypsoralen photoadditions in *S.cerevisiae*).

Magaña-Schwencke, N., Institut Curie-Biologie, 26, rue d'Ulm 75231 Paris, France.

Los psoralenos en presencia de radiación ultravioleta cercana (365 nm, UVA) fotoreaccionan con el DNA formando lesiones (monoadiciones, puentes intercatenarios). La reparación de estas lesiones origina mutaciones y recombinación. Los mecanismos moleculares implicados en estos procesos no están bien definidos en los organismos eucariotes. En nuestro laboratorio empleamos la levadura como sistema eucariote modelo por sus ventajas para el trabajo genético y bioquímico. En *S. cerevisiae*, los tres sistemas fundamentales de reparación del DNA intervienen en la reparación de las fotoadiciones producidas por 8-metoxipsoraleno (8-MOP) sobre el DNA genómico.

Con objeto de conocer mejor estos procesos, he transformado cepas de *S.cerevisiae* (silvestre y mutantes en una de las vías de reparación) con un plasmido que contiene fotoadiciones de 8-MOP) y he medido luego la sobrevivencia del plasmido que refleja la capacidad de reparación de cada cepa.

Los resultados obtenidos indican que las monoadiciones y puentes intercatenarios son reparados por excisión-resíntesis con la misma eficacia para DNA endógeno o exógeno. En cambio, el sistema de reparación mutagénico así como el de recombinación presentan diferencias de actividad para la reparación de fotoadiciones según ellas se encuentren sobre el DNA genómico o plasmídico. Estas diferencias pueden estar relacionadas a la diferente complejidad de la molécula de DNA plasmídico *c/r* al genómico.

238

CLONAMIENTO DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO DE TRUCHA ARCOIRIS POR PCR Y SU EXPRESION EN *ESCHERICHIA COLI*. (Cloning of rainbow trout growth hormone by PCR and its expression in *Escherichia coli*).

Müller, J., Ocaranza, M.P., Havia, E. Laboratorio de Biología Molecular. Bios-Chile I.G.S.A. (Patrocinio: H. Yudavich).

La hormona de crecimiento es un polipéptido secretado por la glándula pituitaria anterior. En peces, se ha observado que la administración de la hormona homóloga o heteróloga acelera el crecimiento, mejora la utilización del alimento y aumenta la resistencia a enfermedades y a cambios en el medio ambiente. Estas propiedades crean grandes expectativas en el uso de la hormona para acortar el ciclo de producción y aumentar la sobrevivencia de los peces en cultivo.

Con este objetivo, a partir del cDNA de la hormona de trucha arcoiris (tGH), se amplificó la región correspondiente a la zona codogénica via PCR, mediante el uso de 2 oligonucleótidos derivados de la secuencia de los extremos del cDNA. El fragmento amplificado se ligó al vector de expresión pKK233-2 y se estudió la expresión por Western Blot en distintas cepas de *Escherichia coli*.

Con el fin de cuantificar el nivel de hormona, se produjeron híbridos secretores de anticuerpos monoclonales anti-tGH, 56 de los cuales han sido caracterizados por su capacidad de reconocer la hormona de trucha aislada de pituitaria y la hormona recombinante producida en bacteria. Mediante un test ELISA se detectó que la hormona producida en *E. coli* correspondió a un 0.18% de la proteína total. Los niveles máximos de expresión se obtuvieron en fase logarítmica temprana del crecimiento de la cepa JH109. Además, los anticuerpos monoclonales obtenidos están siendo utilizados para la purificación de la hormona por cromatografía de inmunospecificidad.

Estudios de compartimentalización mostraron que la hormona se encuentra formando parte de cuerpos de inclusión en la bacteria.

Estos resultados indican la factibilidad de producir la hormona de trucha en bacterias y utilizarla masivamente en piscicultura.

Financiado por proyecto FONDECYT 619/90.

237

ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI OMPC DE *SALMONELLA TYPHI* COMO HERRAMIENTA PARA DETECTAR REGIONES DE LA PROTEINA EXPUESTAS EN LA SUPERFICIE BACTERIANA. (Monoclonal antibodies anti *Salmonella typhi* OmpC as a tool to detect exposed regions of the protein at the bacterial surface).

Hinrichsen, J.P. Laboratorio de Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: A. Venegas).

Una herramienta analítica útil para el estudio de determinantes expuestos de proteínas de membrana externa de cepas bacterianas Gram (-) es el uso de anticuerpos monoclonales. De estos estudios es posible desarrollar ensayos de identificación de cepas bacterianas.

Se evaluó un panel de 26 monoclonales anti-porina OmpC de *S. typhi*, producidos en BIOS Chile. El antígeno utilizado en la producción de estos monoclonales se purificó del clon recombinante *Escherichia coli* pSTP2B1/UM302, que solo expresa OmpC de *Salmonella typhi*.

Se estudió la reactividad de los monoclonales frente a proteínas de membrana externa de *S. typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella paratyphi A* y *B* y *E. coli* por ELISA, PAGE-SDS y el correspondiente Western blot, y frente a bacterias enteras por ELISA. Del análisis del panel, una parte importante de los monoclonales dio reacción con LPS de *E. coli*, el cual, normalmente contiene la porina usada como antígeno. Se encontraron tres monoclonales (6A5, 6C12 y 9B5) que reaccionaron con trieros de porina OmpC de *S. typhi*, y también con bacterias *S. typhi* enteras. Estos monoclonales no reaccionaron con porinas de *E. coli*, pero sí lo hicieron con proteínas de membrana externa de otras *Salmonellas*. Para definir si las proteínas de *Salmonella paratyphi A* y *B* que reaccionaron con los monoclonales corresponden a porinas, éstas se ensayaron por ELISA luego de purificadas por los métodos usados para obtener trieros de porinas. Las bandas obtenidas en gels PAGE-SDS con estas proteínas fueron similares a las observadas para trieros de porina de *S. typhi* y *S. typhimurium*. Además, al calentar las muestras a 100°C se observaron bandas de peso molecular correspondiente a monómeros. A modo de comprobación, se procedió a estudiar la regulación de estas proteínas variando la osmolaridad del medio. Al crecer *S. paratyphi A* y *B* en medios de baja osmolaridad apareció una tercera banda en Western blot, como se ha descrito para *S. typhimurium*.

Se concluye que la proteínas de membrana externa de *S. paratyphi A* y *B* que reaccionan con estos 3 monoclonales, corresponden a porinas con determinantes expuestos comunes a aquellos de OmpC de *S. typhi*, pero que difieren de los de *E. coli*.

Financiado por proyectos FONDECYT 682/91 y AID 513-5542-6-S8-9068-00.

239

DNA MITOCONDRIAL: NIVELES DE DIFERENCIACION Y RELACIONES FILOGENETICAS ENTRE SUBESPECIES DE POCKET GOPHERS, *Thomomys talpoides*. (Mitochondrial DNA: levels of differentiation and phylogenetic relationships among pocket gophers subspecies, *Thomomys talpoides*).

Apfelbaum, L.I., Orrego, C. y Patton, J.L. Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley, USA. (Patrocinio: A. Spotorno).

Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se estudio la variación genética en un fragmento de 567 pb del gen mitocondrial citocromo *b* en 3 especies y 12 subespecies del complejo *T. talpoides* y una subespecie del grupo *T. bottae*. La comparación de a pares de las secuencias reveló la existencia de un amplio rango de valores entre las subespecies (1.8-14.8%). Algunos de estos valores se aproximan al nivel de diferenciación observados entre especies. El cladograma más parsimonioso, basado en 128 sitios filogenéticamente informativos, indicó que el complejo *talpoides* es monofilético en relación al grupo *bottae*, en coincidencia con otros criterios. Sin embargo, *T. talpoides* y *T. mazama* aparecen como grupos parafiléticos, lo cual está en desacuerdo con la definición sistemática. Las relaciones filogenéticas que resultaron usando "peso" en los caracteres que producen transversiones, fue diferente a la obtenida cuando los sitios no fueron "pesados". Estos resultados indican que la desviación observada en las transiciones influyen la filogenia, sin embargo las relaciones filogenéticas están en desacuerdo con las evidencias organizativas. La información de secuencias obtenida a partir de pieles secas de colección plantea la posibilidad de una relación filogenética más coherente con otros criterios. La tasa de divergencia del gen del citocromo *b* (calibrada con las secuencias publicadas para este gen en *Mus* y *Rattus* y datos fosiles del ancestro común), sugiere que el género *Thomomys* es más antiguo de lo que indican los registros fosiles.

240

DNA DE *Citrus limonum*. LOCALIZACION DEL GEN DE PAL. (C. *limonum* DNA. Localization of the PAL gene). Opitz, X., Seelenfreund, D., Pérez, L. M. (Dep. Bioq. Biol. Mol., Fac. Cs. Quím. Farm., U. de Chile).

Plántulas de *C. limonum* responden a la infección por fitopatógenos, induciendo a la fenilalanina amonio liasa (PAL). Sin embargo, se desconoce cuál es la ubicación de su(s) gen(es) dentro del genoma de esta planta.

Antecedentes experimentales obtenidos en el laboratorio sugieren la participación de elementos extra nucleares en la inducción de la PAL. Por lo tanto, es importante determinar la localización subcelular del gen(es) de PAL para comprender el mecanismo de defensa del tejido.

Se aislaron cloroplastos y mitocondrias de *C. limonum* mediante centrifugación diferencial, partición de fases y/o gradiente de Percoll. A partir de estas preparaciones organelares y homogeneizados totales de plántulas, se extrajo DNA usando el método del CTAB, posterior extracción con cloroformo y precipitación con isopropanol.

Los DNA obtenidos fueron caracterizados mediante el uso de enzimas de restricción, y su pureza se determinó hibridando con sondas específicas (dot-blot). Posteriormente, cada DNA fue hibridado con un cDNA aislado de poroto (pPAL 5).

Los resultados de las hibridaciones sugieren la presencia del gen ó genes de PAL en más de un compartimento subcelular.

Financiado por FONDECYT 91-0886 y 90-0066, y DTI 2950 (U. Chile). Se agradece la colaboración de M. Chiong y de J. Fernández.

241

ESTRUCTURA Y SECUENCIACION DEL GEN GENOMICO HUMANO PARACASEINA QUINASA II. (Structure and sequence of human genomic casein kinase II gene) Devilati, I. Carvallo, P. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La importancia de la caseína quinasa II (CKII) radica en estudios realizados en los últimos años, y que sugieren su participación en la división celular. Esta proteína quinasa fosforila enzimas relacionadas con la duplicación del DNA, la transcripción y algunos oncogenes. El conocer la estructura y secuencia de los genes genómicos para las subunidades α , α' y β , con sus respectivos promotores, es de gran importancia para estudiar la regulación de este gen. En este trabajo se presenta la amplificación del gen genómico para la subunidad α de CKII, por la técnica de PCR. Para esto se diseñaron partidores específicos para este gen, a partir de la secuencia del cDNA publicada en la literatura. Los fragmentos amplificados revelaron un tamaño exacto al esperado para el cDNA, y su secuencia resulta idéntica a aquella publicada en la literatura. Estos resultados indicarían que el gen humano para la subunidad α de CKII, no posee intrones. No hemos encontrado codones de término dentro de la secuencia, y los codones de inicio y término originales están presentes en la misma posición del cDNA. Esto indicaría que no estamos en presencia de un pseudogen. Además se han encontrado polimorfismos en la secuencia de este gen, en DNA proveniente de diferentes individuos. (FONDECYT 90-1186).

242

ESTRUCTURA GENOMICA DE LA SUBUNIDAD α DE CASEINA QUINASA II DE *Xenopus laevis*. (Genomic structure of the α subunit of *Xenopus laevis* casein kinase II). Wilhelm, V. y Aliende, J.E. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. La caseína quinasa II es una proteína quinasa constituida por 2 ó 3 subunidades en la forma α 2 ó $\alpha\alpha'\beta$ 2. La actividad de esta enzima se ha visto incrementada en células en activa proliferación. Este antecedente y el hecho de que diversas oncoproteínas nucleares son fosforiladas por esta enzima han sugerido que CKII estaría involucrada en la regulación de la proliferación celular. En nuestro laboratorio se han aislado y secuenciado dos clones de cDNA para la subunidad α de CKII de *X. laevis*. En base a esta secuencia, se diseñaron varios oligonucleótidos, los que fueron usados como parejas de partidores en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los fragmentos fueron amplificados usando como templado DNA de hígado de *X. laevis*. Los resultados obtenidos han demostrado que este gen contiene un mínimo de 6 intrones. Con algunas parejas de partidores se han amplificado dos fragmentos de diferente tamaño. La secuencia de dos de estos fragmentos indica que la variación en tamaño se debe a una diferencia en el largo de cada uno de los intrones. Además uno de estos fragmentos posee una región codificante exactamente igual al cDNA previamente clonado, y el otro presenta algunas variaciones en esta región. Se demuestra así la existencia de dos genes que codifican para la subunidad α de CKII de *X. laevis*. (FONDECYT 91-1309 y Council for Tobacco Research).

243

ANALISIS DE MUTACIONES O DELECCIONES EN EL GEN DE HORMONA DE CRECIMIENTO EN PACIENTES CHILENOS. (Analysis of mutations or deletions in the growth hormone gene in Chilean patients) Aguirre, E. y Benítez, R. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: Pilar Carvallo) La deficiencia de hormona de crecimiento es bastante frecuente en Chile. Una de las causas de deficiencia de hormona de crecimiento es la de tipo 1A, en cuyos pacientes se ha encontrado una delección del gen. Entre los pacientes chilenos analizados, hemos encontrados tanto en casos aislados como en dos niños provenientes de una familia, la delección del gen para hGH. Estos resultados se obtuvieron analizando el DNA genómico de estos pacientes por la técnica de Southern, y utilizando como sonda el cDNA humano para la hormona. En otros pacientes analizados se detectó la presencia del gen, a pesar de que los análisis clínicos revelaron ausencia de la hormona. Esta deficiencia podría corresponder a la de tipo 2, cuya mutación no ha sido descrita aún. Los análisis de RFLP realizados no descartan la posibilidad de que la mutación estuviera dentro del gen. Por esta razón hemos diseñados partidores específicos para amplificar el gen de hGH en estos pacientes y luego realizar la secuenciación de los fragmentos de DNA obtenidos, con el fin de pequizar una posible mutación. El diagnóstico genético molecular en los niños afectados por una deficiencia de hGH se hace imprescindible para un tratamiento adecuado de ellos. (Proyecto FONDECYT 90-1186 dirigido por Pilar Carvallo)

244

CARACTERIZACION DEL GEN *bstVIR* de *Bacillus stearothermophilus* V. (Characterization of the *Bacillus stearothermophilus* V *bstVIR* gene). Claudio Vásquez y Carlos Lobos. Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca. (Patrocinio: Aldo Solari).

El bacilo termofílico facultativo *Bacillus stearothermophilus* V especifica el sistema de modificación-restricción BstVI. Las enzimas componentes reconocen y actúan sobre la secuencia 5'-CTCAG-3' y son por lo tanto isosquízómeros del sistema XhoI. Los genes responsables de la síntesis de las enzimas R-BstVI y M-BstVI han sido clonados en *E. coli*, donde se expresan eficientemente. Experimentos de subclonamiento nos han permitido disectar el operón y obtener clones bacterianos que llevan ambos genes en forma independiente. Nos hemos abocado a caracterizar primeramente el clon que lleva el gen *bstVIR*, debido al interés que despierta al descifrar los mecanismos moleculares que hacen posible la viabilidad de clones cuyo fenotipo es *m^{r+}*. La secuencia nucleotídica del gen ha sido determinada y su producto, es decir, la endonucleasa BstVI, ha sido purificada a homogeneidad. Se ha preparado anticuerpos anti-BstVI en conejo, los que reconocen específicamente a su antígeno. Hemos detectado además actividad endonucleásica en los sobrenadantes de los cultivos de bacterias que llevan este gen. Este hecho no es compatible con una lisis celular. Además, cuando el gen es expresado en huéspedes permisivos al fago lambda, la cepa no es capaz de restringir al fago, sugiriendo que la enzima no sería funcional *in vivo*. Financiado por Fondecyt 8083/89.

246

EFFECTO INHIBITORIO DE LA REGION DEL PEPTIDO SEÑAL DEL GEN DE *ompC* DE *S. typhi* SOBRE LA EXPRESION DE *OmpC* ENDÓGENA DE *E. coli*. (Inhibitory effect of signal peptide region from *S. typhi ompC* gene on the expression of endogenous *E. coli ompC*). Rigotti, A., Gómez, M.L., Martínez, M.L., Vargas, A. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La expresión de *ompC* de *S. typhi* en *E. coli* determina inhibición en la síntesis de las porinas endógenas del hospedero (*ompC*, *ompF*). El efecto inhibitorio sobre *ompF* es a nivel post-transcripcional, pero el mecanismo represor sobre *ompC* de *E. coli* no ha sido definido, postulándose un efecto a nivel transcripcional (secuestro de *ompF* por promotor exógeno) o traduccional. Se propone precisar el rol de la zona promotora y del péptido señal del gen de *ompC* de *S. typhi* en la inhibición de la expresión de *ompC* de *E. coli*.

Se construyeron diferentes genes delante de *ompC* de *S. typhi*: pSTP26X que contiene sólo la zona codificante de *ompC*, sin la región promotora ni el extremo 5' del péptido señal y pSTPAPS y pSTP2DAPS con deleciones selectivas de todo el péptido señal o de su región central respectivamente, con integridad del resto del gen. La expresión de porinas se analizó mediante SDS-PAGE y Western blot.

En comparación a los controles, con efecto inhibitorio sobre *ompC* de *E. coli*, todas las construcciones con deleciones parciales o total del péptido señal de *ompC* de *S. typhi*, si bien expresaban la porina transformante, no demostraron efecto represor sobre la porina hospedera. Además, la inhibición no se correlacionó con la conservación de la zona promotora del gen de *ompC* transformante.

En conclusión, el fenómeno inhibitorio de *ompC* de *S. typhi* sobre *ompC* de *E. coli* no está determinado por la zona promotora del gen, sino que sería dependiente de la integridad de la región del péptido señal del gen transformante, sugiriendo la existencia de inhibición a nivel co- o post-traduccional.

Financiado por FONDECYT 682-91 y AID 513-3542-6-88-9068-00. A. Rigotti es becario de Fundación Andes.

245

EXPRESION DE LOS GENES DEL SISTEMA DE MODIFICACION-RESTRICCION DE *Bacillus stearothermophilus* V DURANTE LA ESPORULACION. (Genic expression of modification-restriction system from *B. stearothermophilus* V during sporulation). González, E., Saavedra, C. y Padilla, C.A. Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca. (Patrocinio: E. Hubert.)

Durante la esporulación de bacterias del género *Bacillus* ocurre una serie de cambios morfológicos, asociados a la expresión diferencial de una gran variedad de genes. Hemos analizado este proceso de expresión génica en *B. stearothermophilus* V, empleando como modelo de estudio los genes del sistema de modificación-restricción de esta bacteria. Para ello se ha establecido las condiciones de cultivo, a fin de obtener células tanto en crecimiento vegetativo, como en diferentes etapas del ciclo esporulativo. Se ha medido las actividades enzimáticas correspondientes a la endonucleasa (R-BstVI) y metilasa (M-BstVI), circunscribiéndose su detección al estado vegetativo y la primera etapa de esporulación. Los mecanismos moleculares responsables de este fenómeno han sido analizados mediante hibridación de ácidos nucleicos (Southern y Northern), como asimismo mediante transcripción *in vitro* en un sistema constituido por los genes en estudio, que han sido previamente clonados y la RNA polimerasa homóloga aislada de bacterias en diferentes estados de esporulación. Los resultados de tal análisis son presentados en este trabajo.

Financiado por Fondecyt 91-8127.

247

CARACTERIZACION FENOTIPICA DE LA MUTANTE TERMOSENSIBLE EN LA PROTEINA VP3 DE ROTAVIRUS DE SIMIO SA-II. (Phenotypic characterization of the simian rotavirus temperature-sensitive mutant in the VP3 protein). Vásquez, M., Spencer, E. Unidad de Virología, INTA. Universidad de Chile.

La partícula de rotavirus está formada por dos cubiertas polipeptídicas y un core central donde se ubica el genoma constituido por once segmentos de RNA doble hebra. La cubierta externa la constituyen los polipéptidos VP7 y VP4. La cubierta interna esta formada exclusivamente por el polipéptido VP6 y el core por los polipéptidos VP1, VP2 y VP3. Las partículas sin cubierta externa realizan la transcripción tanto *in vitro* como *in vivo*. Los mismos polipéptidos son los responsables de la replicación del genoma *in vivo*. Sin embargo la función de cada polipéptido en ambos procesos es desconocida así como su relación estructural en la diferentes partículas virales. Se ha determinado que VP3 es la guanililtransferasa viral utilizando partículas purificadas, pero su rol durante la morfogénesis viral es desconocido. Como una forma de determinar la función de VP3 se utiliza una mutante termosensible (TsB), que posee una mutación en el segmento que codifica para VP3. La caracterización de transcripción *in vitro* indica que la mutante no tiene la actividad guanililtransferasa alterada. Sin embargo, los resultados obtenidos al estudiar la morfogénesis demuestran que a la temperatura restrictiva está tiene alterada tanto la transcripción, replicación y la formación de la progenie, lo que sugiere que VP3 cumple otra función en la partícula fuera de guanililtransferasa.

* Financiado FONDECYT 1017 y Proyecto SAREC.

248

Caracterización Bioquímica de las Proteinasas de Carica Candamarcensis I
A Biochemical Characterization of Proteinases From Carica Candamarcensis I

C.E. Salas, L.M. Bravo, M. Gravina & H. Dewes.-
 Centro de Biotecnología U.F.R.G., & Laboratorio Biotecnología Fundacao
 Hemocentro de Sao Paulo / U.S.P. Sao Paulo.

Papaína, es el nombre con que se designa un conjunto de proteinasas presentes en el latex del fruto *Carica Papaya L.* La papaína posee múltiples aplicaciones industriales, gracias a su amplio espectro de acción proteolítica y a la relativa facilidad con que es obtenida.

Carica Candamarcensis L., es otra planta del mismo género que también produce latex, sin embargo, su actividad proteolítica es de 5 a 10 veces mayor que la del latex de *Carica Papaya L.*, (Baeza, Correa & Salas, 1990).

Para determinar las causas que dan cuenta de las diferencias en actividad proteolítica entre estos dos tipos de latex, hemos caracterizado bioquímicamente los componentes del latex *Carica Candamarcensis L.*

Los resultados obtenidos mediante experimentos por PAGE-SDS, PAGE en geles ácidos, isoelectroforesis, Western blot y estudios de actividad *In Situ*, después de PAGE revelan que entre un 50% a 70% de los componentes del latex *C. Candamarcensis L.*, son diferentes a los detectados en *C. Papaya L.*

Secuenciamiento del extremo NH2 terminal de una de las proteínas aisladas confirma la presencia exclusiva de esta enzima en *Carica Candamarcensis L.*

249

Búsqueda e identificación de cepas locales de *Bacillus thuringiensis*
(Search and identification of local strains of *Bacillus thuringiensis*) M. Humbert, P. Espinosa, C. Theodulos, J. Sáez, G. Viscarra, C. Padilla, C. Parra, L. Mesa-Basso. Programa de Biología Vegetal, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca.

La productividad de las especies de cultivo es afectada por el ataque de insectos que provocan pérdidas severas en el rendimiento. Uno de los enfoques para resolver este problema es la utilización de micro-organismos con propiedades entomopatógenas. El de mayor éxito ha sido la bacteria *Bacillus thuringiensis*, cuya actividad insecticida radica en una proteína de 140 kDa sintetizada durante la esporulación como protoxina. Esta molécula se solubiliza al pH alcalino del intestino medio de los insectos susceptibles, causándoles una parálisis inmediata del intestino y el cese de la ingesta.

Se han aislado cepas locales de *B.t.*, caracterizadas en cuanto a su perfil electroforético, morfología del cristal parasporal por microscopía electrónica, reacción inmunológica y ensayos de toxicidad contra larvas de *Heliothis zea*.

Se purificaron los DNAs *in situ* y se examinó la distribución de los plasmidios de alto y bajo PH. Se seleccionaron 3 cepas locales de acuerdo a este criterio. La localización de los genes se realizó mediante hibridación southern empleando una sonda sulfonada de 726 pb proveniente de una región conservada de la sub-especie *berliner*. En un caso, el gen de la toxina sería de origen cromosomal. Las cepas en estudio fueron digeridas con Hind III mostrando un perfil de digestión diferente entre sí y distinto al conseguido con la cepa comercial var. *Kurstaki*. Los fragmentos Hind III fueron transferidos a papel de nitrocelulosa e hibridados con la misma sonda.

Se trabaja en la tipificación serológica de estas nuevas cepas, en el clonamiento molecular de cada uno de estos genes y su expresión en *E. coli*.

Financiado: Fondecyt 91/0128 y PNUD/UNESCO RIA 83/003/009 y DIUT/310.

250

CARACTERIZACION DE UN PLASMIDIO QUE CODIFICA LA SINTESIS DE BETA-LACTAMASA EN *Shigella flexneri*. (Characterization of a plasmid coding for B-Lactamase in *S. flexneri*). Echeverría, V., Mondaca, M.A., Cid, H. Departamento de Microbiología, y Departamento de Biología Molecular, Fac. Cs. Biol. y Rec. Nat. Universidad de Concepción
Shigella flexneri es una bacteria de la familia enterobacteriaceae que frecuentemente presenta multiresistencia de origen plasmidial. La resistencia a ampicilina está dada por la síntesis de B-Lactamasa una enzima que hidroliza el anillo B-Lactámico de este antibiótico. El objetivo de este trabajo fue la caracterización de un plasmidio de una cepa de *S. flexneri* UCC129 que codifica la síntesis de B-Lactamasa.

Se estudió el nivel de resistencia de *S. flexneri* a Ampicilina (Amp) determinando la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por la técnica de dilución seriada en tubo. Se aisló el plasmidio por la técnica de extracción alcalina de Kado y Liu modificada por Rockelle y se visualizó por electroforesis en gel de agarosa al 0.7%. Se estudió la transferencia de la resistencia a Amp, por conjugación interrumpida en medio líquido, utilizando como cepa receptora a *E. coli* K-12 (AN^R). Se determinó el mapa de restricción del plasmidio transferido, responsable de la resistencia a Amp. La CMI para Amp fue de 4096 ug/ml. Las transconjugantes aisladas presentan una CMI entre 2048 y 4096 ug/ml y presentaron la misma banda de ADN extracromosomal que la cepa dadora. El peso molecular aproximado del plasmidio fue de 100 Kb. Se informan los sitios de restricción para EcoRI, EcoR5, BamHI, Sau 3A, HindIII. Las transconjugantes fueron obtenidas a tiempos cortos, 3 min y 5 min, lo cual permite concluir que la resistencia a Amp está mediada por un plasmidio de 100Kb altamente transferible, hecho muy positivo para obtención de cepas sobre o hiperproductoras.

D.I. Univ. de Concepción Proyecto 20.31.34
 Convenio GTZ DAAD-FONDECYT.

251

CARIOTIPO Y LOCALIZACION DE GENES EN POBLACIONES DE TRYPANOSOMA CRUZI MEDIANTE ELECTROFORENIS DE CAMPO PULSADO. (Karyotype and chromosomal gene location on *T. cruzi* populations by pulse field gel electrophoresis). Solari, A., Henrikson, J. y Petterson, U. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Biomedical Center, Univ. of Upsala.

El parásito *Trypanosoma cruzi* agente causal de la enfermedad de Chagas presenta una gran heterogeneidad de acuerdo a estudios previos de caracterización de la especie mediante: análisis isoenzimático, reactividad con lectinas o anticuerpos monoclonales y mediante RFLP del DNA kinetoplastídico. Como una manera de dilucidar la heterogeneidad dentro de la especie, hemos iniciado el estudio del cariotipo, así como la localización de algunos genes del parásito mediante electroforesis de campo pulsado.

Se analizaron 12 poblaciones de *T. cruzi* de Chile y 6 de Colombia. A su vez se utilizaron como control 2 poblaciones de *T. rangeli*, *S. serevisiae* y *S. pombe*. Del análisis de cariotipos mediante tinción con Bromuro de Etidio se desprende que cada población posee un número característico de cromosomas entre 15-20 y tamaño entre 450-2.200 k bases. El uso de 2 sondas de DNA pertenecientes a los genes SAPA y Cruzipaina y análisis de Southern, permitió clasificar a las poblaciones de *T. cruzi* en varios subgrupos.

Mientras las poblaciones chilenas se pudieron diferenciar en tres grandes grupos, las colombianas resultaron todas diferentes entre sí. Las poblaciones de *T. rangeli* no dieron señales positivas de hibridación reflejando la gran utilidad de estas sondas para distinguir entre tripanosomatídeos cercanos como son *T. cruzi* y *T. rangeli*.

Proyecto financiado por CONICYT-SAREC.

256

MODIFICACION DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE HIGADO DE RATA CON DERIVADOS DEL PIRENO. (Labeling of rat liver phosphoenolpyruvate carboxykinase with pyrene thiol reagents). Rojas, M.C., Encinas, M.V. y Cardemil, E. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, U. de Chile y U. de Santiago de Chile. (Patrocinante: L.Chayet).

Las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas (PEPKs), catalizan la descarboxilación de oxaloacetato a fosfoenolpiruvato y pueden ser dependientes de ATP o GTP según su origen. La enzima de hígado de rata utiliza GTP y puesto que tiene residuos de cisteína muy reactivos eno cerca del sitio del nucleótido, se investigaron las propiedades de esta región mediante modificación con pirenomaleimida y pirenoyodoacetamida. Ambos reactivos en cantidades estequiométricas con la enzima, la inactivan completamente y paralelamente se modifica un residuo de aminoácido que se identificó como la Cys 288. El GDP-Mn protege completamente de la inactivación.

El decaimiento fluorescente del pirenomaleimida en la enzima, es biexponencial. Esta heterogeneidad da cuenta de distintos microentornos sensados por la sonda, los que podrían deberse a la contribución de dos conformaciones de la enzima.

En presencia de un exceso de pirenoyodoacetamida, se incorporan dos moles de pireno por mol de enzima junto con la aparición de una banda de emisión ancha, centrada a 470 nm, propia de un dímero del pireno en el estado excitado (excímero). La secuenciación de los péptidos que contienen los sulfhidrilos modificados, permitió identificar una segunda cisteína reactiva.

Financiado por FONDECYT 90-004, 91-0046 y DTI Universidad de Chile Q 3068-9013.

258

DETERMINACION DE pKas DE GRUPOS IONIZABLES EN ENZIMAS MEDIANTE LA ECUACION DE SEGUNDO GRADO. (Determination of pKas of Ionizable Groups in Enzymes by Second Grade Equation). O'Reilly S., Salinas D. y Riveros M.C. Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso (Patrocinio: González-Lira G.).

El pKa de grupos ionizables en proteínas juega un rol esencial en su estabilidad y en su función. En enzimas, la determinación experimental del pKa de grupos catalíticos y su relación con la dependencia del pH de los parámetros cinéticos es un campo activo de investigación.

En este trabajo se propone el uso de un programa de regresión no lineal a la ecuación de segundo grado para el cálculo de los pKas de la enzima libre y de intermediarios enzima-sustrato, como también de los parámetros cinéticos independientes del pH: V_{max} y V_{max}/K_m , en sistemas enzimáticos que pueden ser tratados como ácidos dibásicos.

Trabajando con B-Glucosidasas de almendras, el tratamiento de los parámetros cinéticos dependientes del pH, obtenidos por regresión no lineal a la hipérbola, da por regresión no lineal a la parábola $pK_{E1} = 4,7$; $pK_{E2} = 6,0$ y $V_{max}/K_m = 7,35 E^{-3} \text{ min}^{-1}$, los valores bibliográficos de pK_E obtenidos en condiciones semejantes son 4,8 y 6,2.

Aplicando este método a datos bibliográficos de K_2/K_1 ap ($pH 7,21-8,71$) de la quimotripsina se obtiene $pK_{E1} = 6,77$; $pK_{E2} = 7,90$ y $K_2/K_1 = 3920 \text{ l/(Mseg)}$; los valores informados (método de Alberty) son 6,85; 7,95 y 3940 $l/(M \text{ seg})$, respectivamente.

De acuerdo a los resultados el método propuesto es aplicable a sistemas dipróticos, permite trabajar en un rango estrecho de pH y es adecuado para sistemas enzimáticos con pKas de grupos catalíticos cercanos.

Financiado por D.G.I., U.C.V.

257

PURIFICACION DE UNA ENZIMA B-GLUCOSIDASA ALTAMENTE ASOCIADA A UNA PROTEASA DE Cucurbita ficifolia. (Purification of a protease-associated B-glucosidase from C. ficifolia). Curotto, E., Torres, G. y Aguirre, C. Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocinio: Muñoz G.).

De la pulpa de la Cucurbita ficifolia (Alcayota) se purificó una enzima proteolítica; después de diferentes etapas de purificación aún se evidenció la presencia de actividad B-glucosidasa. La caracterización de las dos actividades enzimáticas mostraron que poseían el mismo peso molecular (60 Kd), igual estabilidad ante el pH (4-11) y temperatura (25-40°C).

El objetivo de este trabajo fue demostrar la presencia de una enzima multifuncional o una copurificación de la enzima B-glucosidasa y la enzima proteolítica.

La actividad B-glucosidasa se determinó frente al sustrato pNPG y la actividad proteolítica con azocógeno como sustrato.

La determinación de la constante de inestabilidad a 55°C ($0,098 \text{ min}^{-1}$) y la acción de inhibidores específicos (PMSF) indica que son dos proteínas diferentes que en las condiciones de purificación utilizada no se separaron.

Sin embargo, es posible la separación de la enzima B-glucosidasa utilizando cromatografía de exclusión en fracto gel TSK-HW-65 con fuerza iónica 0,5M. Etapas posteriores de cromatografía de intercambio iónico confirmaron la separación de estas enzimas.

Cuando la cromatografía de exclusión se realizó a una fuerza iónica menor, las dos actividades no se separaron y permanecen unidas incluso después de realizar cromatografía de intercambio iónico y de alta resolución (HPLC). Esto lleva a pensar que estas dos enzimas están asociadas en el fruto para cumplir su rol catalítico y pueden ser separadas a una fuerza iónica de 0,5M.

Proyecto DGI, Universidad Católica de Valparaíso.

259

PROTEINASAS MULTIMERICAS EXOCELULARES DE Frankia BR, UN ACTINOMICETO FIJADOR DE NITROGENO ATMOSFERICO (Exocellular multimeric proteinases of Frankia BR an actinomycete fixing atmospheric nitrogen).

Schwencke J.^{1,2}, Muller A.^{1,2}, Benoist P.^{1,2}, y Dien H.G.²

1) Lab. d'Enzymologie, CNRS, 91198 Gif-sur-Yvette, Francia

2) Lab. de Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales, ORSTOM/CIAT CIRAD, 45bis, Ave de la Belle Gabrielle, 94736 Nogent-sur-Marne, Francia.

Frankia pertenece a un grupo de bacterias Gram + capaces de endosimbiosis con plantas actinorizicas y de fijar el N-atmosférico tanto *in vitro* como *in-planta*. Los árboles actinorizicos, de rápido crecimiento, tienen interés económico como colonizadores de suelos arenosos, erosionados o en general pobres en nitrógeno asimilable.

Las características bioquímicas de Frankia son poco conocidas. Aislada recientemente (1978) crece con dificultad. Describimos aquí nuestras condiciones de crecimiento optimizadas y las principales características de su sistema proteolítico extracelular.

Nos interesan las proteinasas extracelulares de Frankia por el rol que puedan tener sea en su vida endosimbótica, sea en el proceso de infección.

El análisis por SDS-PAGE de concentrados (DEAE/6PG) extracelulares muestra 63 polipéptidos. El "pattern" de proteínas secretadas cambia durante el crecimiento y depende de las condiciones de cultivo. Al menos 15-20 proteasas son secretadas. Entre ellas 6 aminopeptidasas y 8 proteinasas de alta masa molecular (1300-270 kDa). Las mismas están presentes en extractos intracelulares. Las características bioquímicas, de microscopía electrónica e inmunológicas indican que la proteinasa multimérica de 1300 kDa (28 S) presenta semejanzas con la Megapaina (26 S) de eucariontes en tanto que aquella de 650 kDa (18 S) tienen similitudes con los prosomas o proteasomas (16 S) de células eucariotas.

260

XILANASAS Y ACETIL ESTERASAS DEL HONGO *Penicillium purpurogenum*. (Xylanases and acetyl esterases of the fungus *Penicillium purpurogenum*). Scarpa, J., Belancic, A., Egaña, L., Steiner, J. y Eyzaguirre, J. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, U. Católica de Chile, y Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Las hemicelulosas son un conjunto de heteroglucanos de la pared celular vegetal. Su componente principal es el xilano, constituido por una cadena de residuos de D-xilosa parcialmente acetilada y con ramificaciones de L-arabinosa y ácido metil D-glucurónico. En la hidrólisis del xilano, proceso de interés tanto en la naturaleza como en la industria biotecnológica, participan varias enzimas, (entre ellas xilanasas y acetil esterazas) cuyo número y mecanismo no es bien conocido. El objeto de este trabajo es el estudio de estas enzimas producidas por *P. purpurogenum*.

Se creció el hongo en un medio con paja de trigo como fuente de carbono (30 % de hemicelulosa) y medio de Mandels como fuente de nitrógeno y sales. A los 4 días de cultivo se obtuvieron sobrenadantes con 9,8 U/ml y 36,9 U/mg proteína de actividad xilanásica y 0,9 U/ml y 3,0 U/mg proteína de acetil esterasa. La cromatografía en gel P-100 de un concentrado del sobrenadante separa dos isoenzimas con actividad xilanásica. Una de ellas, xilanasa B, ha sido purificada a homogeneidad (cromatografía en DEAE-celulosa y CM-C50 y elución de un gel no desnaturante). La fracción A ha sido purificada parcialmente observándose por isoelectroenfoque al menos 2 actividades con distintos pI.

La xilanasa B es un monómero de 75.500 Da. Muestra máxima actividad para hidrolizar xilano de cáscara de avena a pH 5,0, y temperatura "óptima" de 50°. La xilanasa B es estable entre pH 4,0 y 7,0 y hasta 50°. Su punto isoelectrico obtenido por isoelectroenfoque es de 5,9.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT 89-580 y 90-0822 y UNIDO 91/065.

262

UNA FORMA GLICOSILADA DE ARGINASA RENAL HUMANA. (A glycosylated form of human kidney arginase). Torres, C., Silva, P., Oñate, E. y Carvajal, N. Depto. Biología Molecular, Facultad Ciencias Biológicas y Recursos Naturales Universidad de Concepción.

En este trabajo, se presentan evidencias que sugieren la presencia de especies glicosiladas de arginasa en el riñón humano. Apoyan esta conclusión los siguientes resultados: (a) la enzima es retenida muy fuertemente en una columna de Concanavalina A-Sepharosa, de la cual puede ser eluida en forma específica con glucosa o metil glucopiranosido; (b) la electroforesis en geles nativos de poliacrilamida al 10% revela la presencia de una banda de proteína con actividad arginásica y que da un derivado fluorescente al ser sometida a una oxidación con periodato y una posterior reacción con dansil hidrazina; (c) cuando la banda de proteína activa obtenida en el gel nativo es eluida del gel y luego sometida a una electroforesis en presencia de SDS, se observa una banda que corresponde a las subunidades de la enzima y que da reacción positiva con dansil hidrazina.

Los resultados obtenidos plantean una interrogante acerca del significado biológico de la modificación de la arginasa renal humana, lo que será analizado por nuestro grupo en el futuro. Por el momento, ellos sugieren una explicación para algunas observaciones anteriores de nuestro grupo. En efecto, con frecuencia se observa que preparaciones supuestamente purificadas de la enzima muestran una multiplicidad de bandas en geles de poliacrilamida en presencia de SDS, las que podrían explicarse por un grado variable de glicosilación.

Financiado por Proyecto FONDECYT 90-0261

261

CARACTERÍSTICAS COMUNES Y DISTINTAS ENTRE APIRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL. (Common and distinct characteristic between animal and plant apyrases). Jorquera, O., Kettlun, A.M., Pieber, M. Depto. Bioquímica y Biol. Molecular, Fac. Cs. Químicas y Farm. Universidad de Chile.

Se ha descrito cinéticamente la presencia de ATP-difosfohidrolasa o apirasa tanto en tejidos animales como vegetales. Estas características corresponden a la acción hidrolítica sobre los substratos nucleosidos di- y trifosforados con dependencia de catión bivalente. La función fisiológica de esta enzima, con actividad ATPásica-ADPásica, se relacionaría con el metabolismo extracelular de nucleótidos.

El presente trabajo muestra que además de estas características cinéticas comunes en enzimas de distinto origen hay similitudes en los posibles aminoácidos del sitio activo y en la existencia de epitopes comunes.

Los aminoácidos del sitio activo se estudiaron mediante modificadores químicos relativamente selectivos de grupos: tir, trp, -COO y -SH. En cuanto a la interacción con anticuerpos contra la enzima vegetal, se encontró que sólo la fracción microsomal solubilizada de apirasa animal es inhibida por estos anticuerpos. En tejido animal la reacción de inmunowestern blot sólo es positiva en fracciones de membranas parcialmente purificadas; en cambio, en tejido vegetal se detecta a partir del extracto.

Aparte de características comunes hay también diferencias importantes entre las enzimas de origen animal y vegetal en cuanto a la unión a membranas, masa molecular y pI.

FINANCIADO POR PROYECTO FONDECYT 90-1006.

263

Estudio de enzimas ligninolíticas del hongo *Corticium subvermispora*. C. Ruttimann, L. Salas y R. Vicuña. Laboratorio de Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

Los hongos de pudrición blanca son los más eficientes degradadores de lignina que se han descrito hasta la fecha. Por este motivo, también se han usado en experimentos de biopulpa, demostrando ser eficientes y selectivos en este proceso.

En este trabajo hemos estudiado la producción de enzimas extracelulares por 5 cepas de *C. subvermispora*.

Se observó que este hongo produce una peroxidasa dependiente de Mn (MnP), lacasa y una actividad productora de H₂O₂. Estudios de especificidad de sustrato indican que esta última actividad podría deberse a la presencia de más de una enzima. En ninguna de estas cepas se encontró lignina-peroxidasa, que ha sido propuesta como la principal responsable de la degradación de lignina en otros hongos.

Se hizo un estudio de las condiciones óptimas para la expresión de estas enzimas, encontrándose que Mn²⁺ es necesario para la producción de las tres actividades, lográndose un máximo a concentraciones de 11 ppm, mientras que alcohol veratrílico (VerOH) no induce la producción de enzimas en estos hongos. El oxígeno tampoco influye en la producción enzimática, pero sí tiene un efecto positivo en la degradación de ¹⁴C-DHPs. Con respecto al efecto de la concentración de nitrógeno en el medio, se ve una relación inversa entre la cantidad de MnP producida en cada caso y la mineralización de DHPs, lo que indica que podrían participar en este proceso otras enzimas aún no detectadas.

Trabajo financiado por proyectos Fondecyt Nº 824-90 y 0758-91.

264

DESARROLLO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTIADUCTO INDOL-FLAVINA (Development of monoclonal antibodies anti-adduct indole-flavine). *Díaz, M.*, y *Silva, E.* Departamento de Química Biológica, Facultad de Química, P. Universidad Católica de Chile.

La ingestión de triptófano (Trp) y riboflavina (Rb) es esencial en la alimentación humana. Sin embargo, se ha reportado que la presencia simultánea de ellos en nutrientes parenterales y medios de cultivo expuestos a la luz visible genera hepato y citotoxicidad respectivamente. El descubrimiento de la formación de una unión fotoinducida entre Trp y Rb ha permitido explicar estos efectos⁺.

En este trabajo se contempló la obtención de anticuerpos monoclonales (AMC) anti-aducto indol-flavina con el propósito de tener una herramienta de detección y purificación de este compuesto ya sea en suero o en cualquier sistema biológico o químico. Para ello se generó fotoquímicamente la unión de Rb a residuos de Trp químicamente enlazados a residuos de ϵ -lisina de albúmina de suero bovino (BSA) y a hemocianina de loco (KLH). Los sueros obtenidos después de inmunizaciones sucesivas de ratones Balb/c con la proteína modificada BSA-Trp-Rb se titularon mediante el test de ELISA. Se obtuvo una respuesta humoral significativamente mayor para BSA-Trp-Rb que para la proteína transportadora BSA. También se encontró una respuesta positiva para la proteína no relacionada con BSA, KLH-Trp-Rb que contiene el mismo hapteno.

Luego de efectuar una fusión somática para obtener híbridomas secretores de AMC contra el aducto, se obtuvieron una serie de clones que sólo reaccionan contra BSA-Trp-Rb y no contra BSA, lo que hace promisorios nuestros resultados.

⁺ Silva et al., *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 58, 394 (1988).

Se agradece a CONICYT (Beca doctorado) y Proyecto FONDECYT).

265

DEGRADACION DE UN COMPUESTO MODELO DE LIGNINA TIPO DIARILETANO POR UNA BACTERIA FILAMENTOSA (Degradation of a diarylethane lignin model compound by a filamentous bacterium).

Nimrichsen, P. Laboratorio de Bioquímica, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Desde hace algunos años, en nuestro laboratorio se ha estado estudiando la participación de las bacterias en la degradación de la lignina. Hemos aislado y caracterizado numerosas cepas provenientes de diversas muestras ambientales, usando como única fuente de carbono y energía compuestos modelo del polímero.

En este trabajo se presenta el aislamiento y caracterización de la primera cepa capaz de crecer en el dímero no fenólico 2-fenilacetofenona, o desoxibenzoína (DB), un diariletano derivado de benzoína. La cepa, perteneciente al orden Actinomyetales, familia Actinoplanaceae, esporula fácilmente formando diplobacilos, y en medios adecuados forma hileras de varias células.

El análisis por TLC, HPLC y GC-MS de sobrenadantes de cultivo ha mostrado que la degradación comienza con dos hidroxilaciones sucesivas del anillo más lejano al grupo carbonilo, probablemente en las posiciones 3 y 4. Así también, se observa la formación transiente de fenol y de p-OH-bencil alcohol. Otro compuesto fenólico, aún no identificado, se acumula y se degrada más lentamente (R_f TLC, 0,49). Este compuesto no se forma al incubar la célula con un inhibidor de dioxigenasas, como pirogalol (1 mM), al tiempo que se acumula fenol. Por el contrario, un inhibidor de monooxigenasas, como metirapona (100 μ M), también produce acumulación de fenol pero no inhibe la formación del compuesto de R_f 0,49.

Basados en estos antecedentes, se propone una vía de metabolización en que la degradación del dímero procede a través de la ruptura de un anillo, como para los bifenílicos, en lugar de entre los dos carbonos alifáticos, como acontece para otros compuestos tipo diariletano. Por otra parte, se está estudiando si la biosíntesis del fenol es a través de una reacción tipo Baeyer-Villiger, como ocurre en ciertas bacterias que degradan acetofenona.

Financiado por Proyectos FONDECYT # 0218-88 y 0758-91.

266

DEGRADACION DE COMPUESTOS MODELO DE LIGNINA POR UN CONSORCIO BACTERIANO PROVENIENTE DE "PALO PODRIDO". (Degradation of lignin model compounds by bacterial consortium from "Palo Podrido"). *Céspedes, R.* y *Vicuña, R.* Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Palo Podrido es un fenómeno de delignificación selectiva que ocurre en muestras de madera en descomposición en los bosques del sur de Chile. Nuestro grupo se propuso estudiar la presencia de sistemas bacterianos con capacidades ligninolíticas en muestras de Palo Podrido. Usando compuestos modelo de lignina y muestras de Palo Podrido en distintos estados de descomposición, se logró aislar un consorcio bacteriano compuesto en su totalidad por bacterias filamentosas, ocho en total, pertenecientes a las familias Actinoplanaceae, Dermatophilaceae y Streptomicetaceae.

Este consorcio, denominado PP6, a diferencia de las cepas que lo constituyen, crece y consume cuantitativamente varios dímeros de tipo β -O-4. Cuando cualquiera de estos compuestos está presente como única fuente de carbono y energía, no es posible detectar intermediarios de ruptura. No obstante, en presencia de antibióticos específicos, los cultivos del consorcio acumulan intermediarios que no son posteriormente metabolizados; así por ejemplo, al emplear veratrílglicerol- β -guaciléter como sustrato más estreptomycinina, se detectan acetoveratróna, ácido verátrico y quaiacol. Resultados similares aunque con menor eficiencia son obtenidos al emplear eritromicina, debido a que el consorcio es capaz de crecer a expensas de dicho antibiótico. Nuestro grupo ha encontrado en *Pseudomonas* que acetoveratróna proviene de la degradación de β -hidroxipropioveratróna, el cual a su vez se forma de la ruptura directa del enlace éter. Aunque éste último compuesto no ha sido detectado en cultivos del consorcio, algunas de las cepas aisladas, así como el consorcio, rápidamente convierten β -hidroxipropioveratróna en acetoveratróna, sugiriendo que estas bacterias filamentosas también catalizan la ruptura directa del enlace intermonomérico. Este trabajo ha sido financiado por Grant UNIDO-IGEB N990/013 (CRP/CHI88-03) y Fundación Consorcio Nacional Vida.

267

EFFECTO DE LA ANOXIA Y REOXIGENACION CELULAR: MODIFICACION DE PARAMETROS RELACIONADOS AL ESTRES OXIDATIVO EN HEPATOCITOS AISLADOS. (Cellular effect of anoxic and reoxygenation: Modification of oxidative stress-related parameters in isolated hepatocytes). *Campos, R., Morgado, N., Sanhueza, J. y Valenzuela, A.* Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. INTA, U. de Chile.

El daño funcional por isquemia y reperfusión involucra la participación de formas activas del oxígeno y degradación de fosfolípidos de membranas. Nosotros ya demostramos que una isquemia/reperfusión tisular produce una respuesta típica de estrés oxidativo (*Free Rad. Res. Comm.* 10, 259, 1990). Ahora, en una suspensión de hepatocitos, en la que se evalúa en forma controlada la expresión del estrés oxidativo de un sistema con estructura celular intacta, sin la influencia sistémica de un organismo entero, se pretende estudiar la respuesta a un estrés por anoxia/oxigenación y establecer el comportamiento de parámetros sensibles a este estrés tales como: el glutatión reducido (GSH), sistema de xantina-oxidasa (XO) / deshidrogenasa, (XDH) y productos de la lipoperoxidación como el malondialdehído (MDA). Los resultados preliminares muestran que durante una oxigenación hay síntesis de GSH, generación de MDA, y actividades XO y XDH constantes, con XDH principalmente en el intracelular. Un régimen de anoxia muestra una situación semejante. Sin embargo, la oxigenación de la preparación anóxica, aún cuando no influye sobre XO y XDH, produce una disminución del GSH y un aumento del MDA. Se propone que la presencia o ausencia de oxígeno modifica los niveles de GSH y MDA, sin que al parecer durante el período de anoxia se produzcan cambios en las actividades XO y XDH. Financiado por FONDECYT (1194-90) y Programa de Estudios Avanzados. U. de Chile.

268

STATUS OXIDATIVO EN LA INGESTA DE ACIDOS GRASOS N-3: EFECTO DE LA EDAD Y DE UN ANTIOXIDANTE. (oxidative status after intake of N-3 fatty acid: aging and the effect of an antioxidant). Garate, M., Otero, R. y Garrido, A. Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. INTA, U. de Chile. (Patrocinio: M.A. Perreta)

La ingesta de aceites marinos ha sido reportada como beneficiosa para la salud humana. Su contenido de PUFA N-3, le otorgan propiedades antiateroscleróticas e hipocolesterolémicas. Sin embargo su incorporación en membranas biológicas provoca desorganización, aumento del riesgo de lipoperoxidación, pérdida de fluidez y alteración de actividades de enzimas unidas a ellas. Estos efectos no han sido estudiados en organismos envejecidos, como tampoco la protección que podría ejercer un antioxidante fisiológico como la vitamina E.

Ratas Wistar jóvenes (60 días) y envejecidas (18 meses), recibieron aceite de sardina española por 14 días, estabilizado con DL- α -tocoferol (1g/kg de aceite) y sin estabilizar. Se estudiaron: nivel de glutatión reducido (hepático, sanguíneo y cerebral), capacidad antioxidante del plasma, niveles de vitamina E (plasmáticos y eritrocitos) y actividad de enzimas unidas a membranas microsomales (glucosa-6-fosfatasa y 5'nucleotidasa). Los niveles de GSH disminuyen en estado fisiológico envejecido respecto a los juveniles en todos los tejidos estudiados. La capacidad antioxidante del plasma se incrementa en las ratas jóvenes que ingieren aceite, lo que no se observa en ratas envejecidas. Los niveles de vitamina E, caen a valores indetectables por ingesta del aceite y se recuperan si el aceite está estabilizado con α -tocoferol. Las actividades enzimáticas en las ratas jóvenes, disminuyen por efecto de los PUFA N-3. En los animales viejos, que tienen actividades más bajas que los jóvenes, hay un efecto estimulador de la vitamina E. Los PUFA N-3 son capaces de alterar importantes parámetros bioquímicos, en especial en estado envejecido y la vitamina E es capaz de ejercer un efecto protector frente a este riesgo. (Financiado por: Proyecto FONDECYT 952-89)

270

METABOLIZACION PEROXIDATIVA DE ACIDO INDOL-3-ACETICO CATALIZADA POR PEROXIDASAS (Peroxidative metabolism of indole-3-acetic acid catalyzed by peroxidases).

ESCOBAR, J.A. y CILENTO, G.

Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad de San Pablo, Brasil

La metabolización peroxidativa del ácido indol-3-acético (hormona de crecimiento de vegetales), un importante proceso biológico, ha sido investigado por espectroscopia paramagnética electrónica (EPR), con la finalidad de obtener información sobre el mecanismo de generación de especies electrónicamente excitadas.

El radical skatol detectado durante la oxidación catalizada por peroxidasa de raíz fuerte (HRP), no está involucrado en el proceso principal de consumo de oxígeno o en la generación de oxígeno singulete. El espectro de quimiluminiscencia muestra varias bandas, que también son observadas cuando el éster etílico del ácido indol-3-acético es metabolizado por HRP o por leucocitos polimorfonucleares (PMNL), células ricas en mieloperoxidasa (MPO).

El espectro de EPR en la metabolización del éster etílico (en los sistemas con HRP o PMNL), muestra un radical centrado en carbono terciario. Este radical participaría en el proceso de quimiexcitación/emisión, proceso éste responsable por la mayoría del consumo de oxígeno y de algunas de las especies emisoras, que serían originadas por la ruptura del enlace 2-3 del anillo indólico.

Otras células que contienen MPO, también metabolizan este sustrato, pudiendo ser utilizado como una prueba quimiluminiscente intracelular para detectar la presencia de MPO.

Soporte financiero de FAPESP (Brasil), VOLSKWAGEN FUNDATION y GTZ (Alemania).

269

TRANSPORTE GASTROINTESTINAL DE FLUORURO Y MONOFLUOROFOSFATO: UN ENFOQUE CINETICO (Gastrointestinal transport of fluoride and monofluorophosphate: a kinetic approach) Rosenkranz C. y Villa A. Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. INTA, Universidad de Chile. (Patrocinio: E. Spencer).

La determinación del sitio principal de absorción a lo largo del tracto gastrointestinal y las condiciones que favorecen la absorción de fluoruro (F) y monofluorofosfato (MFP) revisten importancia dado que estos compuestos son utilizados en el tratamiento de la osteoporosis como agentes osteogénicos. En base a resultados previos obtenidos en nuestro laboratorio se consideró necesario estudiar la cinética de transporte de F y MFP en estómagos y duodenos de rata in-vitro. Estos tejidos fueron disectados, ligados e instilados con soluciones de F y MFP de concentración variable, en un medio Tyrode modificado y sumergidos en una solución externa de Tyrode a 37°C durante intervalos variables (2-120 min.). En cada experimento la cantidad de F iónico y total fueron determinados en las soluciones luminal, serosal y en el tejido, por medio de técnicas de electrodo específico de iones. De esta manera se obtuvieron las curvas cinéticas de transporte de F y MFP a través de los segmentos gastrointestinales estrofiados. Los resultados obtenidos permiten concluir a) que bajo las presentes condiciones experimentales la absorción duodenal de F y MFP es mucho más rápida que la absorción gástrica. b) que el transporte intestinal de fluoruro ocurre por un mecanismo de difusión pasiva con una cinética de pseudo-primer orden y que la especie involucrada en el transporte es fluoruro iónico, c) que el transporte duodenal de MFP ocurre según un mecanismo de reacción sucesivas de pseudo-primer orden según el esquema

(A) $MFP \xrightarrow{k_1} F$ (mucosal) $\xrightarrow{k_2} F$ (serosal) en el cual $k_1 \gg k_2$. Cuando se estudia el transporte duodenal de MFP en presencia de 50 mM de Calcio, los resultados preliminares sugieren que el mecanismo de transporte es similar al del esquema (A).

Financiado por Proyecto FONDECYT 1201-90

271

MODIFICACION DE LIPOPROTEINAS DE BAJA DENSIDAD (LDL) ENRIQUECIDAS EN ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS W3 Y SU POSIBLE ROL ATEROGENICO. (Modification of LDL rich in W3 polyunsaturated fatty acids and its possible atherogenic role.). Montero, E., Guasch, V., Solis de Ovando, F., Skorin, C. y cols. Dep. Biología Celular y Molecular, Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile. (Patrocinio: F. Leighton)

Hay evidencias de que la modificación oxidativa de las LDL las convierte en una forma aterogénica, puesto que permite que sea captada por el receptor de aseo de los macrófagos, transformándose éstos en células espumosas características de la lesión arterioesclerótica inicial. En lesiones ateromatosis de humanos y animales se ha demostrado la presencia de LDL oxidada. La oxidación de las LDL se iniciaría con la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que la conforman, de modo que la composición de ácidos grasos de la LDL sería determinante en la susceptibilidad de éstas a oxidarse. Actualmente se emplean aceites de pescado enriquecidos en ácidos grasos W3 en el tratamiento o prevención de la enfermedad coronaria ateromatosa, aceites que podrían tener un efecto adverso a nivel de daño oxidativo dado su alto grado de insaturación. En este trabajo evaluamos las LDL de sujetos sanos que fueron suplementados con aceite de pescado (6g W3/día por 15 días). No encontramos signos de daño oxidativo en las LDL plasmáticas y sí alta incorporación de W3. Como las LDL podrían oxidarse en el espacio subendotelial, estamos estudiando la susceptibilidad de estas a oxidarse *in vitro*, para ello mediremos degradación por macrófagos y productos de oxidación. (Proy. PNUD CHI/88/017, y Fondecyt 732/91)

272

EFFECTO DEL AYUNO SOBRE EL METABOLISMO MICOSSOMAL DE ACIDOS GRASOS. (Effect of fasting on fatty acids microsomal metabolism). Orallana M., Fuentes Q., Rosenthal H. y Valdés E., Dpto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

El citocromo P-450 microsomal participa en el metabolismo de sustratos endógenos como prostaglandinas, ácidos grasos (AG), hormonas esteroidales, etc. Se han purificado isoenzimas P-450 específicas en hidroxilar AG en posición w y w-1. Se han formulado tres hipótesis acerca la finalidad de estas hidroxilaciones: sería una forma de excreción, tendrían un papel regulatorio o su objetivo sería el catabolismo lipídico. Se ha descrito que los AG w-hidroxilados por el cit. P-450 microsomal son posteriormente oxidados al ácido dicarboxílico correspondiente, sustrato de la β -oxidación peroxisomal.

Con el propósito de investigar el papel catabólico de la w y w-1 hidroxilación de AG, estudiamos el efecto del ayuno sobre los siguientes parámetros: metabolismo microsomal de ácido láurico, β -oxidación peroxisomal de AG, y fluidez de la membrana microsomal. Utilizamos ratas en ayuno de 24, 48 y 72 hrs y realizamos un estudio comparativo en hígado y riñón. En ambos órganos los resultados fueron similares; el metabolismo microsomal de ácido láurico aumentó a las 24 hrs. de ayuno, disminuyendo a las 72. El metabolito que se produjo en mayor proporción en todos los grupos estudiados fue el ácido w-hidroxi láurico. Resultados preliminares indican que el ayuno aumenta la β -oxidación peroxisomal de AG y altera la fluidez de la membrana microsomal.

Estos resultados apoyarían la hipótesis del fin catabólico de la w y w-1 hidroxilación microsomal de AG, especialmente en el hígado. Además el ayuno aumentaría el contenido o actividad de las isoenzimas P-450 específicas en hidroxilar AG en la posición w y w-1. Financiado por proyecto DTI 3178/9013.

273

CARACTERIZACION DE LOS SITIOS DE FOSFORILACION OXIDATIVA EN MITOCONDRIAS *in situ* de *Trypanosoma cruzi*. (Characterization of the phosphorylation oxidative sites in mitochondria *in situ* of *Trypanosoma cruzi*). Coloma-Torres (*), L., Palomino, A., Letelier, M.E. y Morello, A. (*) Departamento de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.

Los procesos bioenergéticos en los protozoos parásitos del género trypanosomatidae presentan diferencias importantes respecto de los eucariontes superiores.

En el presente trabajo, se estudió el proceso de fosforilación oxidativa en *Trypanosoma cruzi*, utilizando mitocondrias *in situ*, obtenidas al permeabilizar las formas epimastigotas con digitonina.

En tales condiciones, glutamato + malato, que en eucariontes superiores son sustratos del complejo I, logran una relación ADP/O = 2. La misma relación se obtiene al adicionar succinato, lo cual significa que estos protozoos existen 2 sitios de fosforilación; uno de ellos corresponde a la citocromo oxidasa, como lo evidencia el uso de ascorbato como sustrato.

En trabajos previos hemos demostrado que el antioxidante fenólico BHA (2[3]-terbutil-4-hidroxi-anisol) inhibe el consumo de oxígeno, tanto en epimastigotes intactos como en células permeabilizadas, en el segmento coenzima Q-citocromo b de la cadena respiratoria mitocondrial. Esta inhibición es revertida, si luego del BHA, se adiciona ascorbato, lo que no ocurre al reagregar succinato; similares respuestas tienen estos sustratos luego de inhibir con antimicina A.

Por los resultados anteriores, hemos concluido que los sitios de fosforilación del *Trypanosoma cruzi*, corresponden a los sitios III y IV de las mitocondrias de mamíferos.

Financiado por : FONDECYT (Proyecto 91-1312), DTI-U. CHILE y SAREC

274

FUNCIONES PROTECTORAS DE GLUTATION Y TRIPANOTION EN *Trypanosoma cruzi*. (Protective functions of glutathione and tripanotion in *Trypanosoma cruzi*). Rosetto, J., Lemus, S., López, L., Moreno, E., Díaz, E. y Muñoz, J.P., Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.

El *Trypanosoma cruzi*, es el agente causal de la tripanosomiasis americana. No existe una droga eficaz para prevenir o tratar esta enfermedad. Las drogas en uso, actúan sobre el parásito generando radicales libres y/o productos de reducción parcial del oxígeno.

El rol del glutatión (GSH) y del tripanotión (TSH₂, GSH + espermidina) es atrapar radicales libres a través de reacciones enzimáticas y no enzimáticas, produciéndose un intercambio de tiol-disulfuros y metabolismo de los peróxidos.

En este trabajo se presenta la participación del GSH y del TSH₂ frente a la acción de las drogas antichagásicas Nifurtimox (Nx) y Benznidasol (Bz) agregadas a cultivos de formas epimastigotas de las cepas Tulahuén (T) y Dm28c. También se estudió el efecto sobre los cultivos de la ciclohexilamina (CHA), inhibidor de la síntesis de espermidina, sola y junto a Nx o Bz.

Al tratar los parásitos con Nx, el GSH disminuye en un 36% y el TSH₂ en 54% en la cepa T y un 20% y 40%, respectivamente en la cepa Dm28c. En relación al Bz se produce un efecto ligeramente superior a lo observado con el Nx. Al adicionar CHA junto a Nx o Bz, hay mayor disminución en el contenido de GSH y TSH₂.

Se puede concluir que el GSH y el TSH₂ representan un mecanismo de defensa importante del parásito frente al estrés oxidativo. El mejor conocimiento del metabolismo de estos compuestos podría llevar al diseño de drogas antichagásicas específicas.

Financiado por : FONDECYT (Proyecto 91-1312), DTI-U. CHILE y SAREC

275

LOCALIZACION DE LA MITOCONDRIA EN *Trypanosoma cruzi* INTACTOS. (Localization of the mitochondria in intact *Trypanosoma cruzi*). Aldunate, J., Queda, J.M. (*) y Spencer, E. (*) Unidad de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad De Chile.

El protozoo *Trypanosoma cruzi* posee una única mitocondria, la cual se distribuye con prolongaciones y ramificaciones a toda la célula.

Para visualizar la mitocondria y establecer los cambios en su morfología y su funcionalidad, se incubaron formas epimastigotas y tripomastigotas intactas y permeabilizadas con digitonina, con el fluorocromo RODAMINA 123.

Este fluorocromo se une preferencialmente a la mitocondria en células viables, probablemente por ser un colorante catiónico y mantener el organelo un alto potencial transmembrana.

Los resultados obtenidos, muestran que ambas formas del protozoo incorporan la Rodamina y permite visualizar la mitocondria del parásito en forma completa, lo mismo se logra con células permeabilizadas con digitonina, incubadas en un medio con succinato y ADP, evidenciándose un "redondeamiento" de las células.

En trabajos previos hemos demostrado que el antioxidante fenólico BHA (2[3]-terbutil-4-hidroxi-anisol) inhibe el consumo de oxígeno, tanto en epimastigotes intactos como en células permeabilizadas, en el segmento coenzima Q-citocromo b de la cadena respiratoria mitocondrial. Al agregar BHA a las diferentes formas celulares, se inhibe la incorporación de Rodamina, lo cual nos sugiere que la incorporación del fluorocromo requiere de la fosforilación oxidativa del *Trypanosoma cruzi*.

Financiado por : FONDECYT (Proyecto 91-1312), -DTI-U. CHILE y SAREC

276

INDICES DE ESTRES OXIDATIVO (EOX) EN HIGADO Y ERITROCITOS DE RATAS TRATADAS CON LINDANO (L). (Rat liver and red blood cell indexes of oxidative stress after lindane treatment). Bainy, A. C.D., Azzalis, L., Rodrigues, F., Simizu, K., Barros, S.B.H., Videla, L.A.** y Junqueira, V.B.C. Instituto de Química y *Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Sao Paulo, y Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Dosis únicas de L inducen un EOX hepático en ratas, caracterizado por un aumento en la generación microsomal de radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$) dependiente del citocromo P-450 asociado a su metabolización, y de los niveles de lipoperoxidación (LP). Este EOX resultó ser un fenómeno bifásico, involucrando marcadas modificaciones en el metabolismo hepático del glutatión. Además, el L provoca alteraciones enzimáticas y funcionales asociadas a membranas eritrocitarias que podrían involucrar una acción prooxidativa del insecticida, importante modelo experimental para el estudio de la producción y reactividad de radicales libres de xenobióticos.

El presente trabajo muestra los resultados de un estudio comparativo sobre índices de EOX hepático y eritrocitario en ratas sometidas a la ingesta de 1000 ppm de L en la dieta, por 60 y 90 días. Se observó un efecto prooxidante del L a nivel hepático desde los 60 días de tratamiento, caracterizado por un incremento de la LP junto con una disminución de la relación $SOD/O_2^{\cdot -}$, índice indicativo de EOX celular. Estos parámetros no fueron alterados a nivel eritrocitario, lo cual sugiere que las acciones del L en este modelo están relacionadas a interacciones a nivel membrana por la naturaleza lipofílica del xenobiótico, y que su biotransformación es necesaria para el desarrollo de EOX, como ocurre en el hígado. (FAPESP, CNPq, FONDECYT (1109/91) y DTI-U.Chile (83241-9013)).

278

Síntesis de Acil-Coenzimas A de drogas hipolipidémicas por hepatocitos aislados. (Synthesis of acyl-Coenzyme A of hypolipidemic drugs by isolated hepatocytes). Cárdenas, L., Morales, M.N. y Vargas, L. Fac. Cien. Biol., Depto. Biol. Cel. & Molec. P.U. Católica de Chile.

Las drogas hipolipidémicas pertenecientes a la familia del clofibrato, así como compuestos estructuralmente no asociados como herbicidas, plastificantes, y otros contaminantes ambientales, causan importantes alteraciones hepáticas en animales de experimentación, entre las que destacan proliferación de organelos y tumorigénesis. Trabajos previos de nuestro grupo indican que estos compuestos son activados a acil-CoAs por una acil-CoA sintetasa inespecífica. La ausencia de correlación existente entre la estructura química de estos compuestos y su actividad biológica nos han llevado a sugerir que la especie farmacológicamente activa común son los derivados acil-CoAs. Dado que la formación de estos compuestos *in vivo* no ha sido caracterizada en detalle, en este trabajo se determinó la concentración de uno de estos acil-CoA anómalos (ciprofibroil-CoA) en hígado de ratas tratadas con ciprofibrato. Además, se estudió comparativamente el curso temporal de formación de acil-CoAs de tres drogas hipolipidémicas por hepatocitos aislados, su dependencia de la concentración de droga, y el efecto que tienen compuestos potencialmente capaces de alterar su formación, como ácido palmítico y carnitina. Los resultados muestran que los tres compuestos forman acil-CoAs en hepatocitos aislados y que la adición de carnitina aumenta su concentración intracelular, mientras que el ácido palmítico inhibe parcialmente su formación. Se muestra además que el hígado y las plaquetas humanas también son capaces de formar acil-CoAs de drogas (Financiamiento; Fondecyt 802/90).

277

EFFECTO DE AGENTES DIABETOGENICOS EN EL METABOLISMO HEPATICO DE DROGAS EN RATAS (Effect of diabetogenic agents on drug metabolism in rats).

Mancilla, J., Vega, P., Gaule, C. y Del Villar, E. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: Orellana, M.)

Aloxano (A) y Streptozotocina (STZ) son conocidos agentes diabéticos experimentales que determinan un estado patológico de hiperglicemia con síntomas de poliuria, polidipsia y polifagia en el animal de experimentación. Sin embargo, existen discrepancias en relación a la potencia de la acción tóxica de estos compuestos.

Por las complicaciones fisiopatológicas y metabólicas que se desarrollan en el estado de diabetes, es de interés conocer el metabolismo de los fármacos en dicho estado.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos por efecto de la diabetes inducida por A y STZ y la administración de insulina en el metabolismo oxidativo *in vitro* de estructuras moleculares modelos, en ratas Wistar.

Conjuntamente con los parámetros fisiológicos en el estado de diabetes se muestran las alteraciones metabólicas en el metabolismo de aminopirina (AP) y testosterona (T) y las propiedades de unión de un ligando modelo a microsomas hepáticos de ratas controles, diabéticas y diabéticas tratadas con insulina.

Con ambos agentes diabéticos se obtuvo 100% activación de la enzima monooxigenasa dependiente del citocromo P-450 sin variación en la K_m de la reacción (2.0 mM) para AP, en cambio hay diferencias importantes para el sustrato testosterona.

Sin embargo sólo los microsomas de ratas con diabetes por STZ presentaron un sistema anormal de unión de terminado por el espectro diferencial por sustrato.

Se relacionan y discuten las variaciones en el contenido de cit P-450 y la afinidad del sistema microsomal con la actividad catalítica del sistema de monooxigenasas. PROYECTO N° 2666 - 9044 DTI, y PROYECTO N° 1269-91 FONDECYT.

279

Efecto del ciprofibrato, un carcinógeno no-genotóxico, en la fosforilación del Receptor del factor de crecimiento epidérmico (R-EGF) en hepatocitos aislados. Rol de proteína quinasa C (Effect of ciprofibrate, a non-genotoxic carcinogen, in the phosphorylation of the EGF-R in isolated hepatocytes. Role of protein kinase C). Hidalgo, P.C., Orellana, A. y Bronfman, M. Fac. Cien. Biol., Depto. Biol. Cel. & Molec., P. U. Católica de Chile.

El ciprofibrato y otros hipolipidémicos así como diversos compuestos no relacionados estructuralmente, como agroquímicos y plastificantes, inducen respuestas similares en el hígado de animales tratados, las que incluyen proliferación de organelos y tumores. Estos compuestos no son mutagénicos, y han sido clasificados como carcinógenos no genotóxicos. Trabajos previos nos han permitido sugerir que los ésteres de estos compuestos con el Coenzima A, derivados que se forman tanto *in vivo* como *in vitro*, podrían ser las substancias activas de estos compuestos. *In vitro* ellos potencian la actividad de la proteína quinasa C (pK), enzima clave en la regulación de un número importante de fenómenos celulares, los que incluyen diferenciación y tumorigénesis. En este trabajo se estudió el efecto del ciprofibrato en la fosforilación del R-EGF en hepatocitos aislados. Este receptor, con actividad autofosforilante en tirosina, ha sido también involucrado en fenómenos de diferenciación y tumorigénesis. La fosforilación del R-EGF por pK cambia la afinidad del receptor por EGF. En este trabajo se muestra que el grado de fosforilación del R-EGF en hepatocitos aislados, pre-incubados con P₃₂, aumenta en presencia de ciprofibrato y que la fosforilación del R-EGF purificado por pK se incrementa en presencia de ciprofibrato-CoA, mientras que el ciprofibrato no tiene efecto. Por otra parte, se encontró que, *in vitro*, ninguno de los compuestos cambiaba la autofosforilación del R-EGF inducida por EGF. Estos resultados sugieren que el ciprofibrato-CoA, producido metabólicamente, es el responsable del aumento en la fosforilación del R-EGF inducida por ciprofibrato en hepatocitos aislados. (Financ. Fondecyt 802/90).

280

MODULACION HORMONAL DE LA PROTEINA KINASA C (PKC) MAMARIA DE RATA. (Hormonal modulation of protein kinase C (PKC) in rat mammary tissue. Poncea R., Moncada E. (Patrocinio: S. Lavandero). Depto Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La activación de proteínas kinasas por la acción coordinada de hormonas y factores de crecimiento es esencial en el desarrollo del tejido mamario.

En este trabajo se evaluaron los cambios de la PKC mamaria en el ciclo lactogénico, en cuanto a su actividad, distribución subcelular y su regulación por hormonas esteroidales y prolactina.

Se utilizaron ratas en distintas etapas del ciclo lactogénico y hembras vírgenes ovariectomizadas (250g) que recibieron reposición hormonal secuencial de estradiol y progesterona en dosis de 2 ug y 6 mg/rata/día, respectivamente, entre los días 1 y 20 (pseudopreñez) y domperidona, que aumenta la prolactina plasmática, 1 mg/rata/día (pseudolactancia). Se determinó la actividad de la PKC en el extracto semipurificado de las fracciones soluble y particulada de la glándula mamaria.

Nuestros resultados indican que la PKC mamaria alcanza un máximo en la mediana preñez y un mínimo en la mediana lactancia, con una distribución subcelular predominante característica: citosólica en la preñez y particulada en la lactancia. La pseudopreñez y pseudolactancia reprodujeron lo observado en el ciclo lactogénico natural.

Se concluye que la actividad y distribución de la PKC mamaria es dependiente de estrógenos, progesterona y prolactina.

* FONDECYT 91-0879 y 91-0880, DTI B-3113-9013 y Postgrado U. Chile 91-001. SL es becado de Fundación Andes. (Participan también en este trabajo M. Sapag-Hagar y S. Lavandero).

282

MUCOPROTEINAS EN BILIS DE PACIENTES CON COLELITIASIS: INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO CON INDOMETACINA. (Mucoprotein in gallstone patients: Influence of the treatment with indomethacine). Del Pozo, R., Jünger, D. y Paumgartner, G. Depto. Medicina Interna II, Clínica Grosshadern, Universidad de Munich, Munich (R.F.A.).

Se ha descrito una relación entre un incremento en la producción de mucoproteínas en la vesícula biliar y la formación de cálculos vesiculares. La indometacina (INDO), como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, podría disminuir la producción de mucoproteínas. Por ello estudiamos el efecto de la INDO sobre el contenido de mucoproteínas, viscosidad, índice de saturación (CSI) y el tiempo de nucleación en bilis vesicular de A) pacientes colecistectomizados previamente tratados 7 días con INDO (75 mg/día) B) pacientes colecistectomizados sin previo tratamiento (control), y C) pacientes sin cálculos ("Normal").

Resultados:

	Viscosidad (mPa)	CSI	Mucoproteínas (mg/ml)
A) INDO (6)	2.2 ± 0.8	1.5 ± 0.3	16.3 ± 3.3
B) Control (10)	3.9 ± 0.6	2.1 ± 0.6	18.2 ± 4.3
C) "Normal" (4)	3.5 ± 2.1	0.9 ± 0.3	9.4 ± 4.7

Conclusiones:

La INDO disminuye principalmente la viscosidad y el CSI, observándose una tendencia hacia una disminución en la concentración de mucoproteínas en la bilis.

Estos resultados pueden contribuir a la probable utilización de la INDO como una terapia adicional luego de practicada una litotripsia y/o tras una administración oral de sales biliares en pacientes con coleditiasis.

(Proyecto financiado por el DAAD)

281

PROTEINAS KINASAS A Y C EN EL DESARROLLO DE LA HIPERTROFIA CARDIACA EXPERIMENTAL. (Protein kinases A and C during the development of experimental heart hypertrophy). Cartagena, G., Jalil, J.E., Corbalán, R., Sapag-Hagar, M. Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile y Depto. Enferm. Cardiovasc., Fac. Medicina, P.U. Católica de Chile.

La hipertrofia cardíaca (HC) puede considerarse como crecimiento celular anormal en que intervienen diversas hormonas y factores de crecimiento cuyos sistemas de transducción, a través de proteínas kinasas (PK) y la consecuente fosforilación de proteínas funcionales y estructurales, constituyen importantes mecanismos de regulación en el corazón.

En este trabajo se evalúan las actividades de las PK dependientes de AMP cíclico (PKA) y de Ca^{2+} y fosfolípidos (PKC) en el desarrollo de la HC. Se utilizó como modelo de HC la fístula aorto-cava en ratas, obteniéndose a partir del día 7 aumentos significativos de la masa cardíaca ($p < 0,05$). Las actividades de PKA y PKC se determinaron por la incorporación de ^{32}P a un sustrato proteico, en los días 2, 7, 21 y 56. La PKA (U/g) mostró diferencias significativas ($p < 0,005$) desde el día 2 hasta finalizar el estudio. Los incrementos en su actividad, para los días analizados, fueron aproximadamente de 3, 9, 8 y 4 veces, respectivamente, en relación a sus controles (pseudoperadas). Por otra parte, la actividad total de PKC (U/g) sólo presentó diferencias desde el día 7 ($p < 0,01$), observándose en todos los casos aumentos de 2 veces, respecto de sus controles.

Estos resultados indican la importante participación de los procesos de fosforilación por proteínas kinasas en el corazón durante el desarrollo de la hipertrofia cardíaca.

*Fondecyt 90-0712 y 90-0722. (Participaron también en este trabajo S Lavandero y R Poncea). SL es becado de Fundación Andes.

283

PRESENCIA DE PFK Y ACTIVIDAD GLICOLITICA DURANTE EL DESARROLLO TEMPRANO DE *Xenopus laevis*. (PFK activity and glycolytic flux during early development in *Xenopus laevis*) Kessi, E., Guixé, V., Herrera, R. y Ureta, J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, U. de Chile. Departamento de Cs. Biol. Animales, Facultad de Cs. Vet. y Pecuarias, U. de Chile.

En los oocitos de anfibio, el metabolismo de la glucosa se encuentra restringido principalmente a la síntesis de glicógeno y al ciclo de las pentosas. La glicolisis, la gluconeogénesis y la glicogenolisis, no son funcionales en los oocitos desde el estadio I hasta el estadio VI. Tradicionalmente la carencia de actividad glicolítica se ha atribuido a la ausencia de actividad de fosfofructoquinasa, una enzima considerada clave en la regulación de esta vía. Debido a nuestro interés en determinar en que momento del desarrollo aparece la actividad glicolítica, hemos estudiado la producción de CO_2 a partir de $1-^{14}C$ glucosa y de $6-^{14}C$ glucosa en oocitos de *Xenopus laevis*, en diferentes estadios, como también en etapas tempranas del desarrollo embrionario. Además hemos determinado inmunológicamente la presencia de la enzima y medido su actividad *in vitro*.

Para medir la producción de $^{14}CO_2$ los oocitos de diferentes estadios se incubaron con $1-^{14}C$ glucosa, o $6-^{14}C$ glucosa 2 mM, durante 30 minutos. La presencia de PFK en los extractos se detectó transfiriendo las proteínas a nitrocelulosa y permitiéndoles luego reaccionar con un anticuerpo purificado anti-PFK de músculo de *X. laevis*. La actividad enzimática se midió espectrofotométricamente siguiendo la oxidación de NADH usando un ensayo acoplado.

La producción de $^{14}CO_2$ a partir de $6-^{14}C$ glucosa sugiere una activación de la glicolisis a nivel de la etapa de gástrula, aún cuando la presencia de la enzima puede detectarse inmunológicamente desde el estadio I en adelante. (Proyecto FONDECYT 91-0829)

284

REGULACION DE LA β -OXIDACION PEROXISOMAL. ESTUDIO DEL EFECTO DE MALONIL-CoA Y 2-TETRADECILGLICIDIL-CoA (TDGA-CoA) SOBRE CARNITINA OCTANOILTRANSFERASA (COT) PURIFICADA DE HIGADO DE RATA. (Regulation of Peroxisomal β -oxidation. Study of Malonyl-CoA and TDGA-CoA effect on rat liver COT.) Rojas, S., Necochea, C., Leighton, F. y col. Dep. de Biología Celular y Molecular, Universidad Católica de Chile.

Los mecanismos de regulación de la β -oxidación de ácidos grasos en peroxisomas no han sido definidos. En mitocondrias la β -oxidación es regulada a través de la carnitina palmitoiltransferasa-I (CPT), por malonil-CoA que la inhibe reversiblemente, constituyendo así un regulador fisiológico. Se ha visto que el TDGA (inhibidor supuestamente específico para CPT-I), produce en hepatocitos aislados una marcada disminución de la β -oxidación mitocondrial, y un aumento significativo de la β -oxidación peroxisomal de ácidos grasos de cadena mediana y larga. El estudio de la sensibilidad a TDGA-CoA de las diferentes transferasas en hepatocitos incubados en presencia de la droga, muestra una aparente inhibición de la COT en un 51%. Estos y otros argumentos nos han llevado a postular para COT un papel regulador de la β -oxidación peroxisomal. Para evaluar los antecedentes que apoyan la existencia de un rol regulador de la COT en la β -oxidación peroxisomal, se purificó la enzima a partir de hígado de ratas tratadas con ciprofibrato, y se estudió sobre ella el efecto de malonil-CoA y TDGA-CoA. Se comprobó que efectivamente la COT se inhibe en forma rápida e irreversible con el TDGA-CoA, a razón molar inhibidor/enzima cercana a 1. Estos resultados, junto al efecto observado de TDGA en hepatocitos aislados y las características de la inhibición por malonil-CoA, nos llevan a reafirmar el posible papel regulador de la enzima, mediante el control de la exportación al citosol de derivados acil-CoA de cadena mediana producidos por la β -oxidación peroxisomal. (Financiado por Juvenile Diabetes Foundation Int. y FONDECYT 717/90).

286

IMPORTANCIA DE LA HIDROLISIS DE GTP EN EL MECANISMO DE INHIBICION DE LA POLIMERIZACION DE TUBULINA Y DESPOLIMERIZACION DE MICROTUBULOS POR CALCIO. (Role of the GTP hydrolysis into the mechanism of tubulin polymerization inhibition and microtubule depolymerization by calcium).

Soto, C. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La tubulina, un heterodímero globular de 110 kDa, es capaz de autoensamblar in vitro formando microtúbulos en presencia de GTP, mientras que GDP inhibe este proceso. La tubulina contiene dos sitios para los nucleótidos de guanina: el sitio intercambiable (E) y el no intercambiable (N). Calcio interactúa in vitro con la tubulina inhibiendo su polimerización y despolimerizando los microtúbulos previamente formados.

Para investigar si la hidrólisis del GTP unido al sitio E de la tubulina participa en el mecanismo de acción de calcio, estudiamos la hidrólisis del fosfato gamma usando [32 P]-GTP. Calcio estimuló significativamente la actividad GTPásica de tubulina en solución. Las constantes de semisaturación para la estimulación de la actividad GTPásica por Ca(II), para la saturación de los sitios de unión de Ca(II) de alta afinidad y para la inhibición de la polimerización de tubulina, definidas como la concentración de calcio necesaria para lograr el 50% del efecto máximo, resultaron tener valores similares. Sodio, magnesio y terbio no estimularon la actividad GTPásica de tubulina. Calcio, en concentraciones inhibitorias, no tuvo efecto sobre la polimerización de tubulina incubada con análogos no hidrolizables de GTP. Los resultados obtenidos permiten plantear la hipótesis que en el mecanismo de inhibición de la polimerización de tubulina y despolimerización de microtúbulos por calcio estaría involucrada la hidrólisis del GTP unido a tubulina.

Financiado por proyectos FONDECYT 1133-89 y 0043-90. Becario Fundación Andes.

285

CARACTERIZACION DE LA UNION DE CALCIO A LOS FRAGMENTOS C-TERMINAL DE TUBULINA. (Characterization of calcium binding to tubulin C-terminal fragments). Barros, L.; Lobos, S. y Lagos, R. Laboratorio de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

La tubulina, pertenece a la familia de proteínas que unen calcio y nucleótidos de guanina. Esta proteína es un heterodímero de masa molecular 110 kDa, formada por 2 subunidades llamadas α y β , ambas de masa molecular 55 kDa. Posee 2 sitios de unión para GTP por dímero, uno intercambiable. En nuestro laboratorio se ha determinado que la inhibición de la polimerización y la despolimerización de microtúbulos inducida por la unión de calcio, es acompañada por la hidrólisis del fosfato gamma del GTP intercambiable.

Se digirió tubulina de cerebro de pollo con subtilisina y se determinó que la unión de calcio a los péptidos C-terminal era cooperativa con un coeficiente de Hill de 1,6, en el equilibrio, se encontraron $1,65 \pm 0,58$ sitios de alta afinidad, con una $K_d = 1,83 \times 10^{-8}$ M. Se realizó la predicción de estructura secundaria de esta zona, para diferentes isoformas de secuencia conocida, utilizando los métodos de Chou y Fasman y el de los perfiles de hidrofobicidad. Se postula que los fragmentos C-terminal de α -tubulina, estarían formados por un α -hélice y una zona con estructura al azar y los de β -tubulina por 2 α -hélices, unidas por una zona con estructura al azar.

Con el propósito de determinar si la unión de calcio a la región C-terminal requiere de una estructura de 2 α -hélices unidas por una secuencia al azar, similar a la conformación HLM de proteínas que unen calcio, se obtuvo en *E. coli* un péptido de fusión, que corresponde a los últimos 52 aminoácidos del C-terminal de la β -tubulina de cerebro de pollo, y se purificó para caracterizar la unión de calcio.

Financiado por proyecto FONDECYT 1133/89.

287

ESTABILIZACION DE LA PROTEASA DE C. FICIFOLIA. (Stabilization of C. ficifolia protease). González-Lira G. y González C. Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso.

El objetivo es termoestabilizar la proteasa de la pulpa de la alcayota, por medio de la adición de solventes de tipo alcohol. Se determinaron las constantes de inactivación en tampón y en solventes al 10% (v/v). Por espectroscopía de absorción se midió si una modificación estructural de la proteasa contribuyó a su termoestabilización. Se midió la actividad proteásica con Azocoll en tampón fosfato, pH 8,0. Se determinaron velocidades a distintas temperaturas.

En solución acuosa a 20 y 40°C permanece estable y la actividad no sufre variación. A los 60°C se desnaturaliza y pierde hasta el 60% de su actividad inicial a las 3 horas.

Con glicerol a los 20 y 40°C la actividad se mantiene constante, a los 60°C la actividad aumentó en un 33% y luego se mantuvo constante hasta por lo menos 3 horas.

Con sorbitol la actividad fue decayendo paulatinamente en el tiempo. Lo mismo ocurrió con 1,3- propanodiol. Para el manitol se observó también un efecto estabilizante hasta las 3 horas, sin embargo, la actividad de la enzima decayó al principio en un 30%, para luego mantenerse constante.

Al comparar el espectro de absorción en tampón y en presencia de glicerol, se observa diferencias en el rango UV, lo que puede interpretarse como un cambio estructural promovido por el solvente.

288

ASPECTOS EVOLUTIVOS Y RELACIONES ESTRUCTURA/FUNCION DE TOXINAS DE ESCORPIÓN DETERMINADAS A PARTIR DE SUS ESTRUCTURAS TRIDIMENSIONALES

J. C. Fontecilla Camps

Laboratoire de Cristallographie et Cristallisation des Protéines. DSV/LIP
Commissariat à l'Energie Atomique
Centre d'Etudes Nucléaires de Grenoble 85x
38041 Grenoble Cedex FRANCIA

Las toxinas de veneno de escorpión son proteínas de bajo peso molecular (alrededor de 7000 Da) que se unen de manera específica a los canales de sodio del sistema neuromuscular. La actividad neurotóxica de estas moléculas tiene su origen en la modificación de la permeabilidad de los canales, lo que provoca a nivel del organismo una verdadera tormenta adrenergica. Un estudio mas detallado a mostrado que, en función del origen geográfico del escorpión, las toxinas puede dividirse en dos grupos, alfa y beta, según si provocan una prolongación de la fase de inactivación de la corriente de sodio o afectan la activación de esta corriente, respectivamente. También de ha demostrado que estos dos tipos de moléculas no se fijan en el mismo sitio sobre el canal a pesar de presentar una homología de secuencia primaria bastante elevada. Además, las toxinas de escorpión pueden presentar una gran especificidad con respecto a ciertos animales. Por ejemplo, en el veneno de *Androctonus australis* Hecctor de Noráfrica se han descrito moléculas que sólo reaccionan contra los insectos, otras con especificidad contra los crustáceos, mamíferos, etc. Nuestro trabajo se ha centrado sobre el estudio cristalográfico de dos toxinas, la variante 3 de *Centruroides sculpturatus* Ewing de Arizona y la toxina II de *A. australis* Hecctor (1,2). Ambas estructuras han sido determinadas a alta resolución (1.8 Å) y son representativas de los grupos beta y alfa respectivamente. La zona activa en estas dos moléculas ha sido localizada de manera tentativa gracias a los resultados de estudios de modificación de amino ácidos y de determinación de secuencia primaria. La conclusión mas importante es que existe en estas moléculas una zona o núcleo muy conservado y que el tipo de actividad esta determinado por la orientación de regiones que se proyectan de esta zona. También hemos modelizado la estructura de una toxina anti-insecto; estos resultados preliminares confirman lo observado en el caso de la toxina II y la variante 3.

1. Fontecilla-Camps, J.C., Almsasy, R.J., Suddath, F.L., Watt, D.D. y Bugg, C.E. "Three-dimensional structure of a protein from scorpion venom: a new structural class of neurotoxins" (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 6496-6500

2. Fontecilla-Camps, J.C., Habersetzer-Rochat, C. y Rochat, H. "Orthorhombic crystals and three-dimensional structure of the potent toxin II from the scorpion *Androctonus australis* Hecctor" (1988), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 7443-7447

290

GEL-PERFECT : GELES UNIDIMENSIONALES. UN NUEVO METODO DENSITOMETRICO PARA COMPUTADORES PERSONALES.

(Gel-Perfect for unidimensional gels, a new densitometric method to be used in personal computers).

Rozzo, S., Retamal, C. Departamento de Medicina Experimental e Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; Santiago 7 - Chile.
(Patrocinio: E. Rgaña.)

En el análisis de geles de poliacrilamida existen variados métodos de detección y cuantificación de proteínas que utilizan colorantes específicos como azul de coomassie, amido-black, impregnaciones argentícas entre otras; con posterior lectura en un espectrofotómetro a una longitud de onda apropiada.

Un grupo de proteínas de masa molecular conocida se separaron por electroforesis en geles de poliacrilamida al 7% en condiciones desnaturantes (SDS), y se analizaron los canales en un densitómetro tradicional a 595nm.

Paralelamente se utilizó un nuevo concepto de análisis de bandas de proteínas en geles, que se basa en un proceso interactivo de imágenes por computación. Los geles se digitalizaron mediante un scanner "Geniscan GS 4500", que permite la obtención de imágenes de 100 a 400 puntos por pulgada, equivalente a 63,5 o 254 micrones por pixel. Posteriormente durante el análisis, esta densidad se reduce de 190,5 a 762 un en 10 niveles de absorción. Utilizando un programa comercial estas imágenes son registradas, generadas con color artificial y grabadas para su posterior procesamiento. El programa requiere de un computador XT o AT con tarjeta EGA o VGA color y scanner.

Se determinaron los valores de movilidad relativa, masa molecular relativa y se cuantificaron cada una de las bandas de proteínas.

Este nuevo método permite analizar todos los canales de un gel sin romperlo y con mayor precisión, si se compara con las técnicas tradicionales. Se pueden comparar dos o mas densitogramas (sustracción electrónica).

Esta técnica además de ser altamente resolutive y fácil de realizar, permite almacenar imágenes e información para futuras comparaciones entre las proteínas.

El programa se distribuirá entre los investigadores a un costo nominal.

289

UTILIZACION DE UN NUEVO ENFOQUE EN LA CURA DE LA SHIGELLOSIS (Use of a new inhibitor to overcome the Shigellosis). Campos, M., Bocaz, G., Vásquez, O., González, H., Cáceres, J. y Yañez, C. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción.

Las β -lactamasas (penicilin amido β -lactam hidrolasas, E.C.3.5.2.6) son el mecanismo de resistencia a antibióticos β -lactámicos más relevantes en clínica. Nosotros hemos estudiado estructuralmente la enzima proveniente de *Shigella flexneri* UCSF-129, cepa patógena productora de graves cuadros diarreicos -principalmente- a la población infantil. El objetivo fundamental de este trabajo, es encontrar su inhibidor óptimo para recuperar la acción terapéutica de las penicilinas y cefalosporinas, que son de elección en un sin número de enfermedades infecciosas y son de bajo costo relativo. In vitro, se ensayó el nuevo inhibidor BRL 42715, (C₆-(N1-metil-1,2,3 triazolilmetil)penem, por medio de dos parámetros: I₅₀ (concentración del inhibidor necesaria para disminuir en un 50% la actividad enzimática) y CMI (mínima concentración de antibiótico capaz de detener el desarrollo bacteriano, en presencia del inhibidor). Los resultados mostraron que la inhibición fue irreversible, siendo el I₅₀ de 0,0049 μ g/ml. Este valor es 20 veces más bajo que el mejor inhibidor (6- β -yodopenicilánico) informado por nosotros anteriormente. Reduce el CMI de ampicilina de 2048 μ g/ml a 2 μ g/ml. Es decir se obtiene una reducción en la dosis efectiva del antibiótico en 1024 veces, con una concentración de BRL 42715 de 0,196 μ g/ml y el sinergismo perdura durante 9 hrs.

Financiado por Proyecto D.I. 20.13.84 y Beecham Pharmaceutical.

291

GENOTOXICIDAD DE EXTRACTOS ORGANICOS OBTENIDOS DEL MATERIAL PARTICULADO DEL AIRE DE SANTIAGO EN LOS MESES DE MAYOR CONTAMINACION DE 1990 Y 1991. (Genotoxicity of organic extracts obtained in 1990 and 1991 from Santiago airborne particles during the months of higher air pollution). Vignolo, P., Adonis, M., Silva, M. and Gil, L. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Diversos estudios realizados en diferentes países, en ciudades con alta contaminación atmosférica, indican que existen en el aire cientos de compuestos tóxicos para la salud humana, los cuales presentan alta actividad mutagénica. En estudios previos hemos identificado en el material particulado del aire de Santiago, la presencia de agentes mutagénicos indirectos los cuales son activados por enzimas del sistema de monooxigenasas y de agentes mutagénicos directos que no requieren de activación metabólica. En este estudio utilizando el Test de Ames, se compara la actividad mutagénica de extractos orgánicos del material particulado del aire de Santiago, obtenidos en los meses de Marzo a Julio de 1990 y 1991, utilizando la cepa TA98 de *Salmonella typhimurium*. En 1991 hubo un notorio incremento en los índices pluviométricos, se implementaron medidas de restricción vehicular, se retiraron máquinas de la locomoción colectiva y se aumento el control a las emisiones industriales. No obstante, la razón de mutagenicidad (RM) (razón entre el número de revertantes inducidos por los extractos y el valor promedio de los correspondientes revertantes espontáneos) de las muestras obtenidas en 1991 fue considerablemente mayor que las analizadas en los mismos meses de 1990 en presencia de enzimas activantes. Un incremento aún mayor en la RM se observó cuando los ensayos fueron realizados en ausencia de enzimas activantes. Estos resultados indican que la mayor toxicidad de las muestras de 1991 se explica por un incremento tanto en los agentes genotóxicos directos como indirectos, lo que sugiere un aumento en el riesgo para la salud de la población a pesar de las medidas que han sido implementadas.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1314/91.

292

INDUCCION DIFERENCIAL DE MONOOXIGENASAS POR HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS (HAP) Y SUS DERIVADOS COMPONENTES DEL SMOG DE SANTIAGO. (Differential induction of monooxygenases by polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives, from Santiago Smog). Quiñones, L. Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: L. Salazar).

Los HAP compuestos precarcinogénicos presentes en el material particulado del smog pueden reaccionar fotoquímicamente con óxido de nitrógeno, dando lugar a la formación de HAP nitrados, los cuales son mutágenos y carcinógenos directos, y a la vez potentes inductores de la isoenzima IA de citocromo P-450.

En este trabajo se realizó un estudio comparativo entre el efecto de un HAP y sus nitroderivados puros, y el efecto de extractos orgánicos del material particulado del aire de Santiago, sobre las actividades etoxiresorufina-O-desetilasa y acetanilide-hidroxilasa dependiente de las isoenzimas IA1 y IA2 de microsomas de hígado de ratas.

Se encontró que:

1. La actividad NADPH citocromo P-450 reductasa aumenta sólo en los animales tratados con HAP nitrados.
2. La actividad etoxiresorufina-O-desetilasa es notablemente aumentada por el tratamiento con HAP no nitrados, aumento mucho mayor al observado en animales tratados con nitroderivados. En cambio la actividad acetanilide-hidroxilasa aumenta mucho más por tratamiento con nitroderivados.

3. El tratamiento con extractos orgánicos de partículas del aire de Santiago, aumenta en igual proporción las actividades O-desetilasa e hidroxilasa.

Estos resultados sugieren, que los HAP y sus nitroderivados presentes en partículas del aire de Santiago, afectan las isoenzimas IA de citocromo P450. El incremento de la forma IA1 se debería a la acción de HAP; mientras que los nitroderivados serían responsables del incremento de la forma IA2.

El incremento de ambas isoenzimas, aumenta el número de estructuras químicas que pueden ser carcinogénicas, aumentando así el riesgo para la salud de la población.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1314/91.

294

EFFECTO DE CONTAMINANTES DEL AIRE DE SANTIAGO, SOBRE ACTIVIDADES OXIDATIVAS Y SINTESIS DE DNA DE NUCLEOS DE HIGADO DE RATA. (Effect of air contaminants from Santiago, on oxidative activities and DNA synthesis of rat liver nuclei)

Irrazabal, C. y Salazar I.
Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina,
Universidad de Chile.

Las partículas del aire de Santiago, contienen hidrocarburos aromáticos policíclicos precarcinogénicos (HAP), y sus nitroderivados carcinogénicos, los cuales en mamífero, son metabolizados por monooxigenasas que requieren NADPH para su actividad, y se localizan en retículo endoplasmático y membrana nuclear. Gran parte de los metabolitos producidos se elimina de la célula, pero el resto, se une a ácidos nucleicos y a proteína, iniciando el daño celular.

El tratamiento de animales con extracto orgánico de partículas del aire de Santiago, produjo un notable aumento en las actividades benzopireno-hidroxilasa y etoxiresorufina-O-desetilasa de núcleos de hígado; el cual fue mayor al observado para estas actividades en microsomas del mismo tejido.

Se encontró una gran inhibición de la síntesis de DNA, cuando se preincubaron núcleos control con extracto orgánico antes del ensayo de síntesis. Esta inhibición fue mayor cuando la preincubación se hizo en presencia de NADPH.

Sin embargo, en experimentos donde se agregó extracto orgánico directamente al ensayo de síntesis, no se observó diferencia significativa por efecto de NADPH.

Se discuten los resultados en base a la actividad de la NADPH-cit-P450 reductasa de núcleo, para HAP y sus nitroderivados, presentes en partículas del aire.

FINANCIADO POR FONDECYT. PROYECTO 1314.

293

DETERMINACION POR HPLC DE HIDROCARBUROS POLICICLICOS AROMATICOS EN EL MATERIAL PARTICULADO DEL AIRE DE SANTIAGO Y SU RELACION CON EL POSIBLE RIESGO PARA LA SALUD HUMANA. (HPLC analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in Santiago airborne particles and their relationship with the human health risk). García, C. y Vásquez, H. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Evidencias epidemiológicas sugieren que el aire de ciudades con alto grado de contaminación puede ser uno de los factores responsables de cánceres del tracto respiratorio. En los cientos de agentes químicos presentes en el aire contaminado urbano, los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) son los que presentan mayor riesgo para la salud humana. La principal fuente de emisión de estos compuestos son los vehículos motorizados, especialmente los que usan motores Diesel. Mediante HPLC se ha determinado la presencia de 14 HPAs en extractos orgánicos del material particulado del aire de Santiago. Entre estos se incluyen: indenopireno, dibenzotraceno, benzo(a)pireno, benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno y benzo(a)aceno los cuales son considerados por la OMS como agentes cancerígenos. En los meses de Abril a Junio de 1991, el porcentaje de estos cancerígenos, respecto a la masa total de HPAs varió entre 29 y 70%. También se detectaron HPAs que no siendo considerados cancerígenos pueden reaccionar con otros contaminantes del aire para dar compuestos polares de alta actividad carcinogénica y mutagénica. Los niveles de HPAs en Santiago son muy altos comparados con los de estudios realizados en ciudades de Europa y Estados Unidos y fueron considerablemente elevados en el mes de Junio de 1991, a pesar de todas las medidas que se han tomado para reducir la contaminación del aire. Estos resultados sugieren que los HPAs que se respiran en Santiago constituyen un alto riesgo para la salud de la población, por cuanto está establecido que el daño en el material genético es mayor con el incremento en la concentración de agentes cancerígenos y con el aumento del tiempo de exposición.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1314/91.

295

EFFECTO DE UN INHIBIDOR DE COLINESTERASA EN EL DESARROLLO DE LA EROSION DE MOLLEJA EN AVES*. (Effect of cholinesterase inhibitor in the development of gizzard erosion in broiler chicks). López, C., Neira, M., Gallardo, R., Guerrero, E. y Rutman, M. (Patrocinio: P. Hinrichsen). Unidad de Bioquímica. INUAL Nutrición y Biotecnología.

La alimentación de los pollos con ciertos tipos de harina de pescado nacionales lleva a la aparición de lesiones ulcerosas en sus mollejas, desconociéndose los agentes que la producen.

En el presente trabajo se estudió la participación de la acetilcolina en el desarrollo de la erosión de molleja, utilizando un inhibidor irreversible de la acetilcolinesterasa (Fentión). Se determinó el grado de erosión (score de molleja) producido al alimentar pollos de 60g por 1, 2, 4 y 7 días con una dieta experimental, que contenía harina de pescado atóxica, y cantidades crecientes de 0 a 100 ppm de este pesticida organofosforado.

Los resultados mostraron aumentos significativos, acumulativos y directamente proporcionales a la concentración de Fentión presente en la dieta en los score de erosión de molleja en el período estudiado ($p < 0,05$). Paralelamente se observaron disminuciones en la actividad plasmática de colinesterasa ($p < 0,05$).

Se concluye de estos resultados que la sobreestimulación parasimpática produce erosión de la molleja en pollos y se demuestra además la necesidad de evaluar los niveles de pesticidas organofosforados en las harinas de pescado destinadas para la alimentación de aves y peces.

Participan en este trabajo S. Lavandero y J.P. Hinrichsen.

*Lavandero et al, Poultry Sci. 70:1633, 1991

296

BIOTRANSFORMACION DE LA LIGNOCELULOSA POR HONGOS: ESTUDIOS QUIMICOS, ENZIMATICOS Y ULTRAESTRUCTURALES. Lignocellulose biotransformation by fungi: chemical, enzymatic and ultrastructural studies. Barraza, J.M.; Guillén, E.; Almendros, G.; Martínez, M.J.; Martínez, A.T. y González, A.E. (Centro de Investigaciones Biológicas, Velázquez 144, Madrid, España. Los estudios sobre los mecanismos de biodegradación de la lignocelulosa han experimentado un importante avance en los últimos años. Nuestros primeros estudios se orientaron a la caracterización de un proceso natural de deslignificación llamado "huespe" producido en la pluvilsilva valdiviana y que es consumido por el ganado. Posteriormente se han utilizado otros sustratos de interés en la industria papelera y en la alimentación animal. Se ha realizado la caracterización físico-química de la lignocelulosa transformada. En una selección de las muestras más representativas se realizó el estudio de la digestibilidad, enriquecimiento proteico y la cinética del proceso. Por otro lado, se caracterizó la lignina mediante: distribución de tamaño molecular y carga eléctrica, estudios espectroscópicos derivatográficos; IR y ¹³C-NMR, oxidación alcalina con CuO y análisis de los productos por CG-EM. Se determinaron las actividades enzimáticas (celulasas, xilanasas, fenoloxidasas y ligninasas) de los hongos estudiados. Por último se realizaron estudios de microscopía óptica y electrónica con EDAX. La caracterización química del "huespe" ha revelado que la disminución de la lignina es paralela a la degradación de los xilanos en madera de *Eucryphia cordifolia* colonizada por *Ganoderma australe*. Las zonas con grandes acumulos de micelio presentan un patrón de degradación simultánea que coincide con el comportamiento in vitro de los hongos de podredumbre blanca estudiados. La degradación de la relación S/G que se correlaciona con la deslignificación. En general se comprueba que maderas de baja relación S/G son difícilmente biodegradables.

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA

MICROBIOLOGIA Y GENETICA

297

COMPOSICION QUIMICA Y ACTIVIDAD TOXICA Y GENOTOXICA DE MEZCLAS COMPLEJAS DE CONTAMINANTES PRESENTES EN AGUAS CONTINENTALES DE LA VIII REGION. (Chemical composition and toxic and genotoxic activity of pollutant complex mixtures present in continental water bodies in the VIII Region). Venegas, V.*; Alarcón, M.; Duk, S.; Wejgert, G.; García, M. Depto. de Biología Molecular, Fac. Cs. Biológicas y de Rec. Nat. Universidad de Concepción.

Entre los riesgos que para la salud de los seres vivos conllevan los contaminantes ambientales, productos de la actividad humana, hay que destacar los denominados agentes genotóxicos, tanto por la naturaleza de las lesiones inducidas como por el largo periodo de latencia que las caracteriza. Es por tanto una tarea urgente diseñar y poner a punto ensayos de detección de esta actividad que permita eliminar y/o aminorar la exposición humana frente a agentes potencialmente genotóxicos.

En la parte terminal del río Bio-Bio, VIII Región, se ha detectado concentraciones de algunos agentes químicos que sobrepasan los valores máximos establecidos por la norma chilena. El efecto genotóxico de los complejos químicos totales presentes en el ambiente acuático señalado está siendo estudiado por nuestro grupo mediante ensayos de Genética Toxicológica de respuesta rápida *in vitro* e *in vivo*. Los test de aberraciones cromosómicas y micronúcleos fueron realizados usando como modelos vertebrados y vegetales. Se presentan los resultados de los análisis químicos y se discuten los efectos genotóxicos inducidos.

Los resultados positivos encontrados en los efluentes de varias industrias de la VIII Región, nos ha llevado a repetir las experiencias usando cada dos meses por un periodo de dos años, los mismos modelos y otros ensayos de respuesta rápida a objeto de detectar la presencia de variaciones estacionales. La información que de estos estudios se puede generar, se estima, será de interés para las políticas de control de la calidad de los ambientes acuáticos de Chile.

*Financiado por FONDECYT 91/0366.

298

GENES DE *Salmonella typhi* REGULADOS POR LA DISPONIBILIDAD DE OXIGENO. (Oxygen-regulated Genes of *Salmonella typhi*). Obregón, V.H., Contreras, L., Blanco, L.P. y Mora, G.C. Unidad de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La fiebre tifoidea es una enfermedad sistémica causada por *Salmonella typhi*. Durante su ciclo infectivo la bacteria enfrenta diversas condiciones ambientales, a las que debe adaptarse para sobrevivir. Una condición que encuentra *Salmonella typhi* durante la infección es la escasa disponibilidad de oxígeno tanto en el epitelio intestinal como en los tejidos del hospedero, lo que constituye para la bacteria un ambiente anaeróbico.

Para estudiar la regulación de la expresión génica de *Salmonella typhi* en respuesta a la anaerobiosis, se construyeron fusiones de operones utilizando el derivado del fago-transposón Mu: MudJ (*lac*, Kan^R). Se obtuvieron 12450 clones Kan^R, los que fueron replicados en agar Luria con X-Gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-galactopiranosido) e incubados en condiciones aeróbicas y anaeróbicas (Gas-Pak). Se seleccionaron las colonias con fenotipo Lac⁻ en anaerobiosis (colonias azules), pero con fenotipo Lac⁺ en aerobiosis (colonias blancas), que corresponden a fusiones en genes inducidos en ausencia de oxígeno. Además, se seleccionaron aquellas fusiones que fueron reprimidas en anaerobiosis.

De 326 mutantes con estas características, 26 fusiones demostraron ser, por ensayo de la actividad β-galactosidasa, inducidas en anaerobiosis, mientras que otras 23 fueron reprimidas. Estas mutantes fueron caracterizadas tanto fisiológica como bioquímicamente.

Financiado por proyecto FONDECYT 619/89, grant AID-Porinas y proyecto 91/079 Universidad de Chile.

299

ESTUDIO DE LA EXPRESION DEL GEN *ompC* DE *Salmonella typhi* MEDIANTE FUSION DE OPERON *ompC-lacZ* CROMOSOMAL. (*S. typhi ompC* gene expression studied by chromosomal *ompC-lacZ* operon fusion) Asenjo, C.A. y Toro, C.S. Universidad de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: G.C. Mora)

S. typhi es el agente causal de la fiebre tifoidea. En el interior del hospedero, esta bacteria se ve sometida a diferentes condiciones de osmolaridad, oxigenación y temperatura. Con el objeto de estudiar la regulación de la porina *OmpC* se implementó un sistema el cual hace uso de un derivado del fago-transposón Mu, llamado *MudJ* (*lac*, *Kan^R*), el que nos permitió obtener fusión de operones con el gen *ompC*.

A partir de una colección de mutantes por inserción de *MudJ* en *S. typhi* rugosa MMW001, se seleccionaron mutantes en la porina *OmpC* por resistencia al fago P221 y por ausencia de la proteína en la membrana externa; los clones *Lac⁺* seleccionados en placas agar Luria con X-Gal fueron crecidos en distintas condiciones de osmolaridad para determinar su actividad β -galactosidasa. De un total de 40 clones analizados se seleccionaron aquellos que presentaran regulación por osmolaridad. Estudios con estas mutantes han mostrado que la expresión del gen *ompC* de *S. typhi* es inducido por aumento de osmolaridad en el rango que va desde 0.03 hasta 0.3 osmolar. Sin embargo, a mayores osmolaridades, se observa una represión de la expresión de este gen. Estos estudios muestran además que la porina es inducida por anaerobiosis. Este comportamiento fue observado también en el patrón de membrana externa de *S. typhi* silvestre crecida en condiciones equivalentes, analizado en geles de poliacrilamida-SDS.

Estos resultados demuestran que *OmpC* es la porina expresada preferentemente en condiciones fisiológicas de osmolaridad y anaerobiosis presentes en el hombre, su huésped natural.

Financiado por proyecto FONDECYT 619/89.

301

EMPLEO DE SONDAS MARCADAS MEDIANTE LA TECNICA DE PCR PARA ESTUDIAR LOS GENES DE RECEPTORES QUIMIOTACTICOS EN BACTERIAS QUIMILITOTROFICAS. (Use of PCR-labeled probes to study the chemotactic receptor genes in chemolithotrophic bacteria). Rojas, J. y Jerez, C.A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Anteriormente demostramos que las bacterias móviles *Thiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* presentan actividad quimiotáctica, posiblemente mediada por receptores metilables, como ocurre en *E. coli*. El receptor *Tar* de *E. coli* media la respuesta frente a Aspartato (atractivo) y a Ni^{2+} (repelente). En cambio, las bacterias hierro-oxidantes responden siendo atraídas por Ni^{2+} y repelidas por Asp. Para estudiar los genes de los receptores de *T. ferrooxidans*, *L. ferrooxidans* y *T. thiooxidans*, se prepararon sondas utilizando la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para marcar y amplificar diferentes regiones del gen *tar* de *E. coli* con dUTP-digoxigenina. Para marcar la región que codifica el dominio periplásmico de *Tar*, se emplearon como partidores, oligonucleótidos cuyas secuencias estaban comprendidas entre las bases -1 a -20 y 896 a 912 del gen. Se marcó la región más conservada del dominio citoplásmico del receptor, empleando como partidores los oligonucleótidos comprendidos entre las bases 915 a 935 y 1612 a 1632. Como DNA templado se empleó el *pkl01*, que contiene *tar* y otros genes quimiotácticos de *E. coli*. Estas sondas se hibridaron con los DNA totales de las bacterias en estudio, digeridos con diferentes enzimas de restricción y transferidos a filtros de nylon. Encontramos homología con ambas regiones del gen *tar* de *E. coli*, en el DNA de *T. ferrooxidans*, *L. ferrooxidans*, y *T. thiooxidans* lo que demuestra una alta conservación en el sistema quimiotáctico bacteriano.

Financiado por: Proyecto Fondecyt 91-1010 y Universidad de Chile B. 2889 - 9034

300

PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE FLAGELO DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI*. (Purification and characterization of Flagello of *Campylobacter jejuni*). Andrews, E., Fernández, H. Instituto de Inmunología, Instituto de Microbiología Clínica. Universidad Austral de Chile. (Patrocinante: O. Garrido).

Campylobacter jejuni es un frecuente agente de diarrea en humanos, capaz de colonizar la mucosa del intestino y causar enfermedad. El flagelo de CJ ha sido identificado como potencial adhesina por la cual la bacteria se adhiere a las células epiteliales.

Se trabajó con una cepa virulenta de CJ aislada de un lactante con diarrea, la cual fue cultivada en medio bifásico a 42°C en ambiente de CO_2 obteniéndose, por centrifugación, las bacterias. Estas fueron sometidas a sonicación por unos minutos. El flagelo fue separado con ciclos de centrifugación diferencial a 5000xg 30 min y 100000 xg 60 min. La proteína flagelar se purificó por cromatografía de intercambio iónico y filtración en gel. Analizando los resultados por microscopía electrónica y SDS-PAGE se observó una estructura flagelar de PM 63 K y un contaminante menor de 42 K.

Este estudio está dirigido a purificar y caracterizar la proteína flagelar, con el objeto de establecer la real participación de la estructura flagelar en la adhesión bacteriana.

(Financiado por Proyecto FONDECYT 59-89).

302

CARACTERIZACION DE BACTERIAS MARINAS AGAROLITICAS. (Characterization of agarolytic marine bacteria). Quintana, L., Perez, G., León, O. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Varias especies de bacterias agarolíticas se encuentran descritas en la literatura. Estas han sido clasificadas principalmente dentro de los géneros *Streptomyces*, *Cytophaga*, *Vibrio* y *Pseudomonas*.

En nuestro laboratorio hemos aislado tres cepas de bacterias agarolíticas (N-1, C-1 y C-2) en muestras de agua de mar y algas marinas de la VIII y X regiones. Estas difieren entre sí en algunas características morfológicas y especialmente en la forma como degradan el agar cuando se crecen en placas de cultivo.

En este trabajo se presentan resultados de estudios morfológicos y bioquímicos tendientes a identificar cada una de las cepas aisladas. También se determinaron las condiciones óptimas de crecimiento de las cepas aisladas y la producción de agarasas extracelulares.

Las bacterias aisladas tienen en común las siguientes características: necesitan de una concentración salina semejante al agua de mar para su desarrollo, requieren de Jones Na^+ crecen en un intervalo de temperatura entre 4 y 28 °C, poseen un metabolismo de carbohidratos de tipo oxidativo, son aerobias estrictas, oxidasas y catalasas positivas. Morfológicamente corresponden a bacilos Gram (-), no esporulados, no capsulados y móviles por flagelación polar. Estas características permiten clasificarlas tentativamente en el género *Pseudomonas*, de acuerdo a los criterios de identificación propuestos en el Manual de Bergey.

La producción de agarasas extracelulares se determinó a distintos tiempos de crecimiento de las bacterias, midiendo el aumento del poder reductor en una solución tamponada de agar, incubada en presencia de una alicuota del sobrenadante libre de células (Dyggert, S. et al. (1965) Anal. Biochem., 13, 367-374).

Las agarasas producidas por estas bacterias en todos los casos estudiados son inducidas por la presencia de agar en el medio de cultivo, encontrándose la mayor concentración de enzima durante la fase estacionaria de desarrollo bacteriano. Solamente la producción de agarasa en la cepa C-1 fue reprimida por glucosa.

(Financiado por: DID, UACH S-90-2 y FONDECYT 90/0051)

303

MUTANTES DE *Thiobacillus ferrooxidans* CON ALTERACIONES DEL LIPOPOLISACÁRIDO. INFLUENCIA EN EL MECANISMO DE ADHERENCIA A MINERALES. (*Thiobacillus ferrooxidans* mutants affecting the lipopolysaccharide. Influence in the attachment mechanism to minerals). Delgado, M., Melia, P., Oases, J. y Rodríguez, M.- Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad de Microbiología, Casilla 114-D, Santiago.

Thiobacillus ferrooxidans es el principal organismo involucrado en el proceso de Biolixiviación de minerales sulfurados.

En el mecanismo directo, la adherencia juega un papel decisivo. Trabajos previos, de nuestro laboratorio, han demostrado que el Lipopolisacárido (LPS), participa en la adherencia en forma importante. Es necesario establecer, sin embargo, la especificidad del fenómeno mediada por esta molécula. Para ello se han estudiado mutantes inducidas con Nitroso Guanidina y mutantes espontáneas, que no poseen la capacidad de oxidar ión ferroso, para así determinar si en ellas, además, se produce alteración del LPS, y consecuentemente en el mecanismo de adherencia.

Las características fenotípicas de estas mutantes, la frecuencia de aislamiento, su estabilidad y efecto sobre el LPS y adherencia, así como otras características biológicas, se presentan en esta comunicación.

Financiado por Proyectos PNUD CHI/88/003 y FONDECYT 575/89.

305

EVIDENCIAS DE AISLAMIENTO SEXUAL ENTRE LINEAS DE *Drosophila melanogaster*. (Evidences of sexual isolation between lines of *Drosophila melanogaster*). Ruiz, G., Meneses, U. y Ganzur, P. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Los experimentos de selección divergente en *Drosophila* han constituido una importante vía para investigar especiación simpátrida a nivel experimental.

Ruiz (1990), ha obtenido mediante selección divergente en *Drosophila melanogaster*, Valdivia, dos líneas significativamente diferentes; una para oviposición altamente agregada y otra para baja agregación de huevos. Estas líneas, permitieron posteriormente, establecer que el rasgo "oviposición agregada" poseía una base hereditaria poligénica, con participación de genes con efecto dominante.

Con estos antecedentes, se postuló que 220 generaciones de selección para el rasgo poligénico antes mencionado, podría estar conduciendo a un incipiente aislamiento reproductivo.

Para poner a prueba esta hipótesis, se estimaron los índices de aislamiento sexual, mediante tres diseños experimentales; elección por parte del macho, elección por parte de la hembra y elección múltiple.

Los resultados permiten comprobar la existencia de un incipiente aislamiento reproductivo pre y postcigótico; dada la mayor proporción de cruzamientos homogaméticos, y el mayor número de descendientes obtenido de los homocruzamientos.

(Trabajo parcialmente financiado por el proyecto FONDECYT 85-0060).

304

MUTAGENESIS POR TRANSPOSICION EN *Brucella abortus* 2308 (Mutagenesis by transposition in *Brucella abortus*). Garcia, A., Sangari, F. y Agüero, J. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción, Chile; Departamento de Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, España. (Patrocinio: R. Zemelman).

El avance de la tecnología del ADN recombinante ha permitido el desarrollo de una nueva estrategia para la inserción de genes foráneos en el genoma de bacterias Gram-negativas no relacionadas estrechamente con *E. coli*. El sistema consta de dos componentes: (1) una cepa de *E. coli* "especial" llamada cepa movilizante y (2) vectores plasmídicos derivados de *E. coli* incapaces de replicarse en cepas ajenas al grupo entérico. El sistema es ampliamente aplicable para la mutagénesis mediante la inserción de transposones en forma aleatoria. Nos propusimos la creación de un conjunto de mutantes de *B. abortus* 2308, con el objeto de generar mutantes en la expresión de los genes *omp*.

Tenemos la evidencia física de la inserción de *Tn5* en el cromosoma de *B. abortus* y la frecuencia de transposición fue de 10^{-6} . Construimos una banca de 500 mutantes. Las propiedades afectadas, investigadas hasta el momento, son: hidrólisis de la urea, susceptibilidad a la penicilina, sensibilidad al eritritol y la fago resistencia.

Financiamiento: Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, España.

306

INFLUENCIA DEL ACIDO ASCORBICO Y CISTEINA EN LA GENOTOXICIDAD DE N-NITROSODIMETILAMINA. (Influence of the ascorbic acid and cysteine on the genotoxicity of N-nitrosodimethylamine). Bastias, J.M. y Aranda, M. Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Depto. Química y Bioquímica, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile. (Patrocinio: R. Godoy-Herrera).

En trabajos previos hemos establecido la presencia de nitrosaminas en cecinas de consumo habitual en nuestra población, de las cuales un 51,6% de las muestras presentaron N-nitrosodimetilamina (NDMA), en concentraciones de 3,5 - 210 ppb. Extractos de cecinas con 1 ppb de NDMA provocaron daño al ADN de fibroblastos de pulmón humano (UDS test). El objetivo de este estudio fue determinar la posible inhibición del potencial mutagénico de NDMA por la adición de dos antioxidantes alimentarios como son el ácido ascórbico y cisteína, mediante el uso de bioensayos bacterianos.

Se utilizó *Salmonella typhimurium* TA100/pSK1002 que lleva el gen fusionado *umuC'-lacZ* para estudiar la regulación del gen *umu* que controla la expresión de la actividad β -galactosidasa. El operon *umu* es inducido por agentes que dañan el ADN y regulado genéticamente por los genes *recA* y *lexA*.

Se establece un paralelo entre el *umu* test y el test de Ames en relación a la inhibición del potencial mutagénico de diversas concentraciones de NDMA y los dos antioxidantes alimentarios, además se discute la sensibilidad de ambos métodos.

Financiado por Proyecto DICYT 02-90-11AL USACH.

INDICE DE AUTORES / AUTHORS' INDEX

Arch. Biol. Med. Exp.
Vol. 24, Nº 2, 1991

- Abarca, J. R122
Accatino, L. R113
Acevedo, C.G. R117
Acuña, C. R137
Acuña, H.O. R157
Adonis, M. R181
Aguayo, J. R160
Aguayo, L.B. R161
Aguero, J. R185
Aguillón, J.C. R158
Aguirre, C. R173
Aguirre, E. R169
Ahumada, A. R149
Alarcón, C. R139
Alarcón, J. R131
Alarcón, J.M. R111
Alarcón, M. R183
Alarcón, R.A. R134
Alba, J. R153
Alberdi, M. R102, R186
Albertini, R. R114
Alda, L. R200
Aldunate, J. R177
Aliaga, E. R122
Allende, J.E. R169
Alliende, C.A. R138
Almendros, G. R183
Alvarez, A. R142
Alvarez, J. R135
Alvarez, M. R136
Alvarez, P. R138
Amigo, L. R142
Amthauer, R. R164
Andrade, L. R137
Andrade, R. R121
Andrés, M.E. R106
Andrews, E. R184
Angelo, S. R129
Anido, M. R153
Apfelbaum, L.I. R168
Apfelbaum, M.E. R155
Aqueveque, P. R193
Aranda, E. R109
Aranda, M. R185
Araya A., R. R147
Araya, N. R134
Arellano, G.E. R119
Arias, J.L. R132
Armesto, J.J. R188
Arrau, J. R143
Arrau, P. R137
Arriagada, J.R. R134
Arriaza, C. R117
Arroyo, M. R188
Artigas, C.G. R160
Aruti, D. R163
Arvin, J. R102
Asenjo, C.A. R184
Asjo, B. R167
Aspillaga, E. R 98
Astorquiza, M.I. R159
Avila, G. R186
Ayala, S. R112
Ayuso, S. R144
Azócar, A. R186
Azzalis, L. R178
Bacigalupo, J. R124
Báez, C. R198
Baeza, R. R116
Bainy, A.C.D. R178
Bajer, A.S. R101
Baldwin, S.A. R131
Barahona, C. R132
Bardisa, L. R163
Barraza, J.M. R183
Barría, A. R154
Barría, C.G. R122
Barría, M. R136
Barrientos, M. R187
Barros, C. R103, R147
Barros, L. R180
Barros, L.F. R131
Barros, S.B.M. R178
Bascuñán, J. R189
Basso, C. R149
Bastías, J.M. R185
Batini, C. R120
Beas, F. R152
Becerra, J. R194
Becker, M.I. R160
Behn, C. R127

- Behrens, M.I. R130
 Belancic, A. R174
 Belemmi, M. R146
 Bellolio, G. R151
 Belmar, J. R121
 Beltán, M. R126
 Beltramí, M. R110
 Beltramí, M. R202
 Benavente, F. R116
 Benavides, A.G. R195
 Benítez, R. R169
 Benoist, P. R173
 Beratto, V. R191
 Bergeret, I. R110
 Berrios, A. R197
 Bhoola, K.D. R 95, R137
 Bitran, M. R106
 Bize, I. R146
 Blanco, L.P. R183
 Bocaz, G. R181
 Bofill, P. R132
 Bonansco, C. R130
 Bonilla, S. R114
 Boric, M.A. R152
 Boric, M.P. R113
 Bours, V. R140
 Bozinovic, F. R197
 Bozzo, S. R181
 Brain, A. R111
 Brandán E. R132
 Bravo, H. R117
 Bravo, I. R132
 Bravo, J. R195
 Bravo, L. R160
 Bravo, L.M. R171
 Bravo, R. R140
 Bretos, M. R196
 Brieva, L. R198
 Brito, J. R126
 Brito, M. R165
 Bronfman, M. R178
 Brummer, E. R118
 Bruzzone, M.E. R112
 Bruzzone, M.S. R138
 Bull, P. R140
 Bull, R. R126
 Burgos, M.H. R146
 Burzio, L.O. R164
 Bustamante, R.O. R108
 Bustos, A. R150
 Bustos, G. R106, R122
 Bustos, T. R158
 Bustos-Obregón, E. R146
 Caamaño, V. R191
 Cabrera, M. R186, R188
 Cabrera, R. R121
 Cabrera, S. R196
 Cáceres, C.W. R195
 Cáceres, J. R143, R181
 Cachicas, V. R160
 Cádiz, R. R100, R165
 Caligari, P.D.S. R102
 Calvo, M. R159
 Campo, S. R144
 Campos, A. R132
 Campos, E.O. R195
 Campos, G.A. R118
 Campos, I. R115
 Campos, M. R181
 Campos, R. R175
 Camus, P.A. R196
 Cañas, P.E. R161
 Canelo, E. R167
 Canessa, M. R135
 Caorsi, C.E. R119
 Caorsi, I. R139
 Capetillo, M. R110
 Caplan, A.I. R132
 Cárcamo, J.G. R172
 Cardemil, C. R149
 Cardemil, E. R173
 Cardemil, L. R194
 Cardenas, A.M. R140
 Cárdenas, H. R111
 Cárdenas, L. R178
 Carrasco, M.A. R127
 Carraway, R. R119
 Carreño, P. R115
 Carrillo, M. R200
 Carrillo, R. R189
 Cartagena, G. R179
 Carvajal, N. R174
 Carvallada, R. R145
 Carvallo, C. R143
 Carvallo, P. R 99, R169
 Casanegra, P. R112
 Casanueva, M.E. R197
 Castillo, L. R141, R199
 Castillo, R.J. R153
 Castillo, S. R115
 Castillo, T. R154
 Castro, O. R154
 Catt, K.J. R125
 Cavicchia, J.C. R145, R145
 Caviedes, P. R128
 Caviedes, R. R126

- Cecchi, X. R129
Cederbaum, A. R161
Celedón, G. R127
Celis, M.E. R156
Ceppi, H. R125
Cespedes, R. R175
Chakraborty, R. R 98
Chávez, P. R129
Chayet, L. R193
Chemes, H. R143, R144
Chianale, J. R137
Chichester, C.O. R133
Chihuailaf, R.H. R196
Chiong, M. R192
Chu, A. R131
Chua, N.H. R193
Cid, H. R171
Cifuentes, F. R128
Cilento, G. R176
Civallero, G.E. R118
Cobe, M.E. R118, R156
Collados, L. R172
Colman, R.W. R137
Coloma S., L. R151
Coloma-Torres, L. R177
Compagnon, D. R125
Comte, S. R202
Concha, M. R158, R164
Concha. I.I. R165
Connelly, C. R166
Constandil, L. R119
Contreras, A. R104
Contreras, E. R120
Contreras, H. R144
Contreras, I. R183
Contreras, L.C. R201
Contreras, M. R202
Contreras, O. R201
Contreras, R. R131
Corbalán, M.P. R114
Corbalán, R. R179
Corcuera, L. R186
Cordero, M.E. R117
Cordova, F. R137
Coronado, R. R124, R131
Corral, E. R157
Correa, I. R160
Correa, J.A. R195
Cortés, A. R198
Cortés, M. R127
Corthorn, J. R153
Cottenie, M. R195
Coulombel, L. R134
Couve, A. R142
Cowen, T. R131
Craigie, J. R104
Cremer, M.C. R118
Cross, D. R141
Croxatto, H.B. R155
Croxatto, H.R. R113
Cuevas, C.C. R200
Curotto, E. R173
Cury, M. R143
Dabike, M. R133
De Barioglio, S.R. R118
De Ioannes, A.E. R160
De la Cadena, R.A. R137
De la Fuente, G. R110
De la Lastra, M. R119
De los Reyes, M. R147
Del Campo, H. R148
Del Pozo, R. R179
Del Solar, G. R101
Del Villar, E. R178, R193
Delgado, F. R164
Delgado, M. R185
Delgado, R. R130
Dell' Orto, P. R193
Dennis, J.E. R133
Devés, R. R129
Devilat, I. R169
Devoto, L. R154
Dewes, H. R171
Díaz, A. R120
Díaz, E. R124, R177
Díaz, F. R199
Díaz, M. R175
Díaz, N.F. R103
Díaz-Barraza, M. R197
Díaz-Veliz, S. R116
Diem, H.G. R173
Dobrzanski, P. R140
Doggenweiler, C.F. R137
Donoso, C. R194
Donoso, P P127
Donoso, S. R110
Droguett, M.A. R159
Duarte, I. R137
Duk, S. R183
Dupré, E. R151
Durando, P. R156, R156
Dussaubat, N. R110
Ebensperger, R. R112
Echeverría, V. R171

- Egaña, E. R113
 Egaña, L. R174
 Eller, G. R159
 Encinas, M.V. R173
 Errázuriz, C. R140
 Escalona, J. R117
 Escanilla, D. R 99
 Escobar, A. R129
 Escobar, J.A. R176
 Escobar, M. R110
 Espejo, P. R198
 Espejo, R. R 99, R167
 Espinosa, M. R101
 Espinosa, P. R171
 Espinoza, P. R104
 Espinoza, S. R116
 Esponda, P. R 95, R145
 Esquivel, P. R136
 Etchegaray, J.P. R163
 Eyzaguirre, J. R174

 Farías, G. R134, R140
 Farias, G.A. R106
 Faúndez, V. R135
 Fenyo, E.M. R167
 Fernández, G. R188
 Fernández, H. R184
 Fernández, J. R126
 Fernandez, J. R150
 Fernández, J. R159, R186
 Fernández, J.O. R166
 Fernández, M. R133
 Fernández, M.S. R133
 Fernández, V. R109, R124
 Ferrando, G. R152
 Ferrari, L. R141
 Ferreira, A. R129, R158
 Figueroa, C.D. R 95, R137
 Figueroa, H. R114
 Figueroa, J. R136
 Fill, M. R131
 Fischer, S. R138
 Flores, E. R187
 Flores, V. R195
 Folch, H. R159
 Foncea, R. R179
 Fontecilla, J.C. R181
 Foradori, A. R153, R160
 Forcelledo, M.L. R155
 Formas, J.R. R198
 Fornés, M. R145
 Frías, J.C. R146
 Fuentealba, B. R155

 Fuentes, A. R153
 Fuentes, O. R131, R177
 Fuenzalida, M. R157

 Gaete, L. R100, R165
 Gaete, V. R153
 Gajardo, G. R 97, R148
 Galanti, M. R152
 Galanti, N. R136
 Gallardo, C. R150
 Gallardo, M. R 97
 Gallardo, R. R182
 Galleguillos, X. R120
 Ganzur, P. R185
 Gárate, M. R176
 Garcés, G. R158
 Garcés, H. R134
 García, A. R185
 García, A.G. R140
 García, C. R182
 García, C.E. R186
 García, M. R183
 Garrido, A. R176
 Garrido, J. R139
 Garrido, O. R150
 Gatica, M. R166
 Gaugler, M.H. R134
 Gaule, C. R178
 Germany, A. R161
 Gil, L. R181
 Ginocchio, R. R186
 Glisser, E. R143
 Gnecco, S. R191
 Godoy, I. R112
 Godoy, J.A. R134
 Godoy, R. R189
 Goecke, I.A. R114
 Goicoechea, O. R151
 Gómez, I. R 99
 Gómez, J. R156
 Gómez, M. R186
 Gómez, M.I. R170
 Gomez, S. R201
 Gomez-Silva, B. R191
 González L., G. R180
 González, A. R135
 González, A.E. R183
 González, C. R180
 González, C.B. R119
 González, E. R170
 González, H. R181
 González, I. R110
 González, J. R106, R191

- González, L.A. R 97
González, L.F. R190
González, M. R129, R141
González, M.A. R195
González, M.J. R138
González, R. R150, R152
Gramzinski, R. R 96, R101
Gravina, M. R171
Grob, F. R139
Guaquil, V. R189
Guarda, E. R112
Guarda, M.I. R139
Guasch, V. R176
Guerra, F.A. R118
Guerrero, E. R182
Guillén, E. R183
Guixé, V. R179
Günther, B. R118
Gutiérrez, A. R200
Gutierrez, J. R201
Gutierrez, L.S. R146
Guzmán, F. R143
Gyhra, A. R111
Gysling, K. R122
- Habit, E.M. R199
Hein, S. R121
Henderson, L. R 95, R137
Henrikson, J. R171
Henriquez, C.A. R188
Hermosilla, I. R183, R199
Hernández, A. R115
Hernández, C. R113
Hernández, I. R164
Hernández, J.F. R187
Hernández, O. R166
Herrera, E. R148
Herrera, R. R179
Herrera, S. R188
Hevia, E. R168
Heyn, R. R144
Hidalgo, J. R128
Hidalgo, C. R128
Hidalgo, M.E. R187
Hidalgo, P.C. R178
Hidalgo, U. R142
Hinrichs, M.V. R166
Hinrichsen, J.P. R168
Hinrichsen, P. R175
Hoecker, G. R159
Hoffman, E.P. R125
Hoinesen, M. R111
Holuigue, L. R193
- Horenstein, A. R158
Hubert, E. R104, R171
Huidobro-Toro, J.P. R112
Humaña, A.M. R190
- Ihl, M. R192
Illanes, A. R162
Illanes, J. R151
Imschenetzky, M. R150
Inestrosa, N.C. R195
Infante, C. R120
Iñiguez, G. R152
Inostroza, D. R150
Inostroza, H. R144
Inzunza, O. R117
Irazazabal, C. R182
Iturra, P. R198
Iturri, S.J. R110
Iturriaga, L. R186
Iturriza, F.C. R102
Izquierdo, L. R149
- Jabalquinto, A.M. R172
Jaimovich, E. R130
Jalil, J. R114, R179
Jamett, A. R160
Jara, C.G. R194
Jara, F. R202
Jara, P. R123
Jaramillo, N.C. R136
Jaramillo, R. R151
Jarvis, S.M. R131
Jedlicki, A.M. R166
Jedlicki, E. R 99, R107, R166
Jerez, C.A. R184
Jordán, M. R191
Jordana, X. R193
Jorquera, H. R 99
Jorquera, O. R174
Juica, F. R160
Jüngst, D. R179
Junqueira, V.B.C. R178
- Kaltwasser, G. R141
Kaudmann, J. R137
Kautsky, N. R105
Kawada, M.E. R142
Kessi, E. R179
Kettlun, A.M. R174
Koenig, C. R133
Krauskopf, M. R164
Kukielka, E. R161
Kukuljan, M. R125

- Kuznar, J. R140
 Labarca, P. R130
 Labra, A. R107
 Lacrampe, S. R198
 Lagos, A. R110
 Lagos, M. R124
 Lagos, N. R125
 Lagos, R. R180
 Lagos, V. R188
 Langley, L. R152
 Lara, H. R154
 Lathrop, M.E. R110
 Latorre, R. R129
 Leighton, F. R180
 Leiva, J. R 99
 Leiva, L.A. R119
 Lemus, D. R157
 Lemus, S. R177
 Leñam, P. R164
 Lennon, A.M. R198
 León G. R163
 León, O. R184
 Leroy, C. R134
 Letelier, M.E. R177
 Libano, X. R192
 Liberona, J.L. R128
 Lipchenca, I. R177
 Lladós, C. R148
 Llanos, M. R155
 Llop, E. R 98
 Lobos, A. R156
 Lobos, C. R170
 Lobos, S. R180
 Lohrmann, K. R151
 López Solís, R.O. R138
 López, C. R182
 López-Calleja, M.V. R197
 Low, J. R201
 Loyola, J.I. R162
 Loyola, L. R202
 Ludwig, H. R172
 Luxoro, M. R130
 Luza, S. R154
 Maccioni, R.B. R106, R141
 Magaña-Schwencke, N. R168
 Maldonado, C. R139
 Maldonado, M. R109
 Malebrán, N. R129
 Mancilla, A. R149
 Mancilla, E. R111
 Mancilla, J. R178
 Mancilla, M. R193
 Mancinelli, P. R191
 Manquez, E. R119
 Manríquez, U. R109
 Marengo, J.J. R126
 Margozzini, P. R143
 Marino, D. R201
 Martín, N. R163
 Martínez, A. R112
 Martínez, A.T. R183
 Martínez, D. R201
 Martínez, E. R186
 Martínez, J. R141, R167
 Martínez, J.L. R162
 Martínez, M.A. R163
 Martínez, M.J. R183
 Martínez, M.T. R 99
 Martínez, M.T. R170
 Martínez, R. R109, R192, R197
 Marusic, E.T. R132
 Matamala, M. R139
 Matus, M. R128
 Maulén, J. R135
 Maulén, N. R163
 Mayer, E.A. R125
 Medel C., R. R188
 Medina, L. R135
 Medina, V. R132
 Meléndez, J. R148
 Melis, P. R185
 Mena. M. R136
 Mendoza, R. R110
 Meneses, U. R185
 Merino, M. R158
 Mesa, A. R190
 Meserve, P. R188
 Messen, L. R139
 Meza-Basso, L. R102, R104, R171
 Mezzano, D. R115
 Milstead, B. R188
 Minguell, J.J. R133
 Miquel, J.F. R142
 Miranda, D. R139
 Mitra, S. R119
 Moenne, A. R193
 Mole-Bajer, J. R101
 Molina, A. R136
 Molinari, E. R165
 Monasterio, O. R180
 Moncada. E. R179
 Mondaca, M.A. R171
 Montalar, Y. R127
 Montecino, V. R196

- Montecinos, H. R123
Montenegro, G. R186
Montenegro, M.A. R149
Montero, E. R176
Montesino, H. R124
Montiel, F. R141
Mora, G.C. R183
Mora, S. R116
Moraga, P. R137
Morales, A. R145
Morales, B. R124
Morales, B.A. R144
Morales, F. R122
Morales, M. R113
Morales, M.N. R178
Morales, P. R124, R155
Morata, G. R101
Morello, A. R177
Moreno, C. R158
Moreno, E. R177
Moreno, F. R 99, R166
Moreno, J.M. R113
Moreno, R. R135
Morgado, N. R175
Moro, M.A. R140
Mujica, A.M. R186
Müller E., E. R137
Muller, A. R173
Müller, I. R168
Müller-Esterl, W. R 95
Müller-Hohenstein, K. R190
Munizaga, A. R133
Munizaga, R. R151
Muñoz, B. R152
Muñoz, H. R112
Muñoz, J.P. R177
Muñoz, L. R112
Muñoz, M.L. R118
Muñoz, P. R157
Muñoz, R. R123
Muñoz, T.M. R157
Murúa, R. R 97
- Nagle, C. R143, R144
Nassar, V. R130
Navarrete, J. R153
Navarro, J. R198
Naves, R. R149
Necochea, C. R180
Neira, I. R191
Neira, M. R182
Nervi, F. R142
Neumann, V. R152
- Nicolaidis, D. R150
Norambuena, L. R164
Novoa, F.F. R107, R197
Nualart, F. R121
Nuñez, H. R196
Nuñez, L. R 99
Núñez, L. R142
Nuñez, L. R166
Núñez, M.T. R129
Nuñez, P. R139
Núñez, R. R133
Nürnbergger, F R102
- O'Reilly, S. R173
Obreque, V.H. R183
Ocampo, A. R121
Ocaranza, M.P. R168
Ojeda, F.P. R195
Ojeda, J. R159
Ojeda, J.M. R177
Ojeda, P. R189
Oksche, A. R 95, R102
Oksenberg, D. R154
Olate, J. R100
Olea, N. R150
Olivares, H. R191
Olivares, R. R124
Oñate, A. R100, R159
Oñate, E. R174
Opitz, X. R169
Ordenes, G.E. R138
Orellana, A. R178
Orellana, M. R177
Orellana, O. R100, R165
Orellana, P. R156
Orrego, C. R168
Ortiz de Bet, L. R145
Ortiz, J.C. R199
Ortiz, M.E. R148
Osses, J. R185
Otero, R. R176
Oviedo, C. R156
Oyanedel, P. R191
Oyarzun, M.J. R110
- Padilla, C. R171
Padilla, C.A. R170
Paeile, C. R115
Palestini, M. R120
Palma, V.A. R134
Palma-Rojas, C. R194
Palomino, A. R177
Palomino, H. R149

- Pantoja, C. R163
 Parchment, R. R 96, R101
 Parilo, J. R156
 Parra, C. R104, R126, R171
 Parra, M. R112
 Parra, S. R139
 Parra, S.E. R139
 Paschke, K. R151
 Passig, C. R124
 Patton, J.L. R168
 Paumgartner, G. R179
 Paz de la Vega, Y. R162
 Pelissier, T. R115
 Peña, I. R127
 Pena, P.A. R102
 Peñaloza, A. R188
 Penna, M. R162, R199
 Penna, M.S. R109
 Pereda, J. R157
 Pereda, M.T. R149
 Peredo, A. R197
 Peredo, H. R189
 Pereira, J. R109
 Pérez, C. R147
 Pérez, E. R152
 Pérez, F.J. R190
 Pérez, G.I. R155
 Pérez, H. R115
 Pérez, I. R138
 Pérez, L.M. R169
 Pérez, M.E. R158
 Pérez-Martín, J. R101
 Persia, E. R201
 Peruzzo, B. R123
 Peruzzo, G. R184
 Pessot, C. R164
 Pessot, R. R164
 Petterson, U. R171
 Pey, R. R149
 Pieber, M. R174
 Pierart, J. R111
 Pierce, G.B. R 96, R101
 Pimstein, M. R124
 Piñats, W. R202
 Pincheira, S. R199
 Pinela, J. R197
 Pino, A.M. R144
 Pino, C. R198
 Pinter, A. R120
 Pinto-Hamuy, T. R124
 Pizarro, G. R196
 Pizarro, J.M. R167
 Pizarro, M. R109, R114
 Poblete, A. R163
 Poblete, F. R104
 Ponce, M.E. R186
 Pooley, A. R191
 Pozo, J. R157
 Prado, C. R105
 Prado, R. R117
 Prieto, C.R. R148
 Prieto, H. R192
 Prieto, L. R111
 Puchi, M. R150
 Puente, J. R110, R139
 Pulgar, V. R107

 Qin, X.F. R193
 Quevedo, L. R162
 Quezada, P. R163
 Quijada, L. R115
 Quilhot, W. R187
 Quiñones, L. R117, R182
 Quintana, L. R184
 Quintar, R. R172

 Rada, E. R186
 Ramirez, B.U. R130
 Ramirez, C. R189
 Ramirez, M.T. R113
 Ramos, A. R159
 Ramos, R. R158
 Rau, J. R201
 Recabarren S.E. R157
 Recabarren, S.E. R156
 Reinicke, K. R153
 Repetto, Y. R177
 Retamal, C. R181
 Retamal, R. R162
 Retamales, I. R154
 Rey, R. R143, R144
 Reyes, A. R192
 Reyes, C,E. R119
 Reyes, E. R157
 Reyes, J.G. R127
 Reyes, P. R111
 Reyes, R. R128
 Richter, H. R123
 Rigotti, A. R170
 Ríos, M. R113, R151
 Risopatrón, J. R148
 Rivera, M. R148
 Riveros, C. R120
 Riveros, M. R190
 Riveros, M.C. R173
 Rizzardini, G. R186

- Roblero, J. R114
Roco, A. R192
Rodríguez, E.M. R123
Rodriguez, F. R178
Rodríguez, H. R147
Rodríguez, J. R194
Rodríguez, M. R129, R185
Rodríguez, S. R123
Rodríguez, J.A. R162
Roemblut, H. R177
Rojas, A.L. R186
Rojas, C.V. R125
Rojas, E. R130
Rojas, J. R184
Rojas, M.C. R173
Rojas, S. R180
Roman, E. R112
Román, R. R163
Romero, M. R192
Romero, R. R189
Roncagliolo, M, R121
Ronco, A.M. R144
Rosas, M. R197
Roseblatt, M. R134
Rosenkranz, C. R176
Rosenmann, M. R107, R196
Rothhammer, F. R 98
Rozbaczylo, N. R195
Rudolph, M.I. R156
Ruiz, G. R185
Ruiz, G. R196
Ruiz, S. R115
Rutman, M. R182
Ruttimann, C. R174
Ryseck, R.P. R140
- Saavedra, B. R200
Saavedra, C. R170
Saavedra, H. R117
Saavedra, M.A. R124
Sabag, C. R190
Sabat, P. R197
Sáez, J. R104, R171
Sagredo, B. R165
Sagua, H. R191
Saiz, F. R189
Salas, C.E. R171
Salas, K. R126
Salas, L. R174
Salas, M.L. R186
Salazar, G. R135
Salazar, I. R182
Salazar, O. R199
- Salgado, A.M. R155
Salibián, A. R141
Salinas, A.M. R141
Salinas, D. R173
Salma, N. R158
Salman, P. R112
Salvatierra, A.M. R155
Salvo, J. R124
San Martín, C. R189
San Martín, J. R190
Sánchez, G. R160
Sánchez, H. R158
Sánchez, P. R191
Sánchez, R. R146
Sánchez, X. R128
Sancho, C. R140
Sandino, A.M. R167
Sangari, F. R185
Sanhueza, J. R175
Santander, M. R127
Santibáñez, C. R187
Santibáñez, J.F. R141
Santos, M. R138
Santos, M.J. R142
Sanzana, C.L. R118
Sapag-Hagar, M. R179
Scarpa, J. R174
Scenonelli, T. R156
Schaufele, P. R120
Schmeda-Hirschmann, G. R162
Schoch, S. R192
Schoebitz, K. R150
Schroeder, R. R165
Schudeck, R. R114
Schulz, C. R132
Schumacher, E. R120
Schwarze, H. R126
Schwencke, J. R173
Scimonelli, T. R156
Seelenfreund, D. R169
Sein, J. R160
Sepúlveda, M.S. R148
Serani, A. R116
Shacklock, P. R104
Sharpe, C. R146
Siebenlist, U. R140
Siegmond, A.I. R136
Sierra, J. R162
Sierralta, J. R127
Silva, C. R 98
Silva, E. R175
Silva, G. R188
Silva, H. R187

- Silva, M. R129, R181, R194
 Silva, N. R134
 Silva, P. R174
 Silva, S. R188
 Silva, T.G. R157
 Simizu, K. R178
 Simon, E. R102
 Simonetti, J.A. R200
 Skorin, C. R176
 Slebe, J.C. R172
 Smith, R. R153
 Sobrevía, L. R131, R132
 Solari, A. R171
 Soler, M. R140
 Solis de Ovando, F. R176
 Solís, N. R114
 Solís, R. R199
 Soto, C. R180
 Soto, D. R202
 Soto, J. R153
 Soto, M. R157
 Soto-Moyano, R. R115
 Speisky, H. R161
 Spencer, E. R170
 Spencer, P. R177
 Squeo, F.A. R186
 Staple, L. R104
 Steiner, J. R174
 Steneck, R.S. R 96
 Stojilkivic, S.S. R125
 Suárez, B. R131
 Subiabre, J. R116
 Szecowka, J. R119

 Takamiya, M. R140
 Tapia, M. R188
 Tapia, V. R128, R136
 Tascón, S. R128
 Tellez, R. R166
 Téllez, V. R150
 Theoduloz, C. R104, R171
 Thomas, H. R111
 Tillería, M.S. R201
 Toro, B. R120
 Toro, C.S. R184
 Toro, G.C. R136
 Torrente, M. R115
 Torres, C. R174
 Torres, G. R173
 Torres, P. R111, R157
 Torres, R. R125
 Traverso-Cori, A. R193
 Troncoso, A. R190

 Troncoso, J.L. R154
 Troncoso, P. R112
 Troncoso, S. R119
 Troncoso, V. R140

 Ureta, T. R179
 Uribe, F. R189

 Valdés, E. R177
 Valdés, G. R153
 Váldez, M. R159
 Valdéz, E. R148
 Valdivia, H. R124, R131
 Valdivia, M. R147
 Valencia, D. R202
 Valenzuela, A. R175
 Valenzuela, C.L. R127
 Valenzuela, M.A. R172
 Valenzuela, M.I. R141
 Valenzuela, M.P. R191
 Valladares, L. R137
 Valverde, V R201
 Varas, A. R195
 Varela, D. R186
 Vargas, F. R143
 Vargas, J. R140
 Vargas, L. R178
 Vargas, M. R163
 Vargas, V. R149
 Vásquez, A. R141
 Vásquez, C. R170
 Vásquez, H. R182, R188
 Vásquez, M. R170
 Vásquez, M.V. R117
 Vásquez, O. R181
 Vásquez, R. R107
 Vecchiola, A. R154
 Vega, M. R154
 Vega, P. R178
 Vélez, P. R131
 Veloso, A. R198
 Veloso, C. R197
 Velozo, J. R191
 Venegas, A. R 99, R170
 Venegas, W. R183
 Vera, H. R137
 Vera, M.I. R164
 Verdugo, M. R189
 Verdugo, P. R152
 Verdugo, P. R126
 Vergara, C. R130
 Vergara, F. R127
 Vergara, J. R135

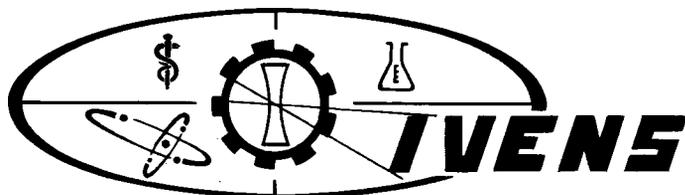
- Vial, C. R106, R141
Victoriano, P. R200
Vicuña, R. R174, R175
Vidal, M.A. R158
Videla, L.A. R178
Vidiella, P.E. R188
Vigil, P. R155
Vignolo. P. R181
Vila, I. R202
Villa, A. R176
Villalón, M. R126
Villalón. M. R152
Villanueva, J. R136
Villar, M. R117
Villavicencio, M. R139
Villegas, J.V. R160
Villela, C. R120
Vío, C.P. R114
Vivaldi, E. R110
Vivaldi. V, E. R121
Vizcarra, G. R104, R171
Vojkovic, A. R167
Vollrath, Y. R137

Wallace, A. R160
Wang, J.Z. R125
Ward, P.H. R109
- Weigert, G. R183
Weinert, O. R199
Werner, E. R135
Westphal, H. R 95, R103
White, A. R109
Wielandt A.M. R114
Wilhelm, V. R169
Wolff, D. R129
Wyneken, U. R121

Yáñez, A. R165
Yáñez, C. R181
Yates, L.R. R189
Yoshida, N. R106
Yudilevich, D.J. R131
Yulis, C.R. R123
Yunes, R. R147

Zamora, P. R164
Zamorano, B. R112
Zampighi, G. R125
Zapata, A.M. R121
Zárate, A. R159
Zolezzi, C. R202
Zúñiga, G.E. R192
Zunino, S. R189

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS
Y FARMACEUTICAS
BIBLIOTECA



**SIMBOLO DE GARANTIA Y SERVICIO
 REPRESENTANTE EN CHILE DE
 EQUIPOS PARA
 LABORATORIO**

lambrecht



INST. METEOROLOGICOS
 ESTACIONES AUTOMATICAS
 REGISTRADOR DE DATOS



SHIMADZU

ESPECTROFOTOMETROS
 ESP. ABSORCION ATOMICA
 CROMATOGRAFOS DE LIQUIDOS
 CROMATOGRAFOS DE GASES
 ESPECTROMETROS
 BALANZAS ELECTRONICAS

LI-COR®

SENSORES RADIACION
 POROMETROS
 EQ. FOTOSINTESIS
 AGROMETEOROLOGIA
 DATALOGGERS



MICROSCOPIOS
 MICROFOTOGRAFIA
 LUPAS ESTEREOSCOPICAS
 ACC. PARA MICROSCOPIA
 EQ. OPTICOS ESPECIALIZADOS



TURNER DESIGNS

FLUOROMETROS DE CAMPO
 NEFELOMETROS
 LUMINOMETROS

Sorvall®

ULTRACENTRIFUGAS
 CENTRIFUGAS DE SOBREMESA
 CENTRIFUGAS REFRIGERADAS
 CENTRIFUGAS DE ALTA VELOC.

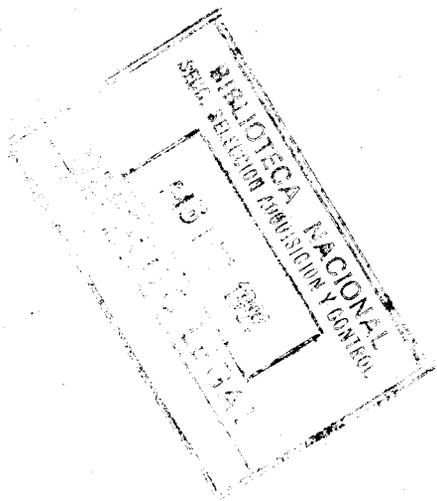


FUENTES DE PODER
 ELECTROFORESIS
 BOMBAS PERISTALTICAS
 CROMATOGRAFIA CAPA FINA



Forma Scientific

REFRIG. BANCO DE SANGRE
 FREEZERS ULTRAFRIOS
 INCUBADORAS DE LAB.
 CAMPANAS FLUJO LAMINAR
 GABINETE SEG. BIOLOGICO



UNIVERSIDAD DE CHILE



3 5601 15637 9137